

**ERKEK SIÇANLARDA NONİLFENOLÜN
HİPOTALAMUS-HİPOFİZ-ADRENAL EKSENİ VE
EPIFİZ BEZİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**INVESTIGATION OF EFFECTS OF NONYLPHENOL ON
HYPOTHALAMUS-PITUITARY-ADRENAL AXIS AND
PINEAL GLAND IN MALE RATS**

EKİN TOKGÖZ

PROF. DR. NURHAYAT BARLAS

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı için Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak hazırlanmıştır.

2023

ÖZET

Erkek Sıçanlarda Nonilfenolün Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal Eksenini ve Epifiz Bezi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi

Ekin TOKGÖZ

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS

Ocak 2023, 116 sayfa

Endokrin bozucu kimyasallar doğal hormon mekanizmalarına müdahale ederek, bu mekanizmaların işleyişini bozan kimyasallar olarak tanımlanmaktadır. Endokrin bozucular çok düşük konsantrasyonlarda etki gösterebilen kimyasallardır. Sanayi ve teknolojiye bağlı değişim ve gelişimler sonucu endokrin bozucu kimyasallara günlük maruziyet her geçen gün artmaktadır.

Nonilfenol bileşikler karsinojenik, teratojenik ve mutajenik etkileri olduğu bilinen kimyasal olması dolayısıyla insan sağlığı açısından önem taşıyan bileşiklerdir. Nonilfenol, diş hekimliği, gıda ambalajlama, tekstil, zirai ilaç, deterjan, boya ve kozmetik ürünlerinin üretiminde kullanılan plastik bileşimlerin yani alkilfenol etoksilatların bir bozunma ürünüdür. Son yıllarda Nonilfenol Etoksilatlar için artan talep ve üretim çevreye salınmasına yol açmıştır. Bu da doğrudan insanlarda maruziyetin ve birikimin artmasına neden olmuştur.

Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal eksenini özellikle stres ile ilgili homeostazın sağlanmasından sorumlu bir sistemdir. Salgıladığı spesifik hormonlar homeostazın sağlanması başta olmak üzere özellikle stres ile ilgili fizyolojik ve kimyasal süreçlerin kontrol edilmesinde büyük önem taşımaktadır. Epifiz bezi tarafından üretilen melatonin

sirkadiyen ritmi, uyku-uyanıklık döngüsünü, termal ve immünolojik sistemleri ve menstruel döngüyü düzenler.

Bu sistemler vücut için son derece önemli mekanizmaları kontrol etmektedir. Endojenlere ve özellikle endokrin bozuculara karşı son derece hassas olan bu sistem ve organların birbirleri ile etkileşim halinde olmaları, herhangi bir endokrin bozucu kimyasalın vücuda alındığında tüm endokrin sistem üzerinde olumsuz etkilere yol açmasına neden olabilir.

Bu çalışmada endokrin bozucu olduğu bilinen maddelerden biri olan nonilfenol 5 mg/kg/gün, 25 mg/kg/gün ve 125 mg/kg/gün dozlarında 21 günlük erkek *Rattus norvegicus* (*Wistar albino*) sıçanlara 28 günlük süre ile oral gavaj yöntemiyle uygulanmıştır. Deney sonunda karaciğer, böbrek, hipotalamus, hipofiz, epifiz ve adrenal dokuları üzerindeki histopatolojik etkiler ile serum örneklerinde melatonin, adrenokortikotropik hormon (ACTH), aldosteron, kortizol ve glikoz düzeyleri incelenmiştir. Ayrıca epifiz ve hipofiz bezinde apoptoz kiti kullanılarak hücre ölümünün olup olmadığı tespit edilmeye çalışılmıştır.

Çalışma sonuçları değerlendirildiğinde, serum ACTH ve aldosteron değerleri 5 ve 25 mg/kg/gün doz gruplarında serum kortikosteron miktarı ise 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı olarak artmıştır. Serum melatonin değerleri ise 5, 25 ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama gruplarında azalmıştır. Kortikosteron miktarındaki artışın serum glikoz düzeyini etkileyecek boyutta olmadığı tespit edilmiştir. Histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde nonilfenolün tüm doz gruplarında hipotalamus, hipofiz, adrenal bezler, karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik bulgulara neden olduğu fakat epifiz bezinde patolojik bir bulguya neden olmadığı sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca nonilfenolün tüm uygulama gruplarında karaciğer ve böbrek dokularında apoptoza neden olduğu tespit edilmiştir.

Anahtar Kelimeler: Nonilfenol, Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal eksen, epifiz bezi, erkek sıçan, nöroendokrin sistem

ABSTRACT

Investigation of Effects of Nonylphenol on Hypothalamus-Pituitary-Adrenal Axis and Pineal Gland in Male Rats

Ekin TOKGÖZ

Master of Science, Department of Biology,

Supervisor: Prof. Dr. Nurhayat BARLAS

January 2023, 116 pages

Endocrine disrupting chemicals have been defined as substances that interfere with natural hormone mechanisms and disrupt the functioning of these mechanisms. Endocrine disruptors are chemicals that can show negative impact at very low concentrations. As a result of changes and developments in industry and technology, daily exposure to endocrine disrupting chemicals are increasing day by day.

Nonylphenol compounds are important due to their carcinogenic, teratogenic and mutagenic effects. Nonylphenol is a degradation product of alkylphenol ethoxylates, plastic compounds used in the manufacture of dentistry, food packaging, textiles, pesticides, detergents, colourant and cosmetics. Increasing demand and production for Nonylphenol Ethoxylates in recent years has led to their release into the environment. This directly resulted in increased exposure and accumulation in humans.

The Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis is a system responsible for maintaining homeostasis, especially related to stress. The specific hormones it secretes are of great importance in maintaining homeostasis, especially in controlling the physiological and chemical processes related to stress. Melatonin produced by the pineal gland regulates the circadian rhythm, sleep-wake cycle, thermal and immunological systems, and the menstrual cycle.

These systems control mechanisms that are extremely important for the body. The interaction of these systems and organs, which are extremely sensitive to endogens and especially to endocrine disruptors, can cause adverse effects on the entire endocrine system.

In this study, nonylphenol, one of the chemicals known to be endocrine disruptors, was administered as oral gavage to 21-day-old male *Rattus norvegicus* (*Wistar albino*) rats at doses of 5 mg/kg/day, 25 mg/kg/day and 125 mg/kg/day. At the end of the experiment, the histopathological effects on the liver, kidney, hypothalamus, pituitary, pineal and adrenal tissues were examined and the levels of melatonin, adrenocorticotrophic hormone (ACTH), aldosterone, cortisol and glucose were examined in the serum samples. In addition, apoptosis was investigated by TUNEL analysis in the pineal gland and pituitary gland.

According to the study results serum ACTH, and aldosterone levels significantly increased in the 5 and 25 mg/kg/day nonylphenol dose groups. Serum melatonin levels decreased in the 5, 25 and 125 mg/kg/day nonylphenol dose groups. Serum corticosterone amount increased significantly in the 125 mg/kg/day nonylphenol dose group. However, it was determined that this increase did not affect the serum glucose level. When the histopathological findings were evaluated, it was concluded that nonylphenol caused histopathological findings in the hypothalamus, pituitary, adrenal glands, liver and kidney tissues in all administration dose groups, but did not cause any pathological findings in the pineal gland. In addition, it was determined that nonylphenol caused apoptosis in liver and kidney tissues in all application groups.

Keywords: Nonylphenol, Hypothalamus-Pituitary-Adrenal axis, pineal gland, male rat, neuroendocrine system

TEŞEKKÜR

Lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca her zaman yanımda olup, sabrını ve desteğini eksik etmeyen çok değerli danışmanım Sayın Prof. Dr. Nurhayat BARLAS'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez çalışmam boyunca karşılaştığım her sorunda yanımda olan çalışkanlığını her zaman örnek aldığım çok değerli arkadaşım Eda Nur İNKAYA'ya destek ve sabrı için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamı maddi olarak destekleyen Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimine (Proje No: FYL-2021-19530) teşekkürlerimi sunarım.

Çalışmamda yardımlarını esirgemeyen çok sevgili arkadaşlarım ve meslektaşlarım Ece UZUN, Ceren KAYI ve Nilüfer COŞKUN'a teşekkürü borç bilirim.

Eğitim hayatım boyunca maddi ve manevi desteklerini hiçbir zaman eksik etmeyen hayatın her alanında olduğu gibi çalışmam süresince de her daim yanımda hissettiğim babam Taner TOKGÖZ'e, annem Tülin ÇOBAN'a, teyzem Tülay ÇOBAN'a ve dayım Yavuz ÇOBAN'a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Motivasyon desteği ve yönlendirmeleriyle her zaman yardımını aldığım ve hayatımın her alanında fikirlerine danıştığım çok sevgili kuzenim İrem SAĞLAM'a sonsuz sabrı ve tüm iyi niyeti için teşekkürü borç bilirim.

Son olarak çocukluğumdan beri her zaman yanımda olan, desteklerini esirgemeyen Macit ARTUĞ, Aynur ARTUĞ ve Övgü ARTUĞ'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

İÇİNDEKİLER

ABSTRACT	v4i
TEŞEKKÜR.....	x
İÇİNDEKİLER.....	xi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
ÇİZELGELER DİZİNİ	i
SİMGELER VE KISALTMALAR	ii
1. GİRİŞ	5
2. GENEL BİLGİLER.....	6
2.1. Endokrin Sistem	6
2.2. Hipotalamus-Hipofiz (pitüiter)-Adrenal Eksen (HPA Ekseni).....	6
2.3. Hipotalamus.....	8
2.4. Hipofiz Bezi	8
2.5. Hipotalamus ve Hipofiz Bezi Hormonları.....	10
2.6. Adrenal Bez.....	10
2.7. Epifiz Bezi.....	11
2.8. Melatonin Hormonu ve Salgılanması.....	11
2.9. Endokrin Bozucular	16
2.10. Nonilfenol.....	19
3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR.....	26
3.1. Materyal ve Metod.....	26
3.1.1. Kimyasal Malzemeler.....	26
3.1.2. Deney Hayvanları.....	26
3.1.3. Laboratuvar Koşulları.....	26

3.2. Yöntem.....	27
3.2.1. Deney Hayvanlarının Gruplandırılması.....	27
3.2.2. Vücut Ağırlığı ve Rölatif Organ Ağırlıkları.....	28
3.2.3. Besin ve Su Tüketimi.....	28
3.2.4. Hormon ve Biyokimya Anaizleri.....	28
3.2.5. Histopatolojik İncelemeler.....	28
3.2.6. Apoptoz Analizi.....	29
3.3. İstatistiksel Değerlendirme.....	29
4. SONUÇLAR	
4.1. Vücut Ağırlığı, Organ ve Rölatif Organ Ağırlıkları.....	30
4.2. Biyokimya Analiz Sonuçları.....	40
4.3. Histopatolojik Bulgular.....	43
4.3.1. Hipotalamusa Ait Bulgular.....	43
4.3.2. Hipofize Ait Bulgular.....	46
4.3.3. Epifize Ait Bulgular.....	49
4.3.4. Adrenal Beze Ait Bulgular.....	49
4.3.5. Karaciğere Ait Bulgular.....	52
4.3.6. Böbreğe Ait Bulgular.....	55
4.4. Apoptoz Analiz Sonuçları.....	59
4.4.1. Hipofiz Bezine Ait Bulgular.....	59
4.4.2. Epifiz Bezine Ait Bulgular.....	60
4.4.3. Karaciğere Ait Bulgular.....	61
4.4.4. Böbreğe Ait Bulgular.....	64
5. TARTIŞMA.....	70
6.SONUÇ.....	81
7.KAYNAKLAR.....	83



EKLER














EK 1 – Etik Kurul İzin Belgesi	96
EK 2 - Tez Çalışması Orjinallik Raporu	98
ÖZGEÇMİŞ	99

















ŞEKİLLER DİZİNİ







Şekil 2.1. Hipotalamus ve adenohipofiz hormonları, Tekin, (2011)'den değiştirilmiştir).....	9
Şekil 2.2. Melatoninin kimyasal formülü, Hardeland et al., (2006)'dan değiştirilmiştir).....	12
Şekil 2.3. Melatonin düzeyinin aydınlık/karanlık dengesine göre gün içinde saatlik periyodlar içinde düzenlenmesi, (Rocha et al., (2015)'den değiştirilmiştir.).....	13
Şekil 2.4. Melatonin hormonunun etkilediği mekanizmalar, (Zagrean et al., (2020)'dan değiştirilmiştir.).....	15
Şekil 2.5. Nonilfenolün fiziksel ve kimyasal özellikleri((Guenther et al., 2006, Uysal, 2017, Araujo et al., 2018).....	19
Tablo 2.1. Çeşitli organizmaların nonilfenol için LOEL ve NOEL değerleri.....	20
Tablo 2.2. Çeşitli organizmaların nonilfenol için uygulama yolu ve LD50 değerleri.....	20
Şekil 2.6. Nonilfenolün kullanım alanları, (Sweeney ve Currie, (2002)'den değiştirilmiştir.).....	21
Şekil 2.7. Nonilfenolün çevreye salınım yüzdesi, (Karakas, (2014)'den değiştirilmiştir).....	22
Şekil 2.8. Nonilfenol kimyasalının ekosisteme giriş yolları, ((Hong et al., (2020)'dan değiştirilmiştir.).....	23
Şekil 3.1. Deneysel çalışmaların şematik gösterimi.....	27
Şekil 4.1. Kontrol ve uygulama gruplarına ait vücut başlangıç ve bitiş ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	31
Şekil 4.2. Kontrol ve uygulama gruplarına ait vücut ağırlık artışı (%). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	32
Şekil 4.3. Kontrol ve uygulama gruplarına ait adrenal bez ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan, istatistiksel	

olarak farklı (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	32
Şekil 4.4. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif adrenal bez ağırlıkları (g/kgvücut ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	33
Şekil 4.5. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif adrenal bez ağırlıkları (g/kgbeyin ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	33
Şekil 4.6. Kontrol ve uygulama gruplarına ait beyin ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	34
Şekil 4.7. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif beyin ağırlıkları (g/kgvücut ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	34
Şekil 4.8. Kontrol ve uygulama gruplarına ait karaciğer ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	35
Şekil 4.9. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif karaciğer ağırlıkları (g/gvücut ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	35
Şekil 4.10. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif karaciğer ağırlıkları (g/kgbeyin ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	36
Şekil 4.11. Kontrol ve uygulama gruplarına ait böbrek ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....	36

- Şekil 4.12. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif böbrek ağırlıkları (g/kgvücut ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....37
- Şekil 4.13. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif böbrek ağırlıkları (g/gbeyin ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....38
- Şekil 4.14. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum melatonin değerleri (pg/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....40
- Şekil 4.15. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum ACTH değerleri (pg/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....41
- Şekil 4.16. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum aldosteron değerleri (pg/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....41
- Şekil 4.17. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum kortikosteron değerleri (ng/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....42
- Şekil 4.18. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum glikoz değerleri (mg/dL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).....42
- Şekil 4.19. Yağ kontrol grubuna ait hipotalamus dokusu, (H&E boyama, 200X).....43
- Şekil 4.20. Şekil 4.20. BPA 50 mg/kg/gün pozitif kontrol grubuna ait hipotalamus dokusunda dejenerasyon (), (H&E boyama, 400X).....44
- Şekil 4.21. Şekil 4.21. 5 mg/kg/gün uygulama grubuna ait hipotalamus dokusunda eozinofilik cisimler (), (H&E boyama, 400X).....44

Şekil 4.22. 25 mg/kg/gün uygulama grubuna ait hipotalamus dokusunda dejenerasyon ile beraber birbirine yapışmış hücreler (), (H&E boyama, 400X).....	45
Şekil 4.23. 125 mg/kg/gün uygulama grubuna ait hipotalamus dokusunda dejenerasyon (), (H&E boyama, 200X).....	46
Şekil 4.24. Yağ kontrol grubuna ait hipofiz dokusu, (H&E boyama, 100X).....	47
Şekil 4.25. Yağ kontrol grubuna ait nörohipofiz dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 400X).....	47
Şekil 4.26. Yağ kontrol grubuna ait nörohipofiz dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 400X).....	47
Şekil 4.27. BPA 50 mg/kg/gün pozitif kontrol grubuna ait hipofiz dokusunda hücrelerde dejenerasyon (), (H&E boyama, 40X).....	48
Şekil 4.28. 5 mg/kg/gün uygulama grubuna ait hipofiz dokusu (H&E boyama, 100X)...	48
Şekil 4.29. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipofizin adenohipofiz bölgesinde ödem (),ve dejenerasyon () (H&E boyama, 400X).....	49
Şekil 4.30. 125 mg/kg/gün uygulama grubuna ait hipofiz dokusunda dejenerasyon(), (H&E boyama, 100X).....	49
Şekil 4.31. Yağ kontrol grubuna ait epifiz dokusu (H&E boyama, 400X).....	50
Şekil 4.32. Yağ kontrol grubuna ait adrenal korteks görüntüsü, (H&E boyama, 400X)..	51
Şekil 4.33. Yağ kontrol grubuna ait adrenal korteks ve medulla görüntüsü, (H&E boyama, 400X).....	51
Şekil 4.34. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait adrenal kortekste kortikal nodül oluşumu (), (H&E boyama, 400X).....	52
Şekil 4.35. 5 mg/kg/gün uygulama grubuna ait adrenal dokusunda dejenerasyon () (H&E boyama, 400X).....	52
Şekil 4.36. 25 mg/kg/gün uygulama grubuna ait adrenal dokusunda konjesyon () ve ödem (), (H&E boyama, 400X).....	53
Şekil 4.37.125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait adrenal dokusunda konjesyon (), hücresel dejenerasyon () ve hiperplazi (), (H&E boyama, (200X).....	53

Şekil 4.38. Yağ grubuna ait karaciğer dokusu (H&E boyama, 200X).....	54
Şekil 4.39. Yağ grubuna ait karaciğer dokusu (H&E boyama, 400X).....	55
Şekil 4.40. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (), (H&E boyama, 200X).....	55
Şekil 4.41. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda ödem () ve konjesyon () (H&E boyama, 200X).....	56
Şekil 4.42. 25 mg/kg/gün uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (), minimal düzeyde ödem (), (H&E boyama, 400X).....	56
Şekil 4.43. 125 mg/kg/gün uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda minimal düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu (), (H&E boyama, 400X).....	57
Şekil 4.44. Yağ grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü,(H&E boyama, 400X)....	58
Şekil 4.45. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait böbrek dokusunda fibröz doku oluşumu () ve tübüler dejenerasyon (), (H&E boyama, 400X).....	58
Şekil 4.46. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda glomerular (parietal) yapraklarda açılma (), (H&E boyama, 200X).....	59
Şekil 4.47. 25 mg/kg/gün uygulama grubuna ait böbrek dokusunda atrofik glomerulus (), (H&E boyama, 400X).....	59
Şekil 4.48. 25 mg/kg/gün uygulama grubuna ait böbrek dokusunda konjesyon () ödem(), (H&E boyama, 400X).....	60
Şekil 4.49. 125 mg/kg/gün uygulama grubuna ait böbrek dokusunda fibröz doku oluşumu (), ve konjesyon () (H&E boyama, 200X).....	60
Şekil 4.50. Yağ grubu adenohipofiz dokusunun histolojik görünümü, (400X).....	61
Şekil 4.51. Yağ grubu nörohipofiz bölgesinde dokusunun histolojik görünümü, (400X).....	62
Şekil 4.52. Yağ grubu epifiz dokusunun histolojik görünümü, (400X).....	63
Şekil 4.53. Yağ grubu karaciğer dokusu, (400X).....	64
Şekil 4.54. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücreler (), (400X).....	64
Şekil 4.55. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücreler (), (400X).....	65

Şekil 4.56. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücreler () , (400 X).....	65
Şekil 4.57. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücre () , (400X).....	66
Şekil 4.58. Yağ grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü, (400X).....	67
Şekil 4.59. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait böbrek dokusunda apoptotik hücreler () , (400X).....	67
Şekil 4.60. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda apoptotik hücreler () , (400X).....	68
Şekil 4.61. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer böbrek dokusunda apoptotik hücreler () , (400X).....	68
Şekil 4.62. Şekil 4.58. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda apoptotik hücreler () , (400X).....	69

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge 4.1. Kontrol grubu ve uygulama gruplarındaki sıçanların vücut ve gerçek-rölatif organ ağırlıkları.....	39
--	----

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

g	Gram
mg	Miligram
kg	Kilogram
ml	Mililitre
µm	Mikrolitre
ng	Nanogram
pg	Pikogram
pmol	Pikomol

Kısaltmalar

ACTH	Adrenokortikotropik Hormon
ALP	Alkale fosfataz
ALT	Alanine aminotransferaz
AST	Aspartat aminotransferaz
BPA	Bisfenol A
CRH	Kortikotropin Releasing Hormon (Kortikotropin Salgılatıcı Hormon)
DDT	Dikloro Difenil Trikloroetan
DEHP	Dietilhekzil Fitalat
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
dUTP	Deoxyuridine-triphosphate
FSH	Follicle-Stimulating Hormone (Folikül Uyarıcı Hormon)

GH	Growth Hormon
GHRH	Growth Hormone–Releasing Hormone
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GSH	Glutasyon
HPA	Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal
HRP	Horse Radish Peroxidase
IL-1	İnterlökin-1
IL-6	İnterlökin-6
LD50	Letal Doz50
LHRH	Lütein Hormonu Salgılatıcı Hormon
LOAEL	Lowest Observed Adverse Effect Level (Yan Etki Gözlenen En Düşük Doz)
LOEL	Lowest Observed Effect Level (Gözlenen En Düşük Etki Düzeyi)
LH	Luteinizan Hormon
MEHP	Dietilhekzil Fitalat
mRNA	Mesajcı Ribonükleik Asit
MSH	Melanosit Uyarıcı Hormon
NOAEL	Observed Adverse Effect Level (Gözlenebilen Hiçbir Yan Etki Göstermeyen Doz)
NOEL	No Observed Adverse Effect Level (Yan Etki Göstermeyen En Düşük Doz)
NP	Nonilfenol
NPEO	Nonilfenol Etoksilat
PCB	Polibromlu Bifeniller
PIF	Prolaktin İnhibe Edici Faktör

ROS	Reactive Oksijen Türleri
SCN	Suprachiasmatic Nucleus
T3	Triiyodotironin
T4	Tiroksin
TdT	Terminal Deoksinükleotidil Transferaz
TG	Tiroglobulin
TNF	Tümör Nekroz Faktör Alfa
TRH	Thyrotropin-releasing Hormone (Tirotropin Salgılatıcı Hormon)
TSH	Thyroid Stimulating Hormone (Tiroit Stimüle Edici Hormon)
TUNEL	Terminal Deoxynucleotidyl Transferase dUTP Nick end Labeling
WHO	World Health Organization (Dünya Sağlık Örgütü)

1. GİRİŞ

Endokrin bozucular genel olarak, hormonlar aracılığıyla organizmanın genel sağlığını ve üreme döngülerini etkileyen eksojen maddelerdir. Endokrin bozucuların birçok çeşitli kaynaktan canlı vücuduna alınması mümkündür. Son yıllarda endokrin bozucu alımına bağlı etkilerin canlı sistemlerinde daha fazla etki göstermeye başladığı tespit edilmiştir. Bu kimyasallar birçok çeşitli kaynak yoluyla canlı sistemine alınabilirler (Casals-Casas ve Desvergne, 2011).

Nonilfenol günlük hayatta sıklıkla karşılaştığımız endokrin sistem elemanlarını ve hormonları etkilediği bilinen bir kimyasal olup, son yıllarda su kaynaklarında birikiminin arttığı tespit edilmiştir (Ackermann et al., 2002).

Kimyasal ile indüklenen endokrin organ toksisitesi üzerine yapılan araştırmalarda en fazla negatif etkilenen dokular sırasıyla; adrenal bez, testis, tiroit, yumurtalık, pankreas, hipofiz ve paratiroid bezi olarak bildirilmiştir. Adrenal bez ve epifiz bezi (pineal bez) endokrin sistem için çok önemli elemanlar olmalarına rağmen bu konudaki çalışmalar yetersiz kalmıştır. Yapılan çalışmalar genellikle üreme, gelişme ve son zamanlarda tiroit üzerinde yoğunlaşmıştır (Harvey et al., 2007).

Bu çalışmadaki amacımız günlük hayatta sıklıkla karşılaştığımız bir endokrin bozucu olan nonilfenolün hassas enzim sistemlerine sahip hipotalamus-hipofiz-adrenal eksenini ve epifiz bezi üzerindeki endokrin bozucu özelliğinin ortaya çıkarılmasıdır. Tüm endokrin sistem elemanları birbirleriyle koordineli bir şekilde çalışmaktadır. Bu organlardan herhangi birinde meydana gelen hasar tüm sistem elemanlarını etkilemektedir. Toksik maddeler tarafından oluşabilecek herhangi bir zararlı etkinin bu mekanizmaları doğrudan ya da dolaylı olarak etkileyebileceği düşünülmektedir.

Çalışmanın temel hedefi nonilfenole maruziyet sonucu oluşabilecek toksik etkilerin ayrıntılı bir şekilde incelenerek ortaya çıkartılması, doz-cevap ilişkisinin belirlenmesi sonucunda nonilfenolün kullanımını sınırlamak veya azaltmak için ilgili kurum ve kuruluşlar tarafından denetim altına alınmasını teşvik etmektir.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Endokrin Sistem

Endokrin sistem homeostazisin sağlanması açısından çok önemli bir sistemdir. Genel olarak endokrin sistem hormonları salgılandıkları yerden başka bir bölgeye etki ederek iç ve dış koşullara yanıt veren hormonlardır (Lyons et al., 1997, Janz, 2000). Endokrin sistem elemanları; iç salgı bezleri, hormon üreten dokular, hormonlar ve hormon reseptörlerinden oluşmaktadır. Endokrin sistemi oluşturan birçok organ ve bez bulunmaktadır. Bunlar epifiz, hipofiz, tiroid, paratiroid, timüs, böbrek üstü bezleri, hipotalamus, kalp, mide, pankreas, yumurtalıklar ve testislerdir.

2.2. Hipotalamus-Hipofiz (pitüiter)-Adrenal Eksen (HPA Ekseni)

Hipotalamus-Hipofiz- Adrenal eksen (Hypothalamic-pituitary-adrenal) özellikle stres ile ilgili homeostazın sağlanmasından sorumlu bir sistemdir. Hipotalamus, hipofiz ve adrenal bezden oluşan sistemin merkezi bileşenleri hipotalamusta ve beyin sapında bulunmaktadır. Dinlenme durumunda bile çalışır halde olan bu sistemin aktivasyonu motor refleksler, bilişsel aktivite ve dikkat durumu, cinsel uyarılma ve iştah gibi birçok hayati önem taşıyan fonksiyon üzerinde etkilidir (Chrousos, 1995).

Hipotalamustaki nöronlar tarafından salgılanan en önemli hormonlardan biri Kortikotropin Salgılatıcı hormondur (CRH). Bu hormon HPA ekseninin temel düzenleyici faktörüdür (Smith ve Vale, 2006). Bu faktör ile ön hipofizden adreno kortikotropik hormon (ACTH) salgılanır. ACTH kan dolaşımı ile adrenal beze ulaşır ve adrenal bezden canlı yaşamı için çok önemli glukokortikoidlerden olan kortizolün ve kortikotropinin sentezini uyarır. Kortizol, inflamasyon, bellek ve depolama, metabolizma gibi birçok fizyolojik ve davranışsal durumu düzenler (Bowers ve Yehuda, 2016). Bu mekanizmaların düzenli çalışması strese karşı verilen cevabın düzenlenmesinde önemli rol oynar. 24 saatlik periyot içerisindeki biyokimyasal ve psikolojik davranışların bütünü olan sirkadiyen ritim kortizol sayesinde düzenlenir. Aynı şekilde negatif geri bildirim mekanizması ile kan-kortizol seviyesi düşürülerek ACTH inhibe edilir. (Heaney, 2013). ACTH ile glukokortikoidlerin aktive edilmesi timüs ve dalağa etki ederek immün sistem üzerinde de etkisini gösterir. Yapılan çalışmalarda IL-1'in (İnterlökin-1) bu eksenin önemli bir uyarıcısı olduğu gösterilmiştir. Bunun dışında tümör nekroz faktör alfa (TNF-a), IL-6 (interlökin-6) gibi birçok sitokin bu eksen üzerinde etkili olduğu bilinmektedir.

Glukokortikoidler immün sistemi baskılayıcı etki gösterirler. Kanda yüksek konsantrasyonları lenfositler üzerinde öldürücü etki göstermesine karşın immünosupresyonun asıl mekanizması olarak kabul edilmez. Mekanizması halen tam olarak aydınlatılamamış olmasıyla birlikte, glukokortikoidlerin reseptörlerine bağlanmaları, immün hücre yanıtlarını etkilediği bilinmektedir (Dunn, 2007).

Yapılan çalışmalar nöroendokrin sistemin özellikle Hipotalamus-Hipofiz-Adrenal ekseninin endokrin bozucu kimyasallara duyarlı olduğunu göstermektedir (Gore, 2010). Birçok madde endokrin bozulmaya yol açabilir. Bunlardan bazıları endüstriyel bileşikler, plastikler ve plastikleştiriciler, mantar ilaçları ve böcek ilaçlarıdır. Bu kimyasalların çoğunu çevresel östrojenler ve ilaçlar oluşturur. Bazı endokrin bozucular hücre reseptörlerine bağlanarak etki gösterirler. Bunlara örnek olarak Poliklorlu Bifeniller (PCB'ler), fitoöstrojenler, pestisitler, Bisfenol A gibi plastiklerdeki bileşikler verilebilir (Gore, 2010). Kimyasallar başka yollardan da nöroendokrin sistem üzerinde etkili olabilir. Poliklorlu bifeniller serotonin, dopamin ve nöroandrojenik reseptörlere bağlanabilir. Bu nörotransmitterler de hipofiz bezini kontrol eden faktörleri serbest bırakır (Gore, 2010). Vücuda alınan bu kimyasallar hormonlarla kontrol edilen fizyolojik ve psikolojik olayları etkileyerek istenmeyen etkilere sebebiyet verebilir. Bir bileşiğin endokrin bozucu olması için doğrudan endokrin aktivite göstermesi, patolojik endokrin aracılı etki göstermesi ve/veya maruz kalan kişide kimyasal madde ve endokrin etki arasında neden sonuç ilişkisi olması gereklidir. Bunun dışında reseptöre bağlanma veya gen ifadesini değiştirme yoluyla da etki gösterebilir. Endokrin bozucular vücuda birçok farklı yolla alınabilir fakat bu yollardan en sık rastlananları oral yol ve inhalasyondur. Aynı zamanda besin zincirine karışarak da insana ulaşabilen endokrin bozucuların çoğu lipofilik özellik gösterir ve genellikle yağ dokuda birikir. Besin zincirinin en üstünde bulunan insanlar ve diğer predatör memeliler yağ dokuda birikebilen endokrin bozucu kimyasallara daha yüksek konsantrasyonlarda maruz kalırlar. Bu da kümülatif, aditiv ve/veya sinerjik etkiye neden olabilir. Yapılan çalışmalarda poliklorlu bifenillerin ve organoklorlu bileşiklerin sperm sayısını ve kalitesini olumsuz yönde etkilediği, ksenoöstrojenlerin meme kanserine neden olduğu ve bunun gibi birçok geri dönüşümsüz etkiye yol açtığı gösterilmiştir (Lauretta et al., 2019).

Sıçanlarda yapılan çalışmalar sonucu endokrin bozuculara örnek olarak gösterilen Bisfenol A'nın, yetişkin sıçanlarda hipotalamik çekirdekte mRNA (mesajcı ribonükleik asit) işleme sürecini bozarak östrus siklusunda değişikliğe yol açtığı ortaya çıkarılmıştır.

Herbisit olarak kullanılan Atrazin, luteinize edici hormon (LH) salınımında, HPA ekseninin uyarılmasında ve adrenal hormon salgılanmasında değişime yol açmaktadır (Hampl et al., 2016). Üreme önleyici, immünosüpresif ve katabolik etkiler geri dönüşümlü olabilir. Bu da doğrudan davranışsal mekanizmalar üzerinde etkilidir. Serum kortikotropin salgılatıcı hormon) seviyelerindeki değişme patolojik durumlara neden olmaktadır. Bu ani değişme davranışsal bozukluklara, organ hasarına ve depresyona yol açabilir (Tsigos ve Chrousos, 2002).

Yapılan çalışmalar sonucu kortikosteron seviyesindeki değişimin HPA eksenini etkilediği ve bu değişimin hayvanların hayati fonksiyonları açısından tehlike oluşturabileceği belirtilmektedir (İnkaya, 2019).

2.3. Hipotalamus

Sinir sistemi ve endokrin sistem sıkı bir ilişki içerisindedir ve temel olarak bir bilgiyi vücudun bir bölgesinden başka bir bölgesine iletmekte ve bu şekilde fizyolojik ve fonksiyonel bütünlüğe önemli bir katkı sağlamaktadır (Ünlühizarcı ve Tanrıverdi, 2006).

Hipotalamus, beynin yapısal ve işlevsel olarak hipofiz bezine bağlı kısmıdır. Canlılığın devamını sağlamak ve homeostazi düzenlemek amacıyla üstlendiği karmaşık görevleri yerine getirebilmesi için beynin farklı bölgeleriyle sinirsel iletişim kuran afferent ve efferent nöronlara sahiptir (Demir, 2019).

Hipotalamusun görevleri ve fonksiyonları aşağıdaki gibi sıralanabilir (Özkara, 2004):

1. Hipofizden hormon salgılanmasının kontrolü,
2. Vücut ısısının ayarlanması,
3. Beyin saati olarak görev yapması,
4. Susuzluk ve açlık hislerinin kontrolü,
5. Seksüel davranışların kontrolü.

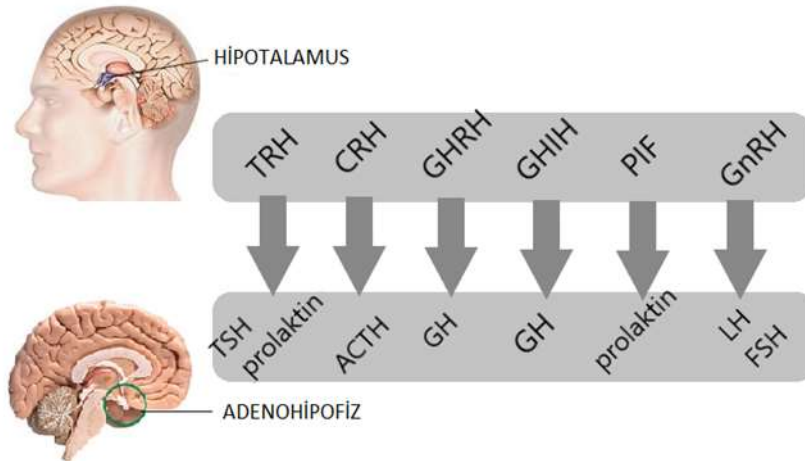
Hipotalamustan başlıca kortikotropin serbestleştirici hormon (CRH), gonadotropin serbestleştirici hormon (GnRH), büyüme hormonu serbestleştirici hormon (GHRH), tirotropin serbestleştirici hormon (TRH), prolaktin baskılayıcı hormon (PIF) salgılanmaktadır. Hipotalamustan salınan hormonlara, uygun endokrin cevap hipofiz tarafından verilmektedir (Tekin, 2011).

2.4. Hipofiz Bezi

Hipofiz bezi arka hipofiz (nörohipofiz) ve ön hipofiz (adenohipofiz) olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır. Hipotalamustan sinir lifleri çıkar ve bu sinir lifleri tarafından salgılanan nöro-endokrin peptitler kana girer ve damarlar tarafından ön hipofizdeki ikinci bir kılcak yatağı (portal sistem) taşınır ve burada ön hipofizdeki endokrin hücrelerin salgılama aktivitesini yönetirler (Jakoi, 2004).

Adenohipofiz ve nörohipofiz pars intermedia (ara lob) denen bir bölge aracılığıyla ikiye ayrılır. Bu bölgeden melanosit salgılatıcı hormon (MSH), oksitosin ve vazopressin salgılanır. Bu bölgede herhangi bir hormon üretimi gerçekleşmemesine rağmen canlı vücudu için hayati öneme sahip vazopressin ve oksitosin hormonu salınır. Vazopressin böbrek toplayıcı kanallarından suyun geri emilimini sağlar. Oksitosin ise gebelikte düz kasların uyarılmasını sağlar (Tekin, 2011).

Adenohipofiz, hipotalamus tarafından kontrol edilir ve burada hormon üretimi gerçekleşir. Hipofizin ön lobunun pars distalis kısmından salgılanan hormonlar canlı vücudunda salgılatıcı ve baskılayıcı faktörler aracılığıyla işlevlerini gerçekleştirir. Hipofizin bu bölümünden salınan her hormon için hipotalamustan salgılatıcı/baskılayıcı bir faktör salınmaktadır (Şekil 2.1.) (Tekin, 2011).



Şekil 2.1. Hipotalamus ve adenohipofiz hormonları (TRH: tirotropin salgılatıcı hormon, TSH: tiroit stimüle edici hormon, CRH: kortikotropin salıcı hormon, ACTH: adrenokortikotropik hormon, GNRH: gonadotropin serbestleştirici hormon, GH: büyüme

hormonu, GHIH: somatostatin, PIF: prolaktin inhibe edici faktör, GnRH: gonadotropin salgılatıcı hormon, LH: luteinleştirici hormon, FSH: folikül uyarıcı hormon) (Tekin, 2011)'den değiştirilmiştir.

2.5. Hipotalamus ve Hipofiz Bezi Hormonları

Hipotalamus ve hipofiz bezi, anatomik ve işlevsel açıdan yakın bir ilişki içindedir. Bu yapılar, aralarında tiroit bezi, böbreküstü bezi (adrenal bez) ve gonadların da bulunduğu bir dizi endokrin bezin işlevlerini düzenler ve büyüme, metabolizma, süt oluşturma ve su dengesinin düzenlenmesinde önemli rol oynarlar (Yavuz, 2015).

Hipotalamus- hipofiz hormonları stres, üreme, büyüme, tiroit hormonları ve dişilerde süt salgılanması üzerinde etkili hormonlardır. Hipotalamustan salgılanan Gonadotropin-Salgılatıcı Hormon (GnRH) ve anterior hipofizden salınan LH ve FSH gonadlar üzerinde etkili hormonlardır. Hipotalamustan salınan (GRH) ve hipotalamustan salınan somatotropin karaciğer ve diğer periferik organları etkiler. Hipotalamustan salınan (TRH) ve anterior hipofizden salınan Tiroit Stimüle Edici Hormon (TSH) tiroit hormonları üzerinde etkilidir. Hipotalamustan salgılanan dopamin ve hipofizden salgılanan prolaktin süt bezlerini etkileyerek süt üretimini etkiler. Tüm bunlar hipofizdeki nöronlar tarafından sentezlenir ve doğrudan kan damarlarına verilir. Bu hormonlar yaşamın devamı için hayati önem taşımaktadır (Gore, 2010).

Endokrin bozucu kimyasallara gelişimin erken aşamalarında maruziyet hipotalamusun yapısal gelişimini etkiler. Ayrıca yetişkin dönemde maruziyet de aynı şekilde yapı ve işlev üzerinde uzun vadeli, geri dönüşümü olmayan sonuçlara neden olabilir. Yapılan araştırmalarda in vitro modellerde endokrin bozucuların doğrudan GnRH peptitleri ve mRNA düzeylerinde hem sentez arttırıcı hem de inhibe edici etkileri olduğu bildirilmiştir (Parent et al., 2011).

Ayrıca gebelik sırasında yaşanan subkronik stres de hipotalamus ve hipofizde istenmeyen değişikliklere yol açmaktadır (Baquedano et al., 2011).

2.6. Adrenal Bez

Adrenal bez her iki böbreğin üzerine yerleşmiş olarak bulunur ve gelişimsel, yapısal ve işlevsel açıdan birbirinden tamamen farklı iki bölgeden oluşmaktadır. Bunlar; nöroektodermal hücrelerden gelişen dopamin, norepinefrin, epinefrin gibi maddeler

salgılayan medulla ve eşey hormonları, mineralokortikoidler ve glukokortikoid hormonları salgılayan kortekstir (Andıran, 2016; Khosla, 2020).

Adrenal korteks; zona glomerulosa (en dış katman), zona fasciculata (orta katman) ve zona retikularis (en iç katman) olmak üzere 3 kısımdan oluşmaktadır. Zona glomerulosa, mineralokortikoidleri, zona fasciculata glukokortikoidleri ve zona retikularis ise androjen öncülleri üretir (Dutt et al., 2020). Adrenal korteks işlevleri ise HPA eksenini yoluyla denetlenmektedir (Andıran, 2016).

2.7. Epifiz Bezi

Epifiz bezi (pineal bez) insanlarda ortalama 150 mg ağırlığında olan, yoğun kan damarları ile karakterize endokrin bir organdır. Kan-beyin bariyerinin dışında bulunması epifiz bezinin anatomik olarak önemli bir konumda olmasını da beraberinde getirir (Chlubek ve Sikora, 2020).

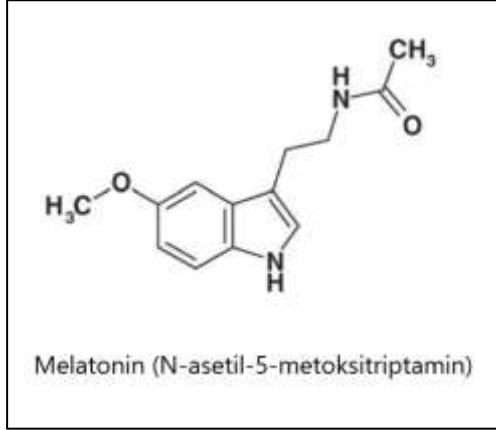
Anatomik olarak epifiz bezi beynin ortasında, üçüncü ventrikülün posterior kısmında yer alır ve parankim dokusu, pinealosit ve nöroglia olarak isimlendirilen hücrelerden oluşmaktadır. Sitoplazmik uzantılı hücreler olan pinealositler; norepinefrin, histamin, serotonin, melatonin ve dopamin gibi biyolojik aminleri ayrıca lüteinize edici hormon-salgılatıcı hormon (LHRH), tirotropin salıcı hormon (TRH), somatostatin, arginin, vasopressin gibi peptidleri sentezlerler (Üstündağ et al., 2020). İnsanda ve sıçanda da epifiz bezinin etrafı serebral ven gibi büyük damarlarla çevrilidir ve epitalamus kökenlidir (Kappers, 1976, Üstündağ 2020).

Epifiz bezi vücudun homeostatik mekanizmalar üzerinde etkili olup, bu bez tarafından üretilen melatonin hormonu sirkadiyen ritmi, uyku-uyanıklık döngüsünü, termal ve immünolojik sistemleri, menstruel döngüyü düzenler. Ayrıca üreme düzensizliklerini, psikolojik ve davranışsal bozuklukları ve tümör inhibisyonu üzerinde etkilidir. Beyinde, retinada, hipofizde ve vücudun birçok başka bölgesinde bulunan melatonin reseptörleri insanlarda belirli biyolojik faaliyetler üzerinde etkilidir (Samuel et al., 2019).

2.8. Melatonin Hormonu ve Salgılanması

Melatonin hormonu ilk defa kurbağa ve balıklarda deri renginde değişime sebep olan bir hormon olarak keşfedilmiştir. Daha sonra tüm omurgalılarda bulunan ve sirkadiyen ritmi ve mevsimsel değişiklikleri etkileyen bir hormon olduğu ortaya çıkarılmıştır. Karanlıkta melatonin salgısının arttığı ve ışık ile salgısının baskılandığı bilinmektedir. Melatoninde

bulunan 2 fonksiyonel grup (Şekil 2.2.) reseptör bağlanması özgüllüğü için belirleyici rol oynamaktadır. Aynı zamanda melatoninin amfifil özelliği (hem hidrofobik hem hidrofilik özellik taşıma durumu) vücut sıvılarında serbestçe dolanmasına ve birçok metabolik olayda rol almasına imkan sağlamaktadır (Hardeland et al., 2006).



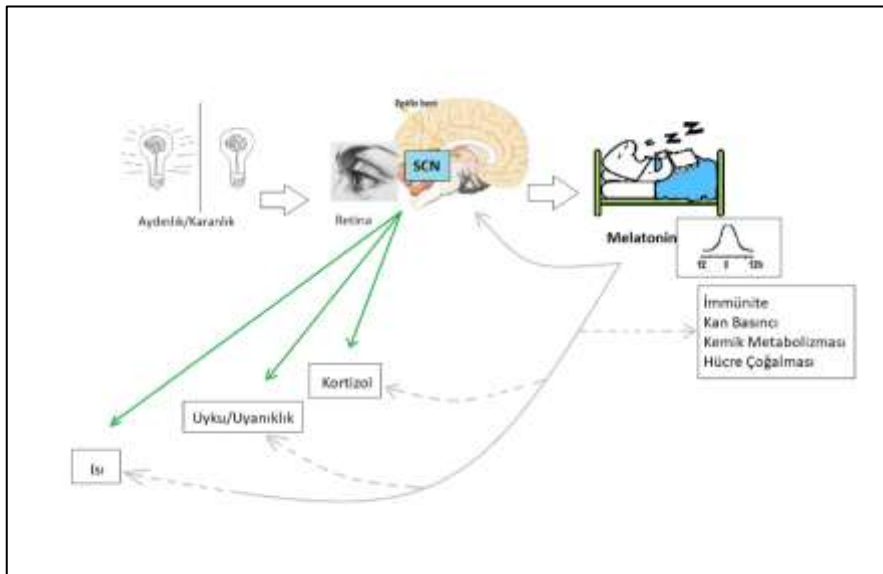
Şekil 2.2. Melatoninin kimyasal formülü (Hardeland et al., 2006).

Retinada sentezlenen melatonin retinal pigment epitel fonksiyonunun ve fotoreseptörlerdeki gece-gündüz varyasyonuna karşı retinanın vereceği yanıtın düzenlenmesinde rol oynamaktadır. Deride, pigment granüllerin değişiminden ve derin dokuların güneşin zararlı etkilerine karşı korunmasından sorumlu olan melatonin, gastrointestinal kanalda da sentezlenmekte ve dolaşıma verilmektedir. Hayvanlarda yapılan çalışmalarda tiroit bezi fonksiyonu üzerinde inhibe edici bir etkiye sahip olduğu görülmektedir. Melatoninin %60-70'i kanda albümin proteinine bağlanarak taşınır ve yarılanma süresi yaklaşık 3 ile 45 dakika arasındadır. İnsanda melatonin miktarındaki artış sonucu artan ısı kaybı ile birlikte beden ısısında azalma, kardiyak debide azalma, uyku-uyanıklık hallerinde bozulma ve immün duyarlılıkta artma ile sonuçlanır (Üstündağ et al., 2020).

Melatonin vücutta birçok fonksiyon üzerinde etkilidir. Yapılan hayvan çalışmalarında *in vitro* olarak melatonin GnRH ile uyarılmış LH salgılanmasını inhibe eder. Bu gözlemler doğrultusunda pubertal gelişim ile melatoninin yakından ilişki içerisinde olduğu ifade edilebilir. Yapılan çalışmalar sonucu yaş ilerledikçe serum melatonin konsantrasyonunun azaldığı belirtilmiştir (Çam ve Erdoğan, 2003). Melatoninin etkilediği mekanizmalar Şekil 2.4.'de verilmiştir.

Melatoninin tiroit fonksiyonu üzerinde de önemli bir etkiye sahip olduğu bilinmektedir. Farelerde yapılan pinealektomi (epifiz bezinin cerrahi yöntemlerle çıkarılması) sonucu farelerin tiroit bezinde büyüme gözlenmiştir (Üstündağ et al., 2020). Epifiz bezinin aktivitesinin arttığı ışık kısıtlamasının (karanlığa maruz bırakma) erkek farelerde tiroit folikül hücrelerinde mitotik aktiviteyi inhibe ettiği, dolayısıyla tiroit büyümesini baskıladığı ayrıca TSH'nun uyarıcı etkisinin de tamamen baskılandığı gösterilmiştir. Yapılan çalışmalar çoğunlukla melatoninin tiroit fonksiyonunu baskılayıcı etki gösterdiği yönünde olsa da aksi yönde sonuç veren çalışmalar da mevcuttur. Suriye hamsterleri üzerinde yapılan bir çalışmada 10 hafta süreyle öğleden sonraları deri altı melatonin hormonu enjeksiyonunun kanda T3 (triiodotironin) ve T4 (tiroksin) hormon düzeylerini azalttığı bulunmuştur (Üstündağ et al., 2020).

İnsanda pek çok biyokimyasal, fizyolojik ve davranışsal değişkenlerde olduğu gibi plazmadaki melatonin düzeyleri aydınlık/karanlık dengesi ile ilişkili olarak saatlik periyodlar içinde düzenli bir değişim göstermektedir (Şekil 2.3.). Gece ışığa maruz kalındığında pineal fonksiyonlar akut olarak baskılanır. Bu durum melatoninin kortizol salgılaması ile ilişkilidir. Adrenal bezde bulunan melatonin reseptörleri uyarıldığında ACTH-aracılı kortizol oluşumunu baskılar. Bu iki hormon da immün sistem üzerinde etkili hormonlardır. Düşük melatonin ve yüksek kortizol seviyelerinin çeşitli hastalıklar üzerinde önemli rol oynayabileceği bildirilmiştir. Ayrıca melatoninin bazı hastalıklar ve kanser türleri üzerinde koruyucu etkisinin olduğu bilinmektedir (Şener, 2010).

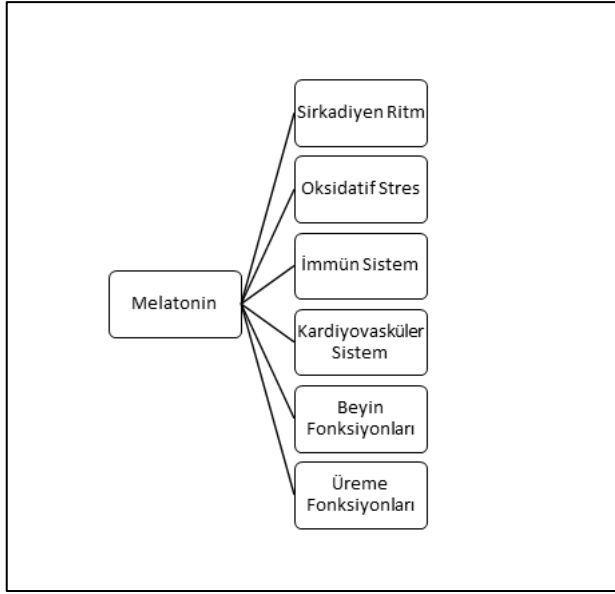


Şekil 2.3. Melatonin düzeyinin aydınlık/karanlık dengesine göre gün içinde saatlik periyodlar içinde düzenlenmesi.

Melatonin hormonunun salınmasına etki eden birçok faktör olsa da özellikle aydınlık-karanlık; gündüz-gece ritmi sentez ve salınımın düzenlenmesini kontrol eder. İnsanlarda 01:00-05:00 arası en üst düzeye ulaşan melatonin hormonunun salgılanması gecenin ilerleyen saatlerinde giderek azalır. Karanlık dengesinin artması ile birlikte fotoreseptörler hipotalamusta bulunan suprakiazmik çekirdeği (SCN) uyarır. Daha sonra postgangliyonik sinirler aracılığıyla epifiz bezine iletilen uyarı sonucu salınan melatonin hormonu sindirim sistemi, immün sistem, kardiyovasküler sistem başta olmak üzere canlı yaşamı için hayati önem taşıyan sistemler üzerinde etki gösterir (Şener, 2010). Melatonin dişi ve erkek üreme sistemi ile de yakından ilgili bir hormondur. Melatoninin antioksidan özelliğinin, patolojik durumlarla ve ayrıca toksik maddelere maruz kalmayla bağlantılı erkek üreme bozukluklarını iyileştirdiği rapor edilmiştir. Melatoninin, kan-testis bariyeri gibi fizyolojik engelleri kolaylıkla geçtiği ve erkek üreme bozukluklarının önlenmesinde etkili olduğu belirtilmektedir (Rocha et al., 2015).

Menstrual döngüsü sağlıklı ve normal bir şekilde seyreden kadınlarda plazma melatonin seviyeleri değişkenlik göstermektedir. Menstrual döngünün farklı evrelerinde farklı melatonin düzeylerinin olduğu, luteal faz sırasında melatoninde bir artışın meydana geldiği belirtilmektedir (Aleandri et al., 1996). Foliküler sıvıda melatonin konsantrasyonlarını progesteron, estradiol ve hatta oksitosin ile ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur (Minguini et al., 2019; Schaeffer ve Sirotkin, 1997; Webley et al., 1988).

Yapılan bir çalışmada melatoninin, korpus luteum fonksiyonunun doğrudan düzenlenmesinde ve gebeliğin başlamasında ve sürdürülmesinde rol oynadığı belirtilmiştir. Ayrıca melatoninin, yumurtalık ve luteal fonksiyonu iyileştirmek için, gebeliğin erken aşamalarında, çeşitli yumurtalık ve gebelik hastalıklarının tedavisi için kullanılabilecek bir ilaç haline dönüştürülebileceği vurgulanmaktadır (Scarinci et al., 2019).



Şekil 2.4. Melatoninin etkilediği mekanizmalar. (Zagrean et al., 2020)'dan değiştirilmiştir.

Yapılan bir çalışmada BPA uygulamasının hem epididimal dokuda hasara hem de sperm kalitesinde önemli azalmaya neden olduğu belirtilmiştir. BPA'nın verdiği hasar melatonin hormonu ile giderilmeye çalışılmış ve oluşan hasarda iyileşmenin görüldüğü belirtilmiştir (Akarca et al., 2020).

Yapılan bir çalışma geniş spektrumlu bir herbisit olan glifosatın, melatonin öncüsü olan serotonin sentezinde bozulmaya neden olduğunu ortaya koymuştur (Seneff et al., 2015). Yapılan diğer bir çalışmada ise melatoninin BPA kaynaklı oksidatif stres ve apoptoz üzerindeki koruyucu etkileri sıçan testislerinde ve epididimal spermden araştırılmıştır. Melatonin testosteron düzeylerini korumuş, histopatolojik değişiklikleri iyileştirmiş, seminal haploid germ hücrelerinin yüzdelerini artırmış ve fonksiyonel sperm üretimini sağlayarak BPA'nın zararlı etkileri üzerinde iyileştirici etki göstermiştir. Ayrıca apoptozda görev alan Bcl-2 (Beclin-2) proteinini kontrol ederek apoptozu önlediği belirtilmiştir (Othman et al., 2016). Yapılan bir diğer çalışmada belirgin vasküler tıkanıklığa, hiperplaziye, hücrel distorsiyona, artmış lipid peroksidasyonuna ve antioksidan enzimlerin azalmasına neden olan BPA'nın melatonin uygulaması ile antioksidan sistemine etki ederek bu bulguların iyileştirilmesine katkıda bulunduğu ileri sürülmüştür (Olukole et al., 2019).

Epifiz bezindeki hasar veya melatonin hormonunun sentezlenmesinde meydana gelebilecek bir sorun doğrudan canlı homeostazisi üzerinde etkili olacaktır. İnsanlarda ve diğer canlılarda yapılan çalışmalar sonucunda melatonin hormonunun sentezinde ve salgılanmasındaki aksaklıklar sonucu canlı organizmada patolojik sorunlar gözlemlenmiştir (Reiter et al., 2020).

2.9. Endokrin Bozucular

Endokrin bozucu kimyasallar, vücudun doğal hormonlarının sentezine, salgılanmasına, taşınmasına, metabolizmasına, bağlanmasına veya ortadan kaldırılmasına müdahale eden eksojen ajanlardır. Bu kimyasallar hormon metabolizmasını stimüle ya da inhibe ederek hormon konsantrasyonlarında değişikliklere yol açarlar. Endokrin bozucu kimyasallar yapısal olarak birçok hormona benzer ve son derece düşük konsantrasyonlarda işlev görürler. Bu kimyasallar doğal hormonları taklit edebilir ve dokular içinde benzer etki gösterebilirler (Mao et al., 2012; Noorimotlagh et al., 2018; Karabulut and Barlas, 2022; İnkaya and Barlas, 2022). Bu kimyasalların özellikleri, onları nükleer hormon reseptörlerini aktive etmek veya antagonize etmek için özellikle uygun hale getirir. Bu nedenle, hormonların sentezi, salınımı ve bozunmasında rol oynayan reseptörlerin ve enzimlerin ortak özellikleri ve benzerlikleri nedeniyle, bu maddelere karşı endokrin sistem uygun olarak çalışır (Schug et al., 2011).

Endokrin bozucu kimyasallar oldukça heterojendir ve yapılarına göre temel olarak aşağıdaki şekilde sınıflandırılabilir:

1. Doğal Endokrin Bozucu Kimyasallar

İnsan ve hayvan gıdalarında bulunan doğal kimyasallar (örn. Fitoöstrojen: Genistein, Mirisetin, Kumestrol vb.).

2.Sentetik Endokrin Bozucu Kimyasallar

Endüstriyel çözücüler veya yağlayıcılar olarak kullanılan sentetik kimyasallar ve bunların yan ürünleridir (örn. Poliklorlu bifeniller (PCB'ler), polibromlu bifeniller (PCB'ler), dioksinler).

- Plastikler (örn. Bisfenol A (BPA))
- Plastikleştiriciler (Fitalatlar)
- Pestisitler (örn. Diklorodifeniltrikloroetan (DDT))

- Fungusitler (örn. Vinclozolin)
- Bazı farmasötik ajanlar (örn. Dietilstilbestrol (DES) vs.

Endokrin bozucu kimyasallar genellikle suda çözünürler, yani lipofilik özelliğe sahiptirler. Bu nedenle yağ dokusunda birikme eğilimindedirler ve yarı ömürleri de uzundur (Heindel et al., 2015; Sargis, 2015). Bu kimyasalların endokrin sistem üzerindeki etkileri hem insanda hem de hayvanlarda olumsuz etkiler oluşmasına neden olmaktadır (Monneret, 2017). Endokrin bozucu kimyasallar başta üreme sistemi olmak üzere immün sistem, sinir sistemi gibi sistemlere etki ederler. Ayrıca, insanlarda tümörlere, doğum kusurlarına ve gelişim bozukluklarına neden olurlar (Kolšek et al., 2015; Coşkun, 2020). Endokrin bozucuların en önemli etkilerinden biri de reaktif oksijen türleri (ROS) üretmeleridir. Reaktif oksijen türleri, proteinler ve DNA gibi membran lipidlerine saldırarak oksidatif stresi tetikleyerek oksidatif hasara neden olurlar (Aydoğan et al., 2010).

Endokrin bozucu kimyasallar insanların ve hayvanların vücutlarına kontamine içme suyu tüketimi, kontamine havayı solumak ve deri yoluyla emilim gibi birçok yol ile olabilir (Mao et al., 2012; Noorimotlagh et al., 2018).

Endokrin bozucu kimyasalların çoğu su ortamına girebilir ve suyu potansiyel bir endokrin bozucu kimyasal kaynağı haline getirebilir. Bunun nedenleri, kanalizasyon arıtma işlemleri sırasında kirletici maddelerin eksik uzaklaştırılması, toprağın kanalizasyona akması olabilir. Flokülasyon, çöktürme, filtreleme ve klorlama gibi bazı su arıtma sistemleri bu kirletici maddeleri sudan gideremez. Bu durum, endokrin bozucu kimyasalların göller, akarsular vb. su sistemlerine salındığında, düşük konsantrasyonlarda bulunmalarına rağmen çevre ve insanlar üzerinde toksik etkileri olabileceğini düşündürmektedir. Endüstriyel tesislerden gelen atık su, çevre üzerindeki potansiyel olumsuz etkileri nedeniyle önemli bir maruz kalma kaynağıdır. (Kabir, Rahman et al., 2015). Endokrin bozucu kimyasalların, organizmanın yaşına, kimyasalın alınım yoluna ne kadar sürede ve ne kadar sıklıkla maruz kaldığına, kimyasalın tek veya karışım halinde olmasına göre etkileri değişiklik gösterebilmektedir. Ayrıca bu kimyasalların çoğu plasentadan geçebildiği için üreme sağlığını da tehlikeye atmaktadır (Çetinkaya, 2009).

Yapılan bir çalışmada balık, sığır eti, yumurta, peynir ve diğer yağ içeren hayvansal içerikli gıdalar da 1–2 mg/kg poliklorlu bifenil (PBC) tespit edilmiştir. İnsanlar fazla

miktarda balık tükettikleri için ve kontamine anne sütüyle bebekleri besledikleri için, bu tür endokrin bozucu kimyasalları daha yüksek konsantrasyonlarda alırlar (Yang et al., 2006).

Fitalatlar yüksek üretim hacimli plastikleştiricilerdir. Ev ve endüstriyel ürünlerde en fazla kullanılan endokrin bozucu kimyasallar olup, insanlar bu kimyasallara yiyecek kapları, şişeler, bardaklar, tabaklar ve ambalajlar dahil olmak üzere çok çeşitli ürünleri kullanarak maruz kalmaktadır. Bu kimyasallar ağza yerleştirilebilecek oyuncaklarda, biberonlarda ve çocuk ürünlerinde de bulunduğu için bebeklerin bu kimyasallara maruziyeti oldukça fazladır. Bu nedenle 2008 yılında, ABD Tüketici Ürünleri Güvenliğini İyileştirme Yasası (CPSIA) çocuk ürünlerinde 6 fitalatı yasaklamıştır (Bang et al., 2012).

Endokrin sistemin bozulmasının en önemli parametreleri, ksenoöstrojenler, antiöstrojenler, antiandrojenler, tiroit fonksiyonunun bozulması, kortikoid fonksiyonun bozulması ve diğer metabolik etkilerle ilgilidir (De Coster et al., 2012). Pek çok çalışma, çeşitli eksojen kimyasalların endokrin süreçler ve işlevler üzerindeki etkilerini tanımlamış ve bilimsel teoride önemli bir değişim ihtiyacını ortaya çıkarmıştır. Bu doz-yanıt ilişkilerinin çoğu tekdüze değildir. Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi tarafından yapılan bir inceleme, üç endokrin yolundan (östrojen, androjen ve tiroit) en az birini bozan 1800'den fazla kimyasal belirlemiştir (Kahn et al., 2020).

Endokrin bozucu kimyasallar halk sağlığına yönelik ciddi tehditler olarak kabul edilmekte ve potansiyel olarak küresel ölçekte önde gelen çevresel risklerden biri olarak ortaya çıkmaktadır (Kahn et al., 2020).

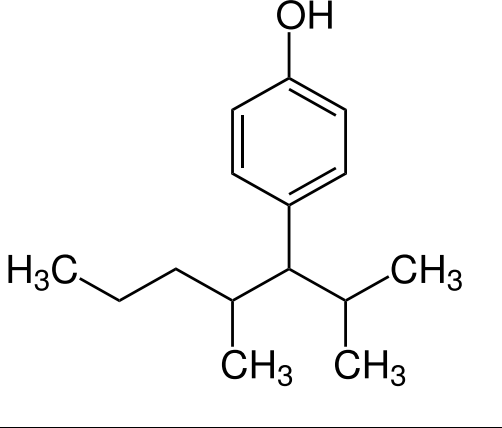
Yapılan bir çalışmada antiandrojenik bir pestisit vinklozolin, F1 neslinden yetişkin sıçanlarda ve incelenen tüm sonraki nesillerde, epigenetik değişiklikler yoluyla, meme kanseri dahil olmak üzere bir dizi hastalık durumu veya doku anormalliklerini indüklediği belirtilmiştir (De Coster et al., 2012).

BPA'nın fareler üzerindeki doğum öncesi maruziyetin, yavrular üzerinde hızlanmış ergenlik, artan vücut ağırlığı, değişen meme bezi, dişi genital sistemi ve prostatın yapı ve işlev değişikliği şeklinde etkilere neden olduğu belirtilmektedir (Kabir et al., 2015).

Nuñez ve ark. tarafından yapılan çalışma sonuçlara göre, embriyonik gelişim sırasında farklı BPA dozlarına maruz kalma, nefrojenez üzerinde etkili olduğu belirtilmiştir. Bu yapısal değişiklikler, yaşamın ilerleyen dönemlerinde kardiyometabolik hastalık geliştirme riskinin artmasıyla da ilişkilendirilmiştir (Nuñez et al., 2018).

2.10. Nonilfenol

Nonilfenol (NP), alkilfenol etoksilatların bir grubunu oluşturan organik yapıda bileşiklerdir (Warhurst, 1995). Nonilfenolün özelliği nonil grubundaki dallanma derecesine göre değişiklik gösterebilmektedir. Nonilfenolün kimyasal özellikleri Şekil 2.5.'de verilmiştir. Nonilfenoller kanserojenik, teratojenik ve mutajenik etkilerinden dolayı önem arz eden bileşiklerdir. Son yıllarda nonilfenol etoksilatlar için artan talep ve üretim bu maddenin fazla miktarda çevreye salınmasına yol açmıştır (Uysal, 2017).


Kimyasal Formülü: C ₁₅ H ₂₄ O
IUPAC Adı: 4- (2,4-dimetilheptan-3-il) fenol
Molar Kütle: 220,35 g/mol
Görünüm: Renksiz veya açık sarı yapışkan sıvı
Yoğunluk: 0,953
Erime Noktası: -8 °C
Kaynama Noktası: 290 – 300 °C

Şekil 2.5. Nonilfenolün fiziksel ve kimyasal özellikleri (Uysal, 2017, Araujo et al., 2018)

Sıçanlarda oral gavaj yolu ile yapılan bir çalışmada hesaplanan LOAEL (Lowest Observed Adverse Effect Level) ve NOAEL (No Observed Adverse Effect Level) değerleri Tablo 2.1.'de görülmektedir (Bakke, 2003).

Tablo 2.1 Çeşitli organizmaların nonilfenol için LOEL ve NOEL değerleri

Organizma	LOEL	NOEL	Kaynak
<i>Rana catesbiana</i> (su kurbağası)	390 mg/kg	155 mg/kg	(ECHA, 2015)
<i>Pimephales promelas</i> (koca golyan balığı embriyoları)	0,014 mg/l	0,0074 mg/l	(ECHA, 2015)
Zebra balığı embriyoları	2,5 mg/L	2mg/L	(Kammann et al., 2009)
İnsan (hesaplanan değerler)	15 mg/kg vücut ağırlığı/gün	15 mg/kg vücut ağırlığı/gün	(World Health Organization)

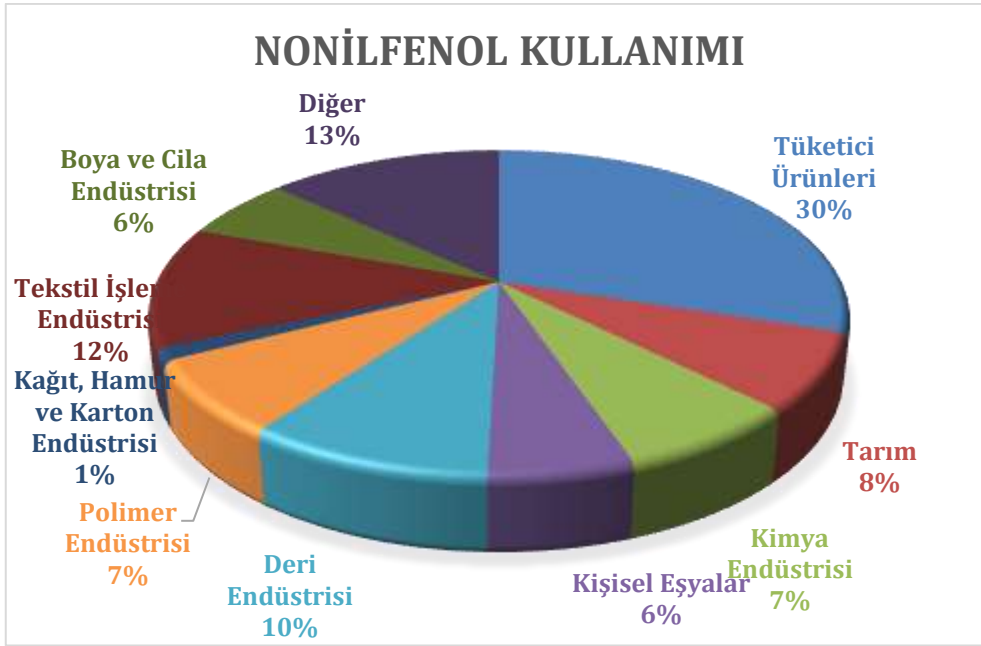
Akut toksisiteyi belirtmek için kullanılan ve çalışılan popülasyonun yarısını öldüren dozu tanımlayan öldürücü doz (letal doz 50, LD50) değerleri ise Tablo 2.2.'de görülmektedir.

Tablo 2.2. Çeşitli organizmaların nonilfenol için uygulama yolu ve LD50 değerleri

Organizma	Uygulama Yolu	LD50	Kaynak
Fare	Oral	1231mg/kg	(Evans et al., 1983)
Tavşan	Dermal	2000 mg/kg	(ECHA, 2015)
Sıçan	Oral	580mg/kg	(National Technical Information Service. Vol. OTS0573098)

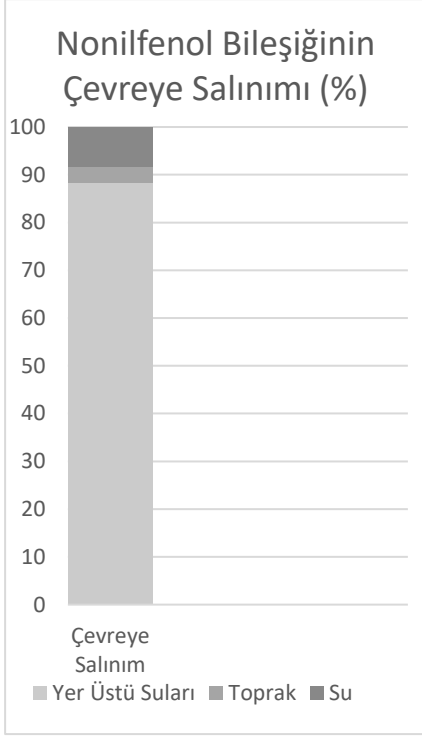
Nonilfenolün Avrupa ülkelerinde kullanımı ve üretimi 2003'ten beri yasaktır (Cheng et al., 2016). Bu nedenle Japonya ve Kanada'da yasak olan nonilfenol hakkında yeterli risk değerlendirme çalışması bulunmamaktadır. Tolere edilen günlük alım miktarı (TDI), Danimarka Çevre Ajansı (Danish Environmental Agency) tarafından 5 µg/kg vücut ağırlığı/gün olarak belirlenmiştir (Duprés, 2020).

Nonilfenol, diş hekimliği, gıda ambalajlama, tekstil, zirai ilaç, deterjan, boya ve kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılan plastik bileşimlerin yani alkilfenol etoksilatların bir bozunma ürünüdür (Zemheri ve Cevdet, 2018). Nonilfenol, çamaşır ve bulaşık deterjanları, emülsiyon yapıcılar, çözdürücüler ve birçok kozmetik maddesi gibi günlük hayatta sıklıkla kullandığımız ürünlerde bulunan bir bileşiktir. Molekül ağırlığı 220,34 g/mol olan nonilfenol, bir hidroksil grubuna ve yan pozisyonunda doğrusal nonil zincirine sahip fenol halkasından oluşan hidrofob bir bileşiktir. Üstün sürfektan özellik göstermektedir (Soares et al., 2008).



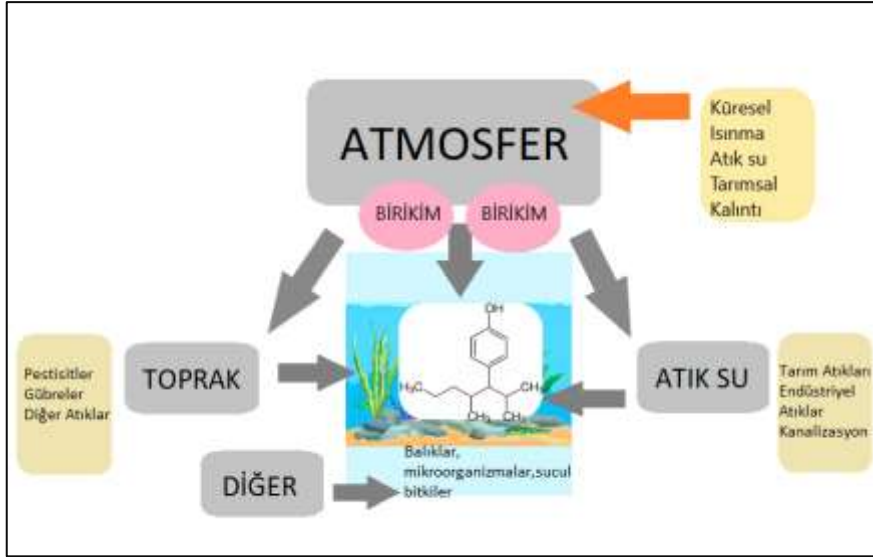
Şekil 2.6. Nonilfenolün kullanım alanları (Sweeney ve Currie, 2002)'den değiştirilmiştir. Nonilfenolün kullanıldığı alanlar Şekil 2.6.'da gösterilmektedir. En çok kullanıldığı alan %29,67'lik bir oranla kamu malları olup, ardından tekstil ve deri endüstrisi gelmektedir (Sweeney ve Currie, 2002).

Nonilfenol yüzey ve yer altı sularında, sedimentde, sucul organizmalarda, atık su çıkışlarında, havada ve gıdalarda tespit edilmiştir. Nonilfenole en çok suda, çökeltilerde, havada ve toprakta rastlanılmaktadır. Grafiğe göre nonilfenol bileşiklerinin ekosisteme giriş yolunun en yaygın olarak yüzey suları olduğu görülmektedir (Porter ve Hayden, 2002; Zheng et al., 2012; Karakaş, 2014).



Şekil 2.7. Nonilfenolün çevreye salınımı yüzdesi (Yer üstü suları: %88,2, Toprak: 3,5, Su: 8,3) (Karakaş, 2014).

Nonilfenolün sucul ekosisteme giriş yolları Şekil 2.8’de gösterilmektedir. Japonya’da nonilfenol, su kirliliğinin çevre kalitesi standardında bir parametre olarak belirlenmiştir. Yapılan çalışmalar sonucu en yüksek nonilfenol konsantrasyonunun 1094,05 ng/L ile Çin’de bulunan Liao Nehri’nde olduğu belirtilmektedir. Yapılan araştırmalar deniz sularındaki nonilfenol konsantrasyonunun tatlı sulara oranla daha az olduğunu göstermektedir (Hong et al., 2020).



Şekil 2.8. Nonylphenolün sucul ekosisteme giriş yolları (Hong et al., 2020)'dan değiştirilmiştir.

Nonylphenol toprakta bulunan pestisit gübre ve diğer atıklarla birlikte sucul sisteme girebilir, atık suların bilinçsizce çevreye salınmasıyla sucul ekosistemlerde birikim gösterebilir (Hong et al., 2020).

Nonylphenolün çevreye salınım yüzdesi şekil 2.7.'de verilmiştir. Yılda toplam 7437 ton nonylphenol kullanılmaktadır ve kullanılan nonylphenolün %10'undan fazlası doğaya salınmaktadır. Yapılan araştırmalara göre atıksu arıtma tesislerine yılda 456 ton nonylphenolün %88,2'si yüzey sularına bırakılmaktadır. Ayrıca 2694 ton nonylphenol etoksilat (NPEO) oluşurken bu kimyasalların da %86,9 'u (946 ton/yıl) yüzey sularına bırakılmaktadır (Karakaş, 2014). Doğrudan çevreye salınım sonucu atık sularda biriken nonylphenol biyogiderimi zor bir bileşik olması nedeniyle özellikle sucul organizmalar için toksiktir (Porter ve Hayden, 2002). Yapılan çalışmalar sonucu sucul organizmalarda tüm dokularda DNA hasarına yol açtığı ortaya koyulmuştur (Sharma ve Chadha, 2020, Porter ve Hayden, 2002). *Channa punctata* (benekli yılanbaşı) ile yapılan bir çalışmada, bu sucul organizmanın nonylphenol ile subkronik maruziyeti sonucu karaciğer ve böbrek başta olmak üzere tüm dokularda DNA hasarının gözlemlendiği belirtilmiştir (Sharma ve Chadha, 2020). Mercan ve siyah kaya balığı ile yapılan çalışmalar da benzer şekilde nonylphenolün her iki sucul organizmada üreme fizyolojisi parametreleri üzerinde önemli olumsuz etkilere sahip olduğunu göstermektedir. Maruziyet sonucu iki türde de plazma

kortizol seviyesinin ve estradiol seviyesinin yükseldiği belirtilmiştir (Saravanan et al., 2019).

Nonilfenoller doğrudan çevreye salınmaz fakat çevreye doğrudan salınan nonilfenol etoksilatların anaerobik parçalanma ürünleri olarak ortaya çıkar. NPEO (nonilfenol etoksilat), tipik olarak ev tipi sıvı çamaşır deterjanlarında, endüstriyel sıvı sabunlarda ve temizleyicilerde, kozmetiklerde, boyalarda, pestisitlerde ve herbisitlerde dağıtıcı ajanlar olarak kullanılır ve bu nedenle ekosisteme en çok atık su yoluyla dahil olurlar (ve Hayden, 2002). Kontamine su ve gıda yolu veya doğrudan kontak ile insanlar bu bileşiği vücutlarına alırlar (Sharma ve Chadha, 2018).

İnsanlar yalnızca çevreden değil, içme suyu ve gıdalarla da nonilfenolü alırlar. Birçok çalışmaya göre, meyve-sebzelerde, ette ve deniz ürünlerinde nonilfenole rastlanmıştır. Kabuklu deniz hayvanları, kabuklular, tuzlu ve tatlı su balıkları ve sığır eti nonilfenolün en çok bulunduğu besin gruplarıdır (Porter ve Hayden, 2002).

Erkeklerin nonilfenole maruziyet oranı aynı yaş grubundaki kadınlar ile karşılaştırıldığında daha fazla olduğu ve günlük nonilfenol alımının yaşa bağlı olarak azaldığı fakat okul öncesi dönemde çocukların nonilfenole maruziyetinin çok daha yüksek olduğu ve buna bağlı olarak günlük alınan dozun vücut ağırlığı ile ilişkili olabileceği belirtilmiştir (Lin et al., 2020). Ayrıca 2008’de İtalya’da yapılan bir çalışmaya göre anne sütünde nonilfenol tespit edilmiş ve bu durum yağ doku ile ilişkilendirilmiştir. Çalışmaya göre nonilfenol seviyesi 13–56 µg/L’dir. Bu da anne sütü ile beslenen çocuklar için risk oluşturmaktadır (Ademollo et al., 2008).

Östrojenle ilişkili reseptörlerin düzenlenmesi ve sentezi sirkadiyen ritim ile kontrol edilen ve yürütülen bir süreçtir. Fareler ile yapılan bir çalışmada, nonilfenolün ve diğer endokrin bozucuların bu reseptörlerin sentezini etkilediği ortaya koyulmuştur (Crevet ve Vanacker, 2020). Sıçanlarda nonilfenolün oral yolla alınmasının testislerde patolojik sonuçlara neden olduğu, epifiz bezinden salgılanan melatonin hormonunun ise bu hasar için koruyucu özellik gösterdiği belirtilmiştir (Tabassum et al., 2017). Yapılan çalışmalarda genel olarak nonilfenolün, insanlarda steroid hormonları taklit ettiği ve ekosistemde yaşayan diğer canlılarda ise hermafrodit insidansına, metamorfozda gecikmeye, gelişimsel gecikmeye ve larva sağ kalımında azalmaya neden olduğu tespit edilmiştir (Sharma ve Chadha, 2018). İlk kez 1940 yılında sentezlenen nonilfenol ile yapılan çalışmalar sonucunda oral gavaj yolu ile verilen nonilfenolün 10 dakika sonra kanda tespit

edildiği ve intravenöz uygulamalar sonucunda da yarılanma ömrünün 310 dakika olduğu belirtilmiştir. Yarılanma ömrü, vücuttaki plazma konsantrasyonunu veya kimyasal miktarını %50 azaltmak için geçen süre olup bu nedenle önemlidir. Ayrıca nonilfenolün laboratuvar hayvanlarında cilt ve gözde tahriş edici ve aşındırıcı olduğu gözlemlenmiştir (Boussery et al., 2008; Kim 2014; Miyagawa et al., 2016).

Nonilfenol üreme sistemi dahil birçok sistem için toksik bir bileşiktir. Yapılan çalışmalar sonucu etkilenen gebe bireylerin fetal kordon kanında, maternal dolaşımda, plasenta ve anne sütünde nonilfenole rastlanmıştır. Buna göre nonilfenol, plasentadan geçebilen bir kimyasaldır. Maternal dolaşımdaki nonilfenol ile amniyotik sıvı arasında bir ilişki olduğu ortaya koyulmuştur. Nonilfenol bileşiklerinin merkezi sinir sistemine zarar verdiği, spesifik beyin bölgelerinin çalışmasını etkilediği öne sürölmüştür. In vivo ve in vitro çalışmalarla nonilfenolün beyin ve merkezi sinir sistemi hücrelerinde apoptoza neden olduğu gösterilmiştir (Li et al., 2019). Yapılan bir çalışmada nonilfenol uygulamasının sıçan beyninde glutatyon (GSH) seviyesinin azaldığı, lipid peroksidasyonunun son ürünü olan malondialdehitin kontrol grubuna kıyasla daha yüksek konsantrasyonlarda olduğu tespit edilmiş. Bu çalışma ile nonilfenolün beyin dokusunda oksidatif strese neden olduğu gösterilmiştir (Aydoğan et al., 2008).

3. DENEYSEL ÇALIŞMALAR

3.1. MATERYAL VE METOD

3.1.1. Kimyasal Malzemeler

Çalışmada kullanılan nonilfenol (CAS No: 84852-15-3) SIGMA ALDRICH (ABD) firmasından temin edilmiştir. Biyokimya analizleri için glikoz kiti BT LAB (katalog no: E1623Ra) (Çin) firmasından; hormon analizleri için ACTH (katalog no: E-EL-R0048), kortizol (katalog no: E-EL-R0030), aldosteron (katalog no: E-EL-R0070), ve melatonin (ab283259) 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 Ependorf Centrifuge 5810R santirifüj cihazı kullanılarak serumları ayrılmıştır.

3.1.2. Deney Hayvanları

Bu çalışmada, nonilfenol maruziyeti sonucu oluşabilecek etkilerin gözlenmesi amacıyla, yaklaşık 30-40 gram ağırlığında 21 günlük prepubertal Wistar albino (*Rattus norvegicus*) erkek sıçanlarda histopatolojik, hormonal ve biyokimyasal parametreler kullanılarak incelemeler yapılmıştır. Bu amaçla sıçanlar, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Üretim Merkezi'nden, Hacettepe Üniversitesi Deney Hayvanları Etik Kurulu'ndan 26.04.2021 tarihli ve 2021/04-03 sayılı onayı ile temin edilmiştir. Tez kapsamında 36 adet erkek sıçan ile çalışılmıştır. Çalışma öncesi sıçan ağırlıkları göz önünde bulundurularak sıçanlar gruplara rastgele olarak dağıtılmıştır.

3.1.3. Laboratuvar Koşulları

Çalışmada, tüm sıçanlar eşit laboratuvar koşullarında %50±5 nem ve 21±2 °C'de tutulmuştur. 20x40x22 boyutlarında kafeslerde tutulmuş ve temizlik ve bakımları yapılmış, günlük olarak takip edilmiştir. Sıçanlar polikarbonat (BPA free), otoklanabilir kafeslerde tutulmuştur. Deney süresince laboratuvar ortamı 12 saat aydınlık 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlanmıştır.

3.2. YÖNTEM

3.2.1. Deney Hayvanlarının Gruplanması

Çalışmada deney hayvanı olarak erkek sıçanlar seçilmiştir. Uygulamalarda fizyolojik, biyolojik, hormonal değişimlerin gözlemlenebilmesi amacıyla, canlı organizmanın kimyasallara karşı çok hassas olduğu prepubertal dönem (21 günlük erkek sıçanlar) tercih edilmiştir. Daha önce yapılan çalışmalar dikkate alınarak, anlamlı bir örneklem oluşturulabilmesi açısından G-Power analizi kullanılarak örneklem genişliği 6 olarak belirlenmiştir. Uygulama dozları ise 5 mg/kg/gün (düşük doz), 25 mg/kg/gün (orta doz); 125 mg/kg/gün (yüksek doz) olarak belirlenmiştir (Miyamoto and Klein, 1998).



Şekil 3.1. Deneysel çalışmaların şematik gösterimi.

Uygulamalara her gün aynı saatte 28 gün boyunca devam edilmiştir. 36 adet erkek sıçan ve her grupta 6 sıçan olacak şekilde 6 deney grubu oluşturulmuştur. Deney hayvanları her bir gruba rastgele dağıtılmıştır. Sıçanlar uygulama başlamadan önce ağırlıklarına göre rastgele gruplandırılmıştır. Nonilfenol mısır yağında çözülerek, toplam hacim 0.5ml olacak şekilde her sıçana eşit hacimde, 28 gün boyunca oral gavaj yöntemiyle verilmiştir. 28 gün sonunda sıçanlar kurban edilerek analiz için gerekli doku ve örnekler toplanmıştır. Deneysel çalışmaların şematik gösterimi Şekil 3.1.'de verilmiştir.

Deney Grupları:

- Negatif Kontrol Grubu (Herhangi bir uygulama yapılmayan grup)
- Taşıyıcı Kontrol Grubu (50 mg/kg/gün mısır yağının oral gavaj yoluyla verildiği grup)

- Pozitif Kontrol Grubu (50 mg/kg/gün Bisfenol A verilen grup (BPA))
- Nonilfenol Uygulama Grubu (5 mg/kg/gün)
- Nonilfenol Uygulama Grubu (25 mg/kg/gün)
- Nonilfenol Uygulama Grubu (125 mg/kg/gün)

3.2.2. Vücut Ağırlığı, Organ ve Rölatif Organ Ağırlıkları

Uygulama süresi boyunca her gün deney hayvanlarının ağırlıkları kaydedilmiştir. Uygulama süresi sona erdiğinde deney hayvanları ketamin/ksilazin ile bayıltılmış ve kalpten kan alınmasının ardından sakrifiye edilen sıçanlardan hipofiz, epifiz, karaciğer, adrenal bezler ve böbrekler dokulara zarar vermeden çıkartıldıktan sonra tartılmıştır. Hipofiz ve epifiz bezinin çok küçük olması sebebiyle, dokuya zarar vermemek için ağırlık ölçümü yapılmamıştır.

3.2.3. Besin ve Su Tüketimi

Çalışma süresince hayvanlara içme suyu ve standart pelet yemi *ad libitum* olarak verilmiştir. Günlük olarak yem ve su tüketimleri ölçülerek kaydedilmiştir.

3.2.4. Hormon ve Biyokimyasal Analizler

Hormon ve biyokimya analizlerinde diseksiyon esnasında sıçanların kalbinden toplanan kan kullanılmıştır. Elde edilen kan jelli vakumlu tüplere konulmuş daha sonra serum eldesi için +4°C'de 3000 rpm'de 30 dakika santrifüj (Eppendorf Centrifuge 5810R cihazında) edilmiştir. Santrifüj bittikten sonra jelin üzerinde kalan serum alınmış ve serumda ACTH, kortizol, melatonin ve glikoz değerlerine ELISA kitleri kullanılarak bakılmıştır. Analizler BIOTEK uQuant (ABD) spektrofotometre cihazında yapılmıştır.

3.2.5. Histopatolojik İncelemeler

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) 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. Fotoğraflama işlemi ise Pixera Pro 150 ES programı kullanılarak yapılmıştır.

3.2.6. Apoptotik Analizler

Apoptoz tayini, TUNEL (Terminal deoxynucleotidyl transferase dUTP nick end labeling) yöntemi kullanılarak yapılmıştır. TUNEL In Situ Apoptosis Kiti Elabscience firmasından temin edilmiştir. (Katalog No: E-CK-A331/Çin) kullanılarak yapılmıştır. Kesitler parafin bloklardan 4 mikron büyüklüğünde poly-l-lizin kaplı lamlara alınmıştır. Rutin deparafinizasyon ve rehidratasyon işlemlerinden geçirildikten sonra Proteinaz-K ile 37°C de 20 dakika inkübe edilmiştir. Endojen peroksidaz aktivitesi, %3 H₂O₂ ile 10 dk boyunca oda sıcaklığında bloklanmıştır. Ardından dokulara TdT (terminal deoksinükleotidil transferaz) Enzim, Biotin-dUTP (deoxyuridine-triphosphate) ve Equilibration Buffer karışım solüsyonu eklenerek 37°C'de 60 dk inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda dokulara Streptavidin-HRP (Horse Radish Peroxidase) eklenerek 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir. Kromojen olarak DAB kullanılmıştır. DAB dokulara eklenerek 3 dakika oda sıcaklığında tutulmuştur ve hematoksilin&eoziin ile zıt boyama yapılmıştır. Preparatlar Olympus BX51 (Almanya) ışık mikroskobu altında incelenerek, Pixera Pro 150 ES p Programı ile fotoğraflanmıştır.

3.3. İstatistiksel Değerlendirmeler

Deney sonunda elde edilen veriler SPSS IBM-23 programında analiz edilmiştir. 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 testi uygulanmıştır. Welch için ise post-hoc olarak Games-Howell testi kullanılmıştır. Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$ olarak belirlenmiştir.

4. SONUÇLAR

Sunulan tez çalışmasında yapılan analizler 4 temel başlıkta özetlenmiştir bu kapsamda incelenen başlıklar:

- 1) Vücut Ağırlığı, Organ ve Rölatif Organ Ağırlıkları;
- 2) Biyokimya Analiz Sonuçları
- 3) Histopatolojik Bulgular ve
- 4) Apoptotik Analizler

4.1. Vücut Ağırlığı, Organ ve Rölatif Organ Ağırlıkları

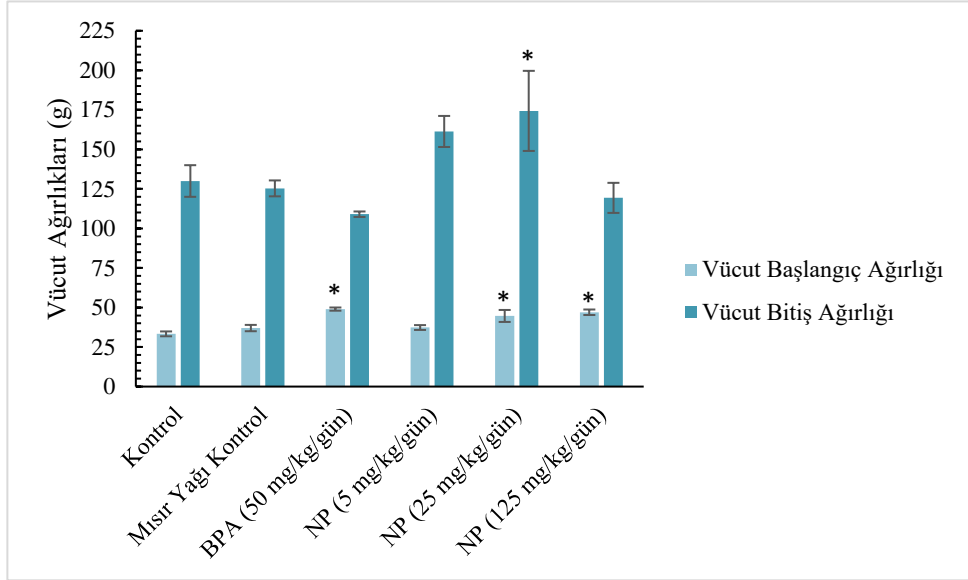
Vücut başlangıç ağırlıkları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında BPA (50 mg/kg/gün), 25 ve 125 mg/kg/gün doz gruplarında istatistiksel olarak artış tespit edilmiştir (Şekil 4.1). Vücut bitiş ağırlıkları kontrol grubuyla karşılaştırıldığında ise 25 mg/kg/gün doz grubunda istatistiksel olarak anlamlı derecede artışın olduğu saptanmıştır (Şekil 4.1). Başlangıç ağırlıkları arasında istatistiksel olarak fark bulunması sebebiyle vücut ağırlıklarındaki değişikliklerin doğru yorumlanabilmesi için % vücut ağırlık artışı hesaplanmıştır. % vücut ağırlık artışı sonuçları karşılaştırıldığında BPA (50 mg/kg/gün) ve 125 mg/kg/gün doz gruplarındaki ağırlık artışının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı tespit edilmiştir (Şekil 4.2.). Vücut bitiş ağırlıkları ise kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 25 mg/kg/gün doz uygulama grubunda istatistiksel olarak artış tespit edilmiştir.

Adrenal bez ağırlıkları incelendiğinde kontrol grubuna göre 25 ve 125 mg/kg/gün doz gruplarında hafif bir artış görülse de bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.3.). Ek olarak hem vücut ağırlığı hem de beyin ağırlığına göre hesaplanan rölatif adrenal bez ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4.4. ve Şekil 4.5.).

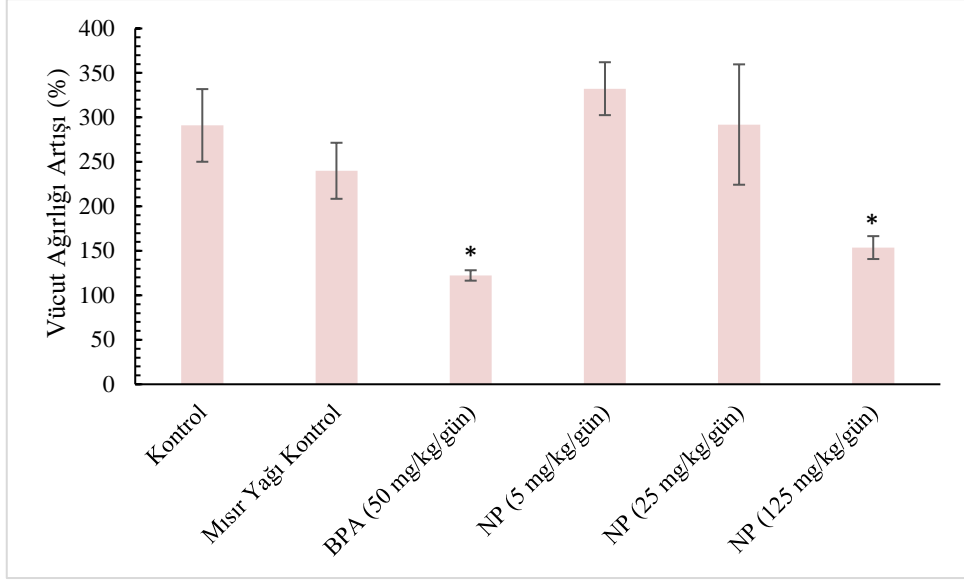
Gerçek ve rölatif beyin ağırlıkları incelendiğinde 25 mg/kg/gün doz grubunun kontrol grubuna göre istatistiksel olarak artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.6. ve Şekil 4.7.).

Karaciğer ağırlıkları incelendiğinde 5 ve 25 mg/kg/gün doz gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak artış olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.8.). Vücut ağırlığına göre

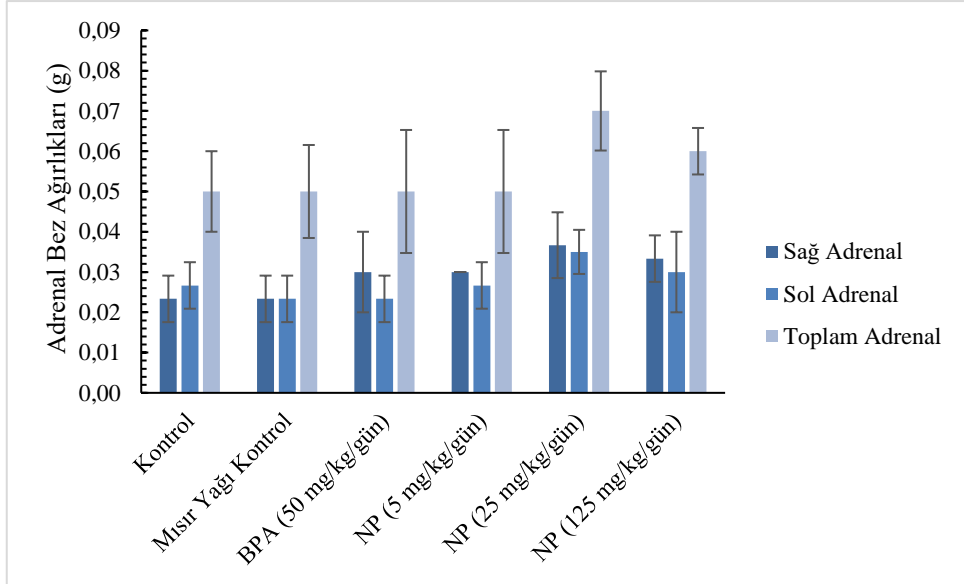
hesaplanan rölatif karaciğer ağırlıkları 25 ve 125 mg/kg/gün, beyin ağırlığına göre hesaplanan rölatif karaciğer ağırlıklarının ise 5 mg/kg/gün doz gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.9.).



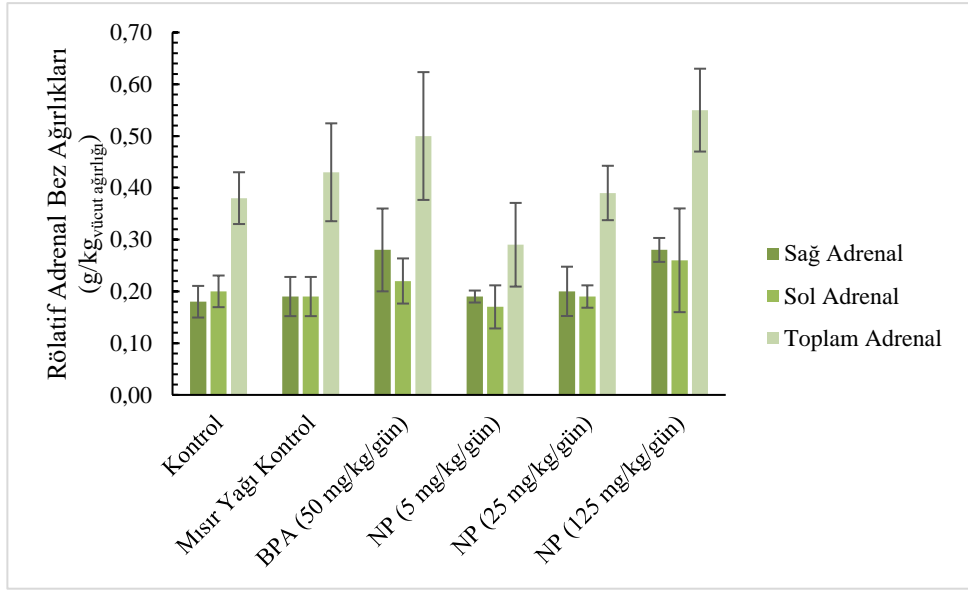
Şekil 4.1. Kontrol ve uygulama gruplarına ait vücut başlangıç ve bitiş ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



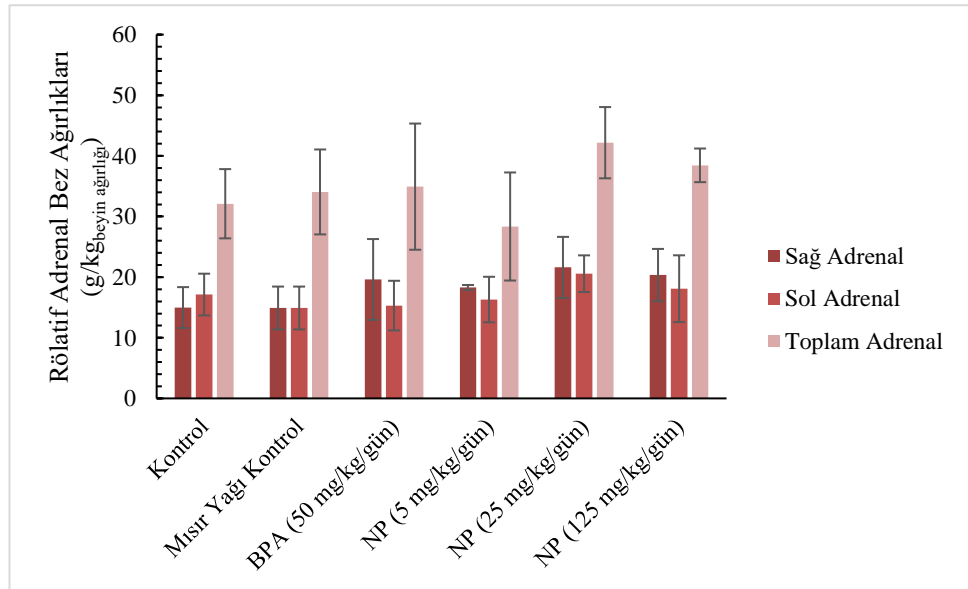
Şekil 4.2. Kontrol ve uygulama gruplarına ait vücut ağırlık artışı (%). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



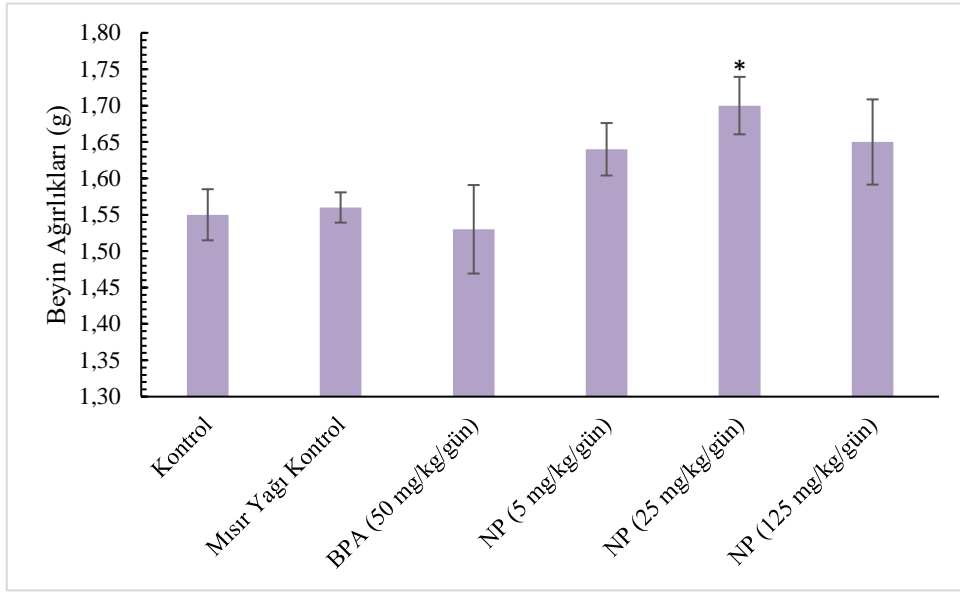
Şekil 4.3. Kontrol ve uygulama gruplarına ait adrenal bez ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan, istatistiksel olarak farklı (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



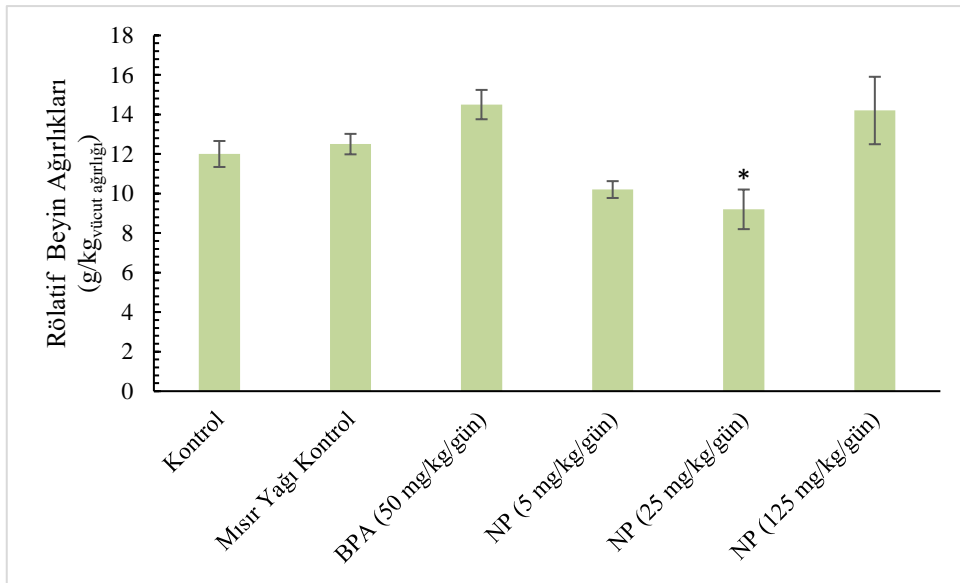
Şekil 4.4. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif adrenal bez ağırlıkları (g/kg_{vücut ağırlığı}). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



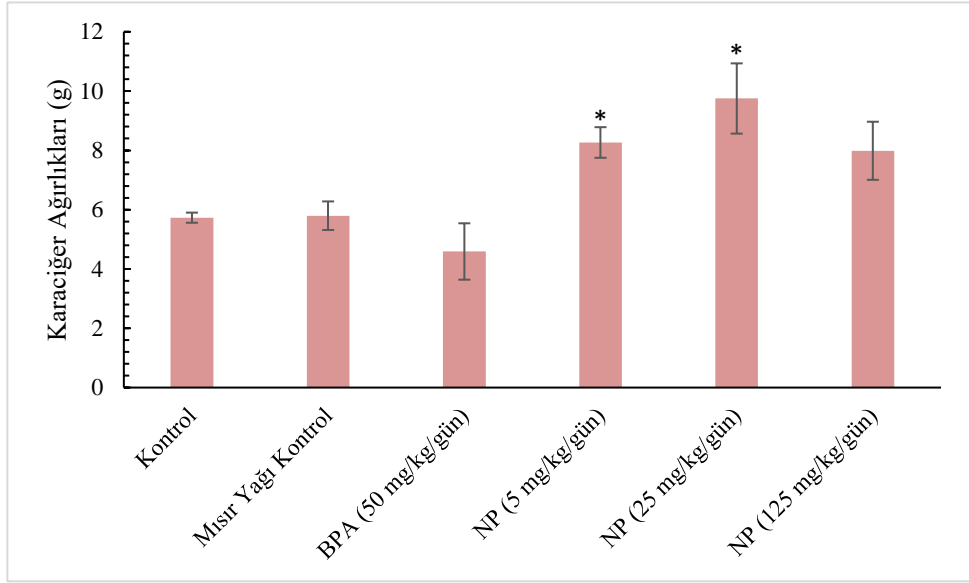
Şekil 4.5. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif adrenal bez ağırlıkları (g/kg_{beyin ağırlığı}). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



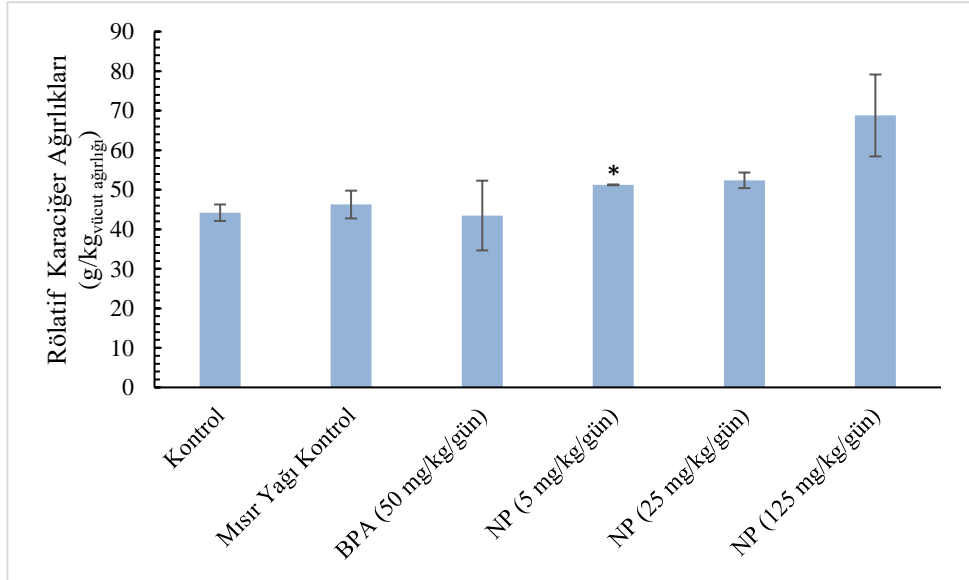
Şekil 4.6. Kontrol ve uygulama gruplarına ait beyin ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



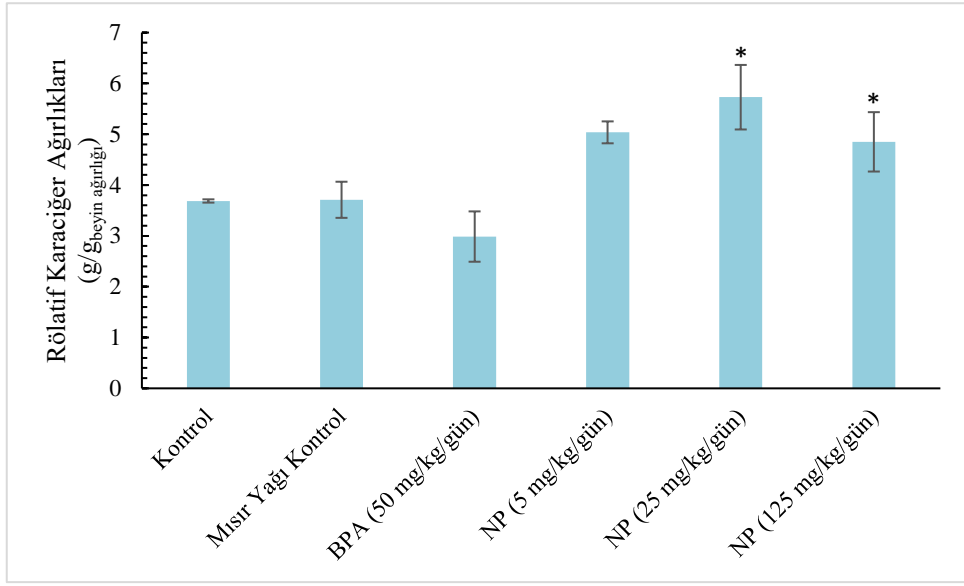
Şekil 4.7. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif beyin ağırlıkları (g/kg_{vücut} ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



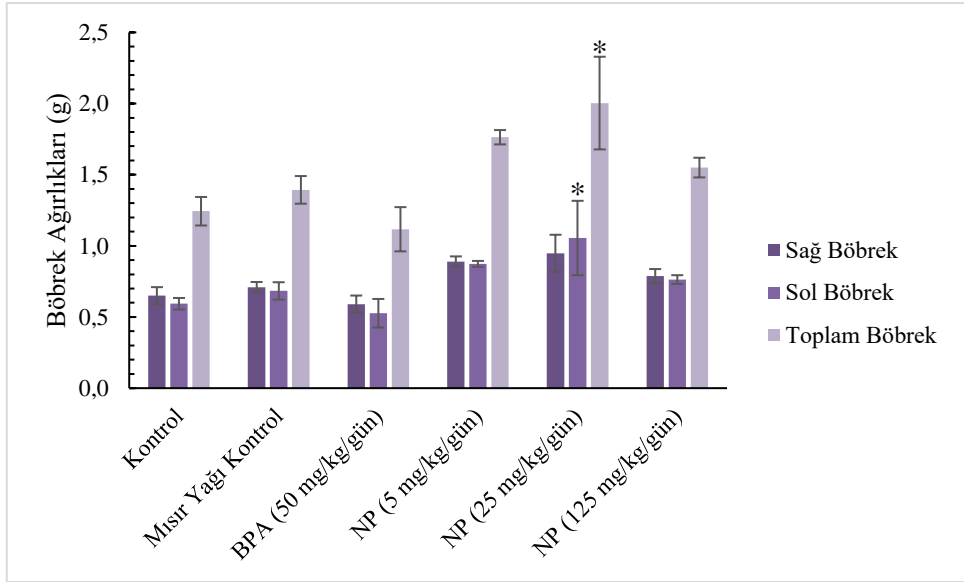
Şekil 4.8. Kontrol ve uygulama gruplarına ait karaciğer ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.9. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif karaciğer ağırlıkları (g/kg_{vücut} ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

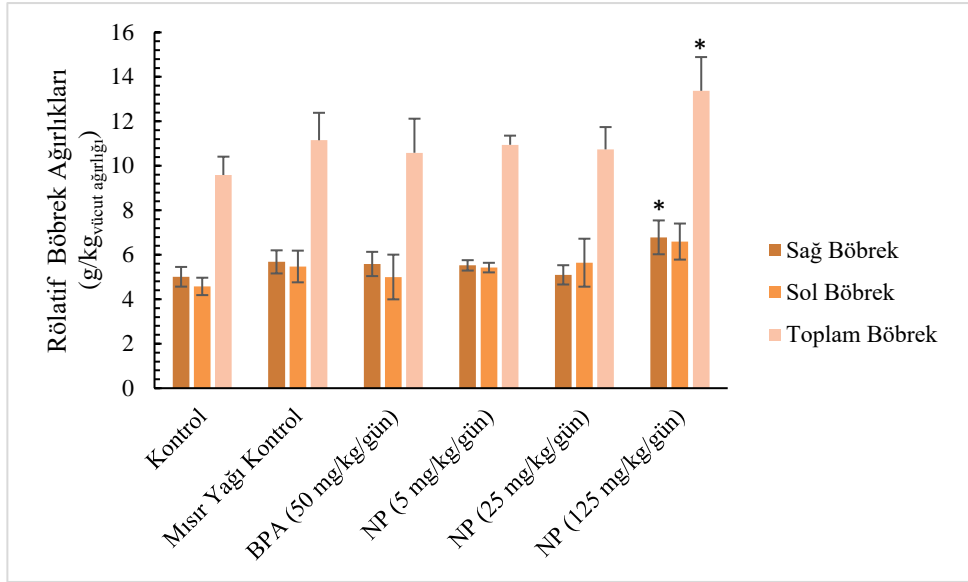


Şekil 4.10. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif karaciğer ağırlıkları (g/kg_{beyin ağırlığı}). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

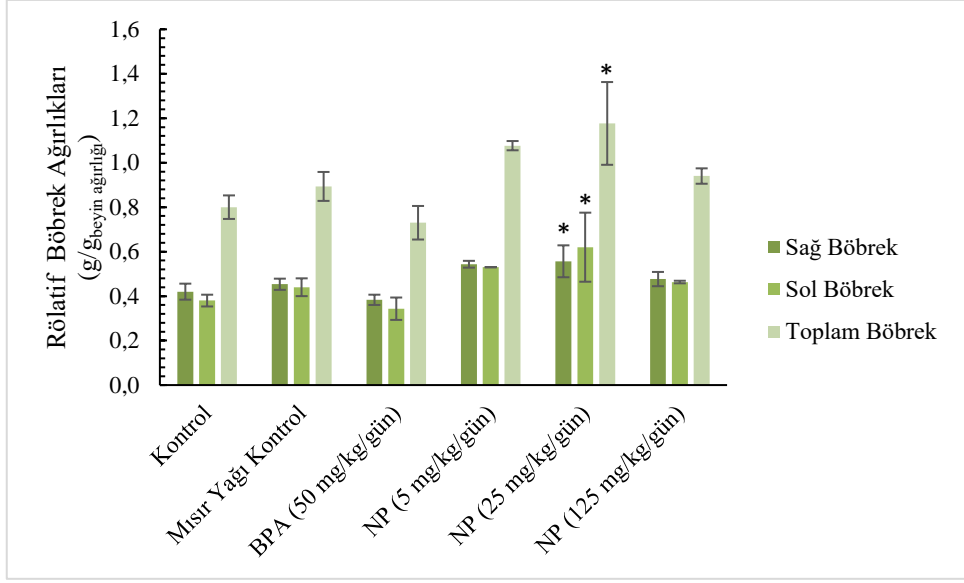


Şekil 4.11. Kontrol ve uygulama gruplarına ait böbrek ağırlıkları (g). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

Böbrek organ ağırlıkları incelendiğinde kontrol gruplarına göre 25mg/kg/gün uygulama grubunda sol böbrek ağırlığında ve yine aynı grupta toplam böbrek ağırlığında artış tespit edilmiştir (Şekil 4.11). Rölatif böbrek ağırlığı verilerine bakıldığında kontrol gruplarına göre 125mg/kg/gün uygulama grubunda rölatif sağ böbrek ağırlığında ve yine aynı grupta toplam böbrek ağırlığında istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir (Şekil 4.12). Rölatif böbrek ağırlığı beyin dokusuna oranlanarak değerlendirildiğinde 25mg/kg/gün uygulama grubunda sol ve sağ böbrek ağırlığı ile toplam böbrek ağırlığında istatistiksel olarak artışın olduğu tespit edilmiştir (Şekil 4.13).



Şekil 4.12. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif böbrek ağırlıkları (g/kg_{vücut ağırlığı}). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.13. Kontrol ve uygulama gruplarına ait rölatif böbrek ağırlıkları (g/gbeyin ağırlığı). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

Çizelge 4.1. Yağ kontrol, pozitif kontrol ve nonilfenol uygulama gruplarındaki sıçanların vücut ve gerçek-rölatif organ ağırlıkları.

	Kontrol			Nonilfenol		
	Kontrol	Mısır Yağı Kontrol	BPA (50 mg/kg/gün)	5 mg/kg/gün	25 mg/kg/gün	125 mg/kg/gün
Başlangıç Vücut Ağırlığı (g)	33 ± 2	37 ± 2	49 ± 1*	37 ± 2	45 ± 4*	47 ± 2*
Bitiş Vücut Ağırlığı (g)	130 ± 10	125 ± 5	109 ± 2	161 ± 10	174 ± 25*	119 ± 10
Vücut Ağırlığı Artışı (%)	291 ± 41	240 ± 32	122 ± 6*	332 ± 30	292 ± 68	154 ± 13*
Toplam Adrenal Bez Ağırlıkları (g)	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,01	0,05 ± 0,02	0,07 ± 0,01	0,06 ± 0,01
Rölatif Toplam Adrenal Bez Ağırlıkları (g/kg_{vücut} ağırlığı)	0,38 ± 0,05	0,43 ± 0,09	0,5 ± 0,12	0,29 ± 0,08	0,39 ± 0,05	0,55 ± 0,08
Rölatif Toplam Adrenal Bez Ağırlıkları (g/g_{beyin})	0,03 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,04 ± 0,01	0,03 ± 0,01	0,04 ± 5,87	0,04 ± 0
Beyin Ağırlıkları (g)	1,55 ± 0,04	1,56 ± 0,02	1,53 ± 0,06	1,64 ± 0,04	1,7 ± 0,04*	1,65 ± 0,06
Rölatif Beyin Ağırlıkları (g/kg_{vücut} ağırlığı)	12 ± 0,66	12,5 ± 0,52	14,5 ± 0,74	10,2 ± 0,43	9,2 ± 1,0*	14,2 ± 1,71
Karaciğer Ağırlıkları (g)	5,73 ± 0,17	5,8 ± 0,48	4,59 ± 0,95	8,27 ± 0,52*	9,75 ± 1,19*	7,99 ± 0,98
Rölatif Karaciğer Ağırlıkları (g/kg_{vücut} ağırlığı)	44,18 ± 2,09	46,26 ± 3,51	43,47 ± 8,82	51,24 ± 0,1	52,38 ± 1,97*	68,79 ± 10,36
Rölatif Karaciğer Ağırlıkları (g/g_{beyin})	3,69 ± 0,03	3,71 ± 0,36	2,99 ± 0,5	5,04 ± 0,22*	5,73 ± 0,63*	4,85 ± 0,58
Böbrek Ağırlıkları (g)	1,24 ± 0,10	1,39 ± 0,10	1,12 ± 0,16	1,76 ± 0,05	2 ± 0,33*	1,55 ± 0,07
Rölatif Böbrek Ağırlıkları (g/kg_{vücut} ağırlığı)	9,59 ± 0,83	11,15 ± 1,23	10,59 ± 1,53	10,95 ± 0,41	10,74 ± 1,00	13,37 ± 1,52*
Rölatif Böbrek Ağırlıkları (g/g_{beyin})	0,8 ± 0,05	0,89 ± 0,07	0,73 ± 0,08	1,08 ± 0,02	1,18 ± 0,19*	0,94 ± 0,03

Değerler ortalama ± standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan, istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

4.2. Biyokimya Analiz Sonuçları

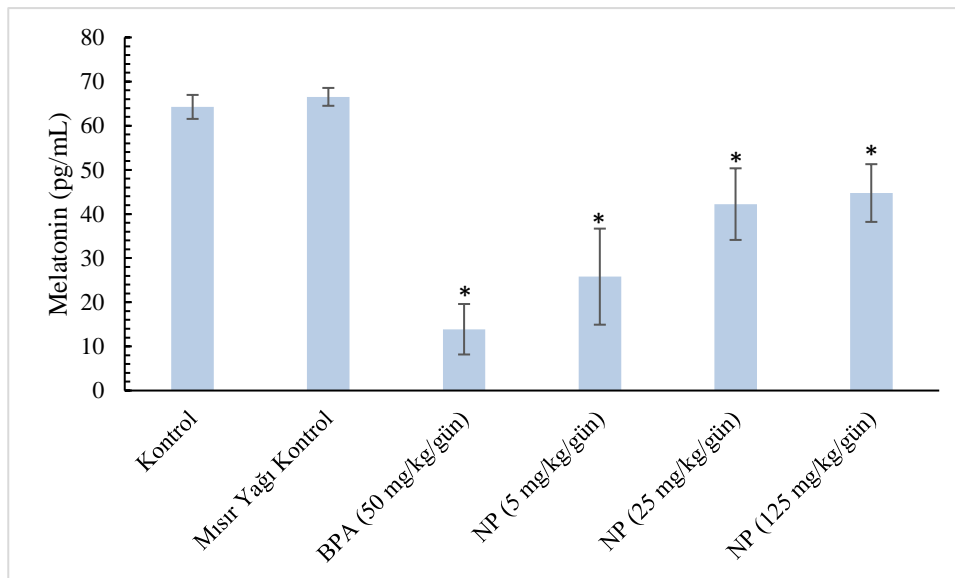
Melatonin değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında BPA (50 mg/kg/gün), 5 mg/kg/gün, 25 mg/kg/gün ve 125 mg/kg/gün doz gruplarında serum melatonin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalma tüm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.14.).

Serum ACTH miktarının BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda arttığı ve bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edilmiştir. ACTH miktarının 5 mg/kg/gün, 25 mg/kg/gün ve 125 mg/kg/gün doz gruplarında ise azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalma 5 mg/kg/gün ve 25 mg/kg/gün doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Şekil 4.15).

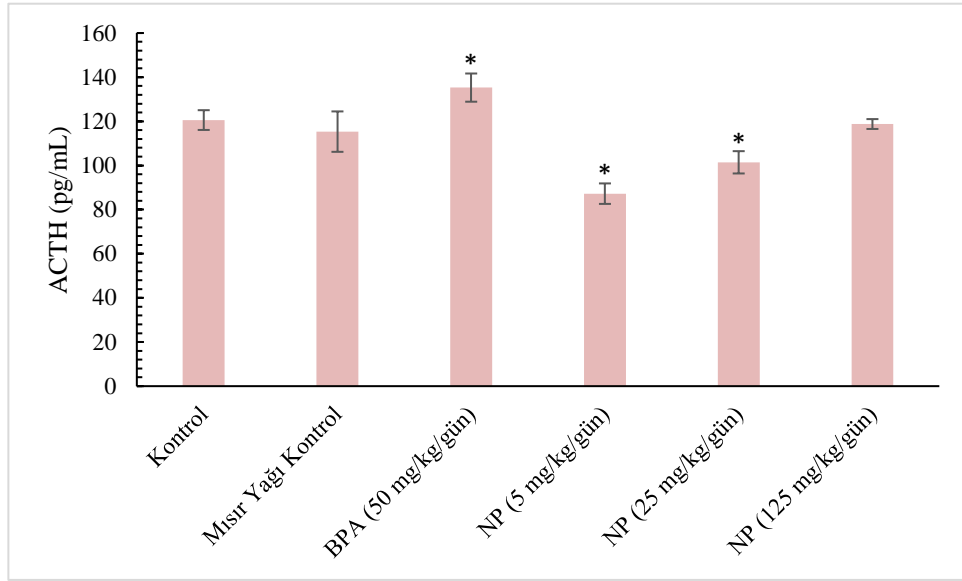
Serum aldosteron miktarı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında BPA (50 mg/kg/gün), 5 mg/kg/gün ve 25 mg/kg/gün doz gruplarında anlamlı olarak arttığı tespit edilmiştir (Şekil 4.16.).

Serum kortikosteron miktarı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında 125 mg/kg/gün doz uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış tespit edilmiştir (Şekil 4.17.).

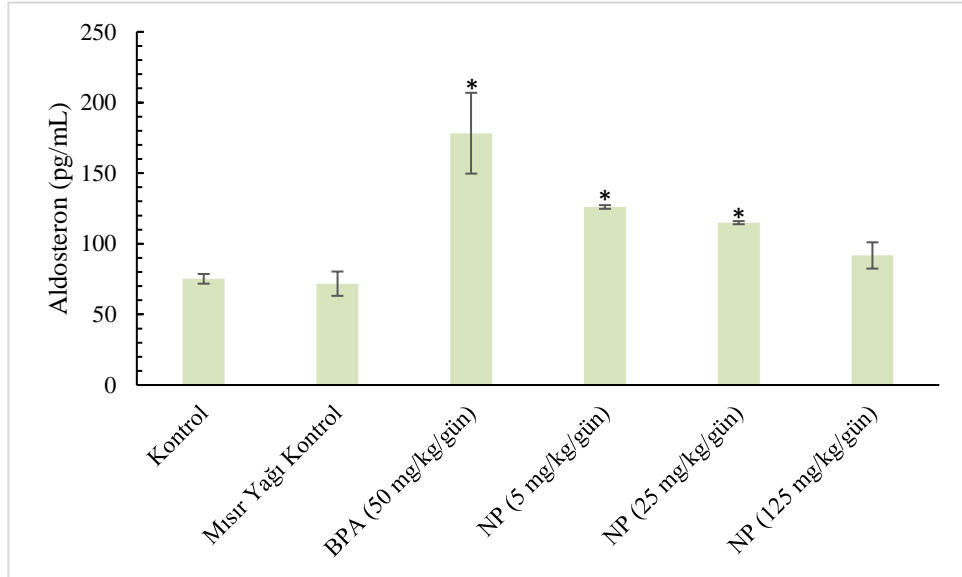
Serum glikoz miktarı kontrol grupları ile karşılaştırıldığında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilmemiştir (Şekil 4.18.).



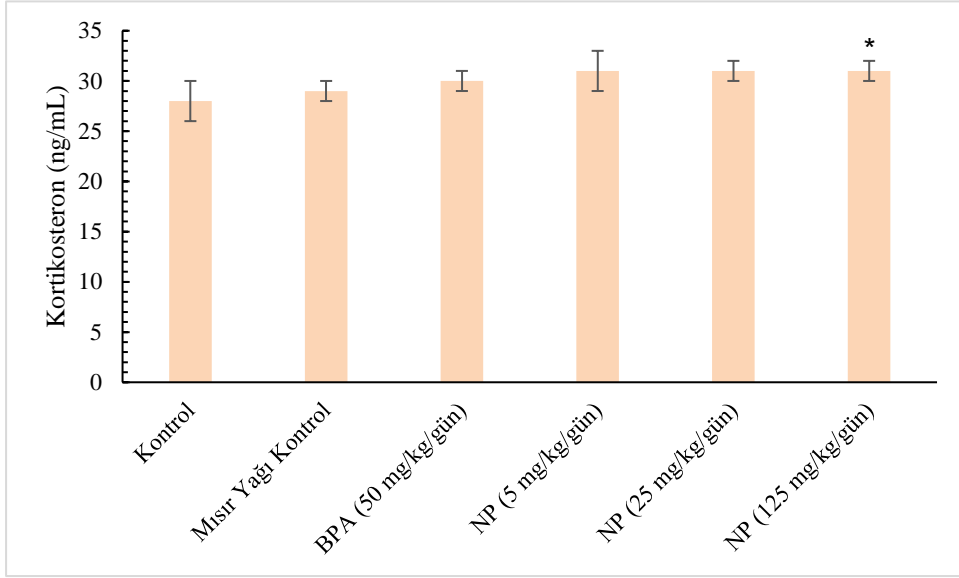
Şekil 4.14. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum melatonin değerleri (pg/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



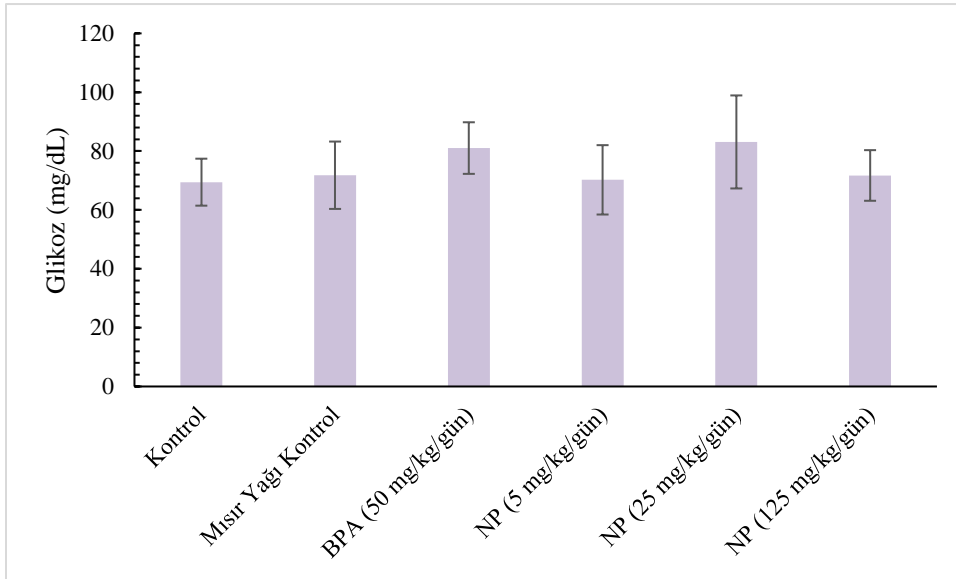
Şekil 4.15. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum ACTH değerleri (pg/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.16. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum aldosteron değerleri (pg/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).



Şekil 4.17. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum kortikosteron değerleri (ng/mL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir. *kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı, (Önemlilik düzeyi $p \leq 0,05$).

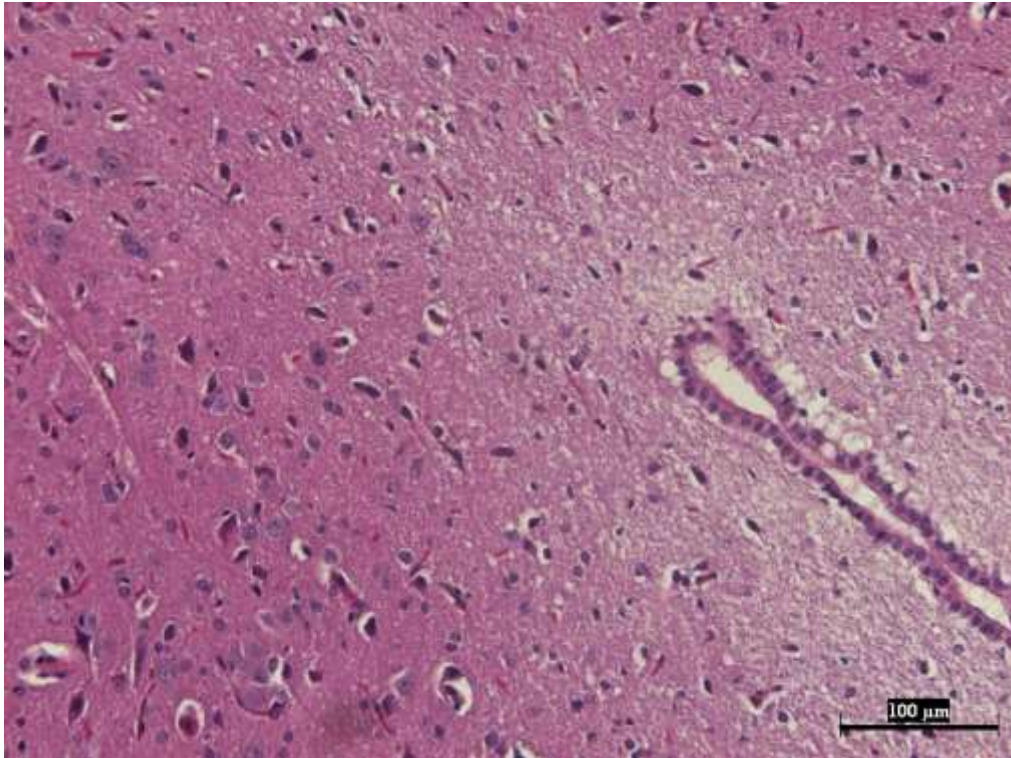


Şekil 4.18. Kontrol ve uygulama gruplarına ait serum glikoz değerleri (mg/dL). Değerler ortalama \pm standart sapma şeklinde verilmiştir.

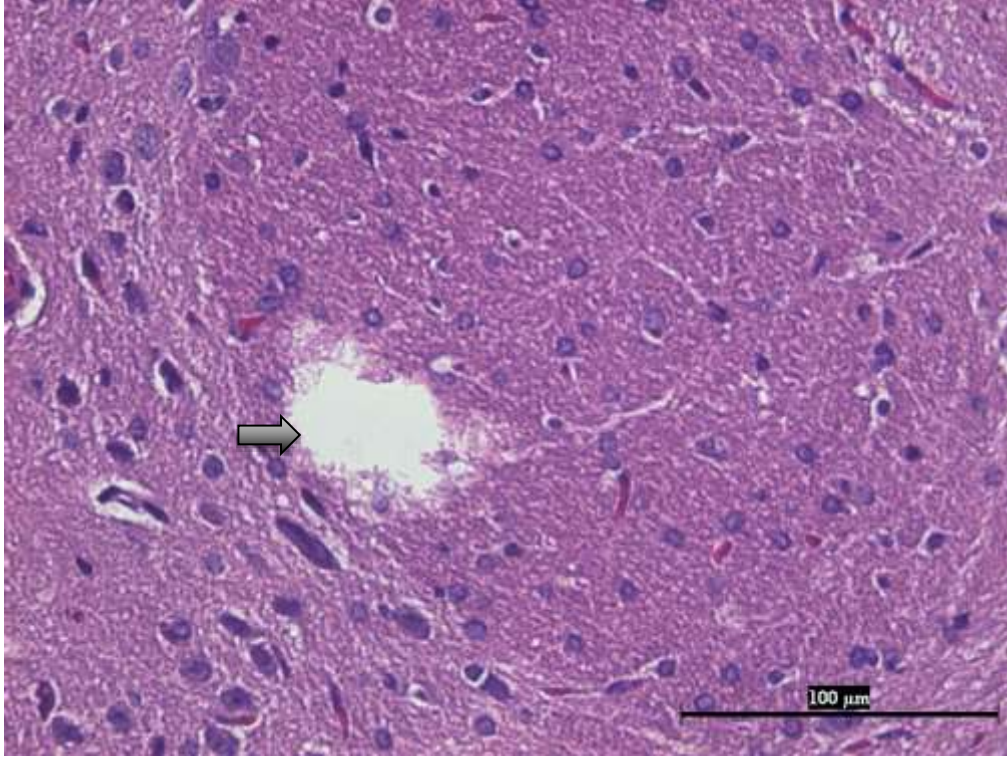
4.3. Histopatolojik Bulgular

4.3.1. Hipotalamusa Ait Bulgular

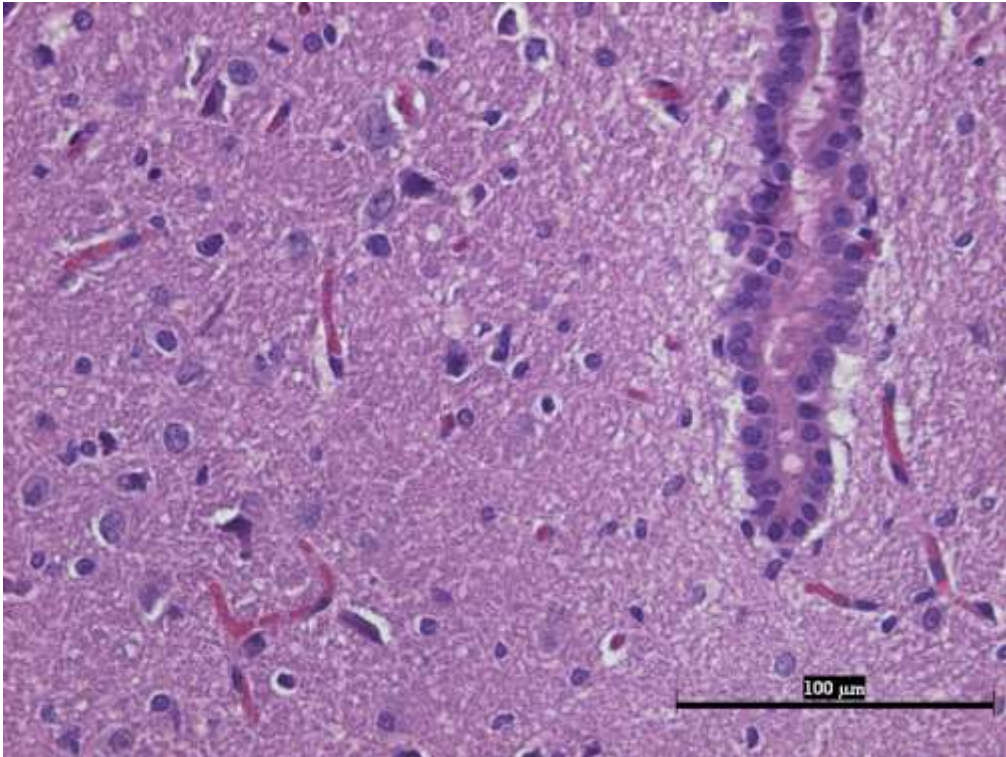
Kontrol grubu hipotalamus dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.19’da verilmiştir. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait hipotalamus dokusunda dejenerasyon (Şekil 4.20.), 25 mg/kg/gün (Şekil 4.22.) ve 125 mg/kg/gün (Şekil 4.23.) nonilfenol uygulama gruplarında dejenerasyon saptanmıştır. 5 mg/kg/gün uygulama grubunda ise herhangi bir bulgu gözlenmemiştir (Şekil 4.21.).



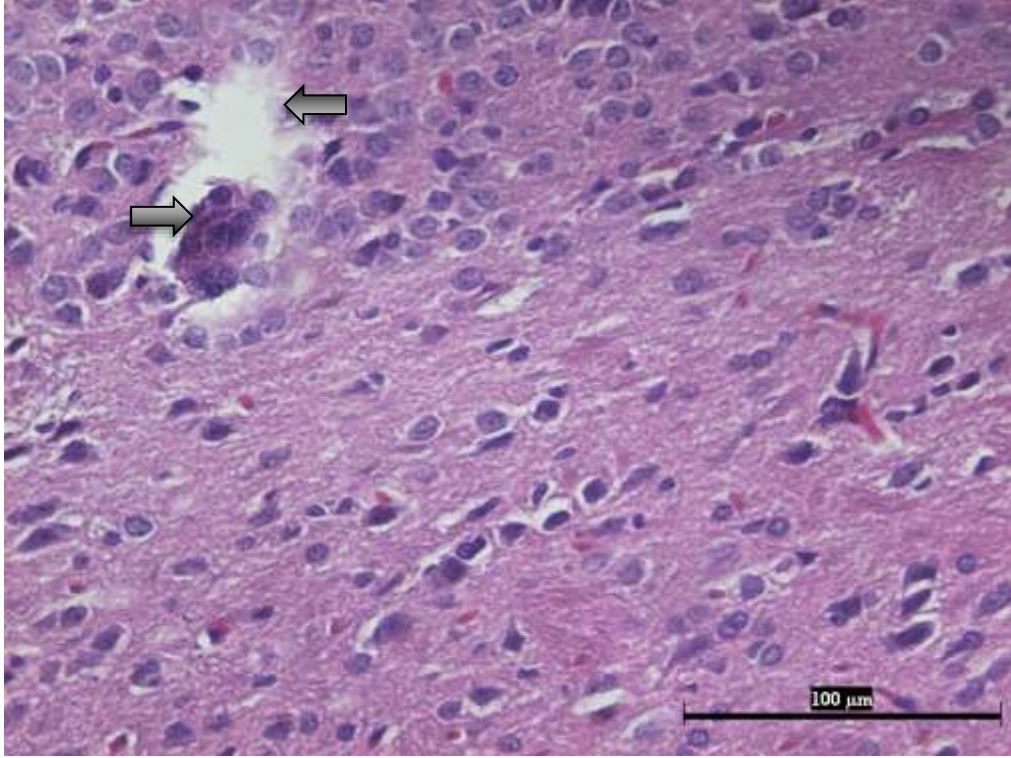
Şekil 4.19. Yağ kontrol grubuna ait hipotalamus dokusunun genel görünümü, (H&E boyama, 200X).



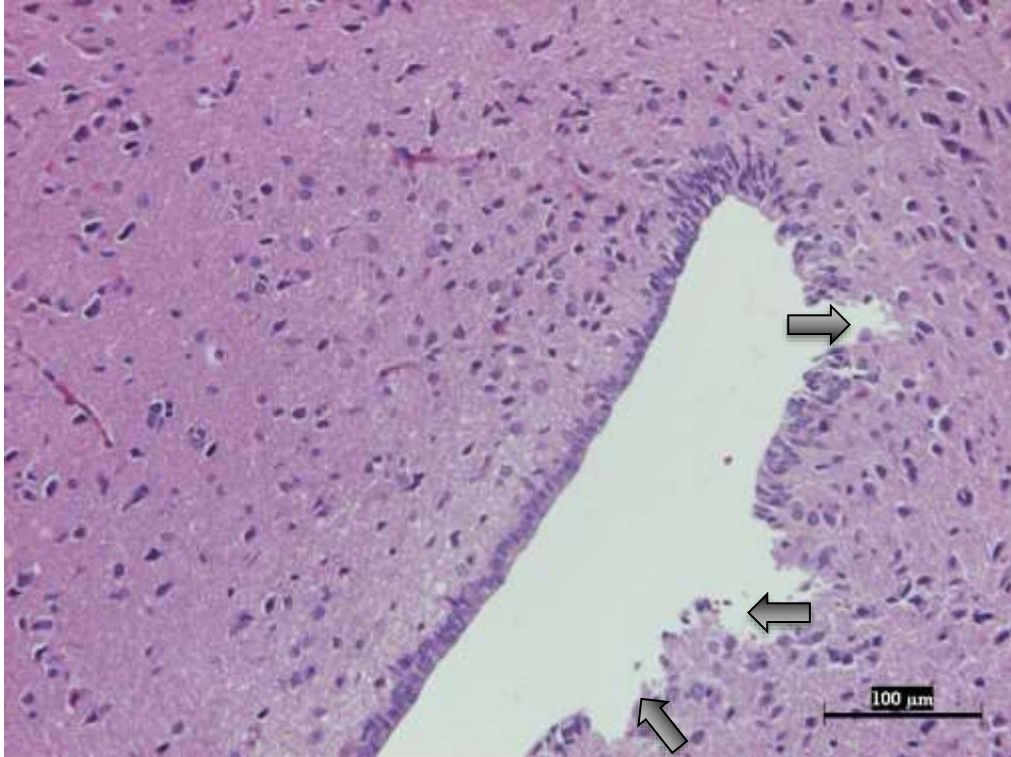
Şekil 4.20. BPA 50 mg/kg/gün pozitif kontrol grubuna ait hipotalamus dokusunda dejenerasyon (→), (H&E boyama, 400X).



Şekil 4.21. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipotalamus dokusu, (H&E boyama, 400X).



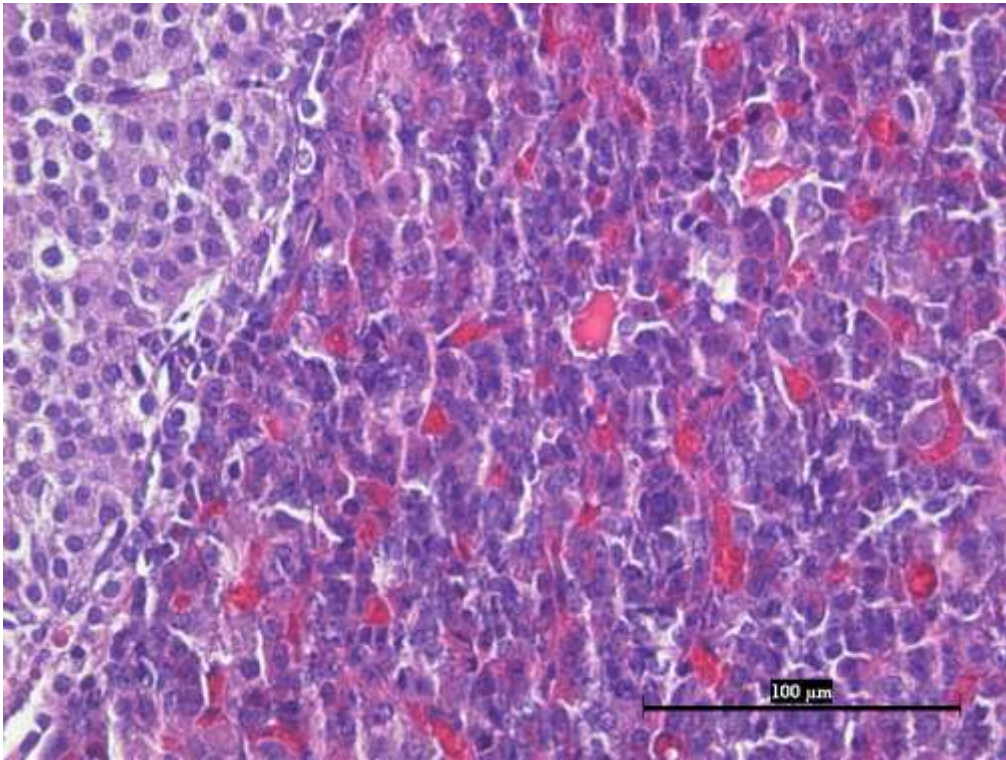
Şekil 4.22. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipotalamus dokusunda dejenerasyon ile beraber birbirine yapışmış hücreler (⇨⇨), (H&E boyama, 400X).



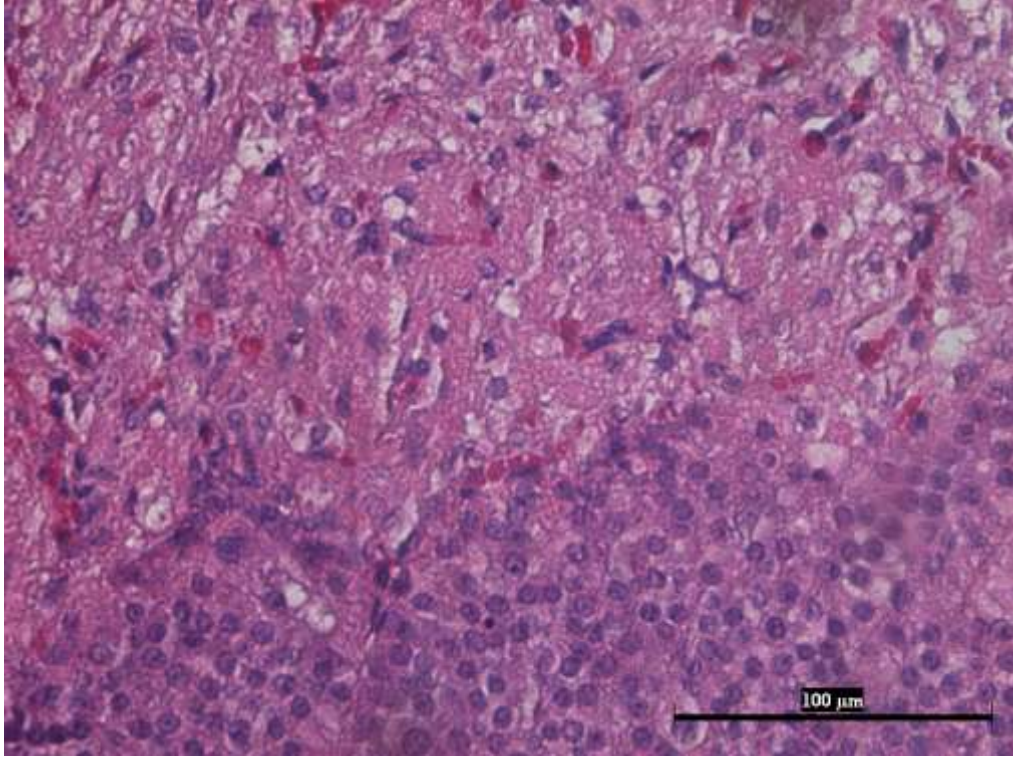
Şekil 4.23. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipotalamus dokusunda dejenerasyon (⇨), (H&E boyama, 200X).

4.3.2. Hipofiz Bezine Ait Bulgular

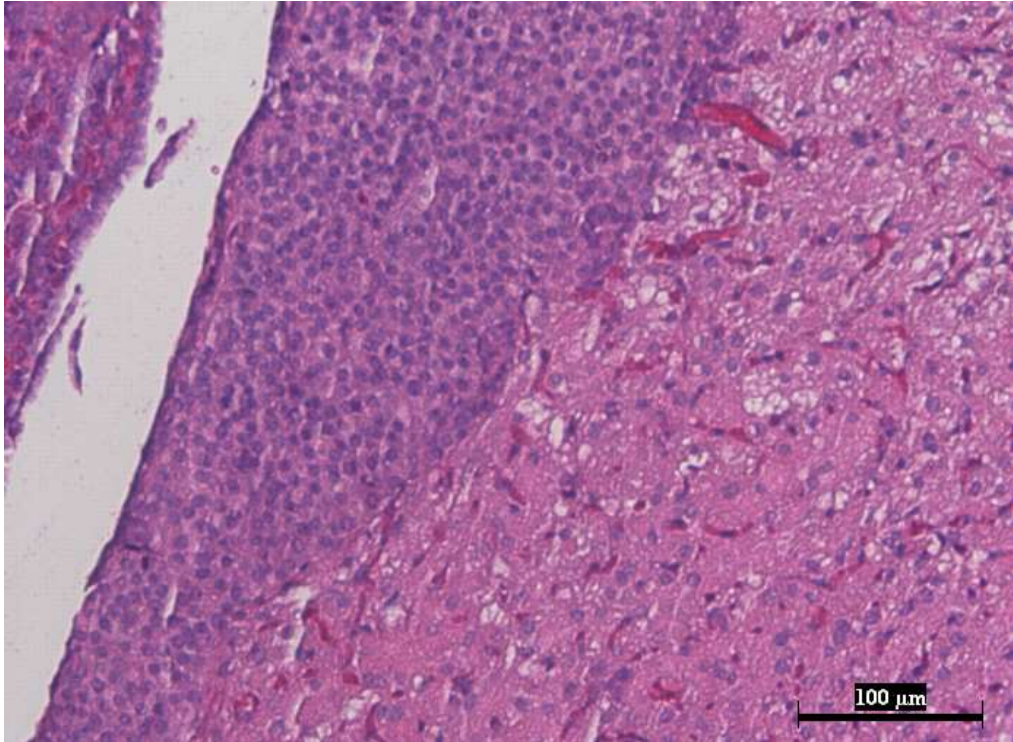
Kontrol grubu hipofiz bezinin adenohipofiz bölgesinin histolojik görünümü Şekil 4.24, 4.25. ve 4.26.'da verilmiştir. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait hipofiz dokusunda dejenerasyon (Şekil 4.27.), 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipofiz dokusunda ödem (Şekil 4.29.) ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipofiz dokusunda dejenerasyon (Şekil 4.30) saptanmıştır. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipofiz dokusunda patolojik herhangi bir bulguya rastlanmamıştır (Şekil 4.28).



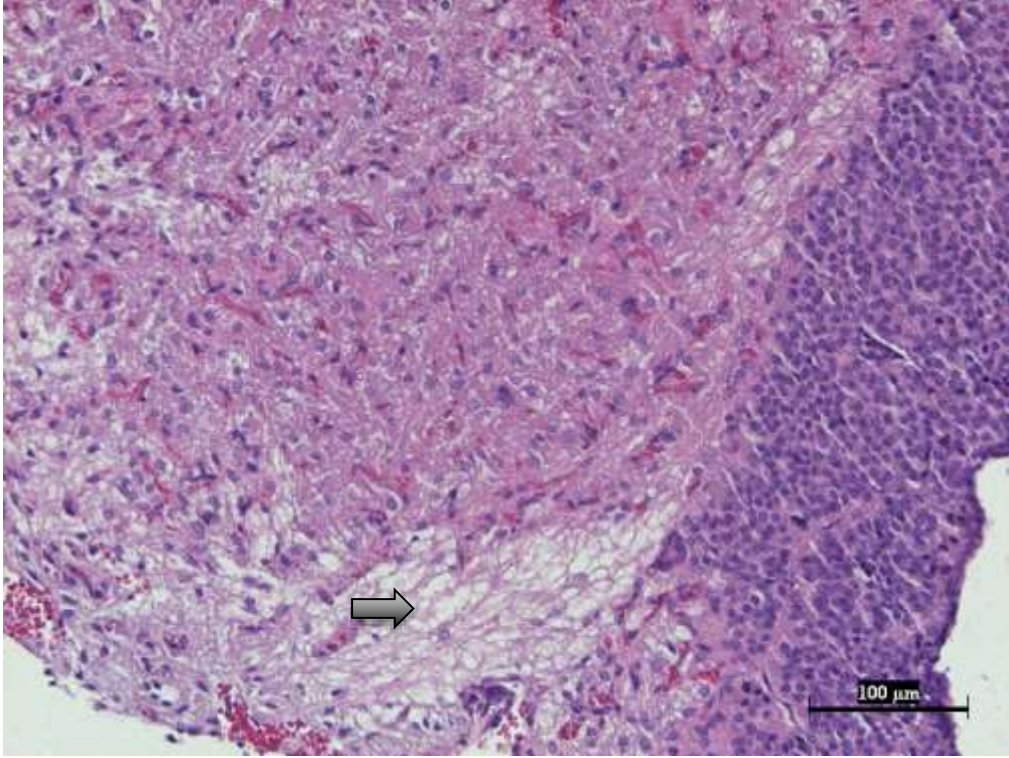
Şekil 4.24. Yağ kontrol grubuna ait adenohipofiz dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 400X).



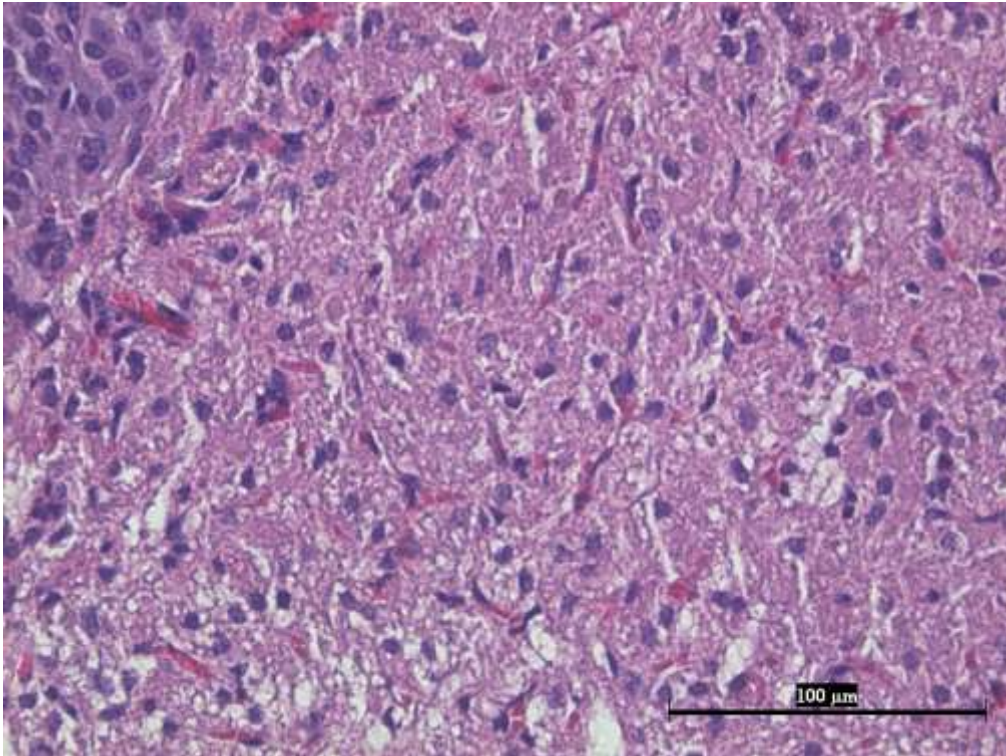
Şekil 4.25. Yağ kontrol grubuna ait nörohipofiz dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 400X).



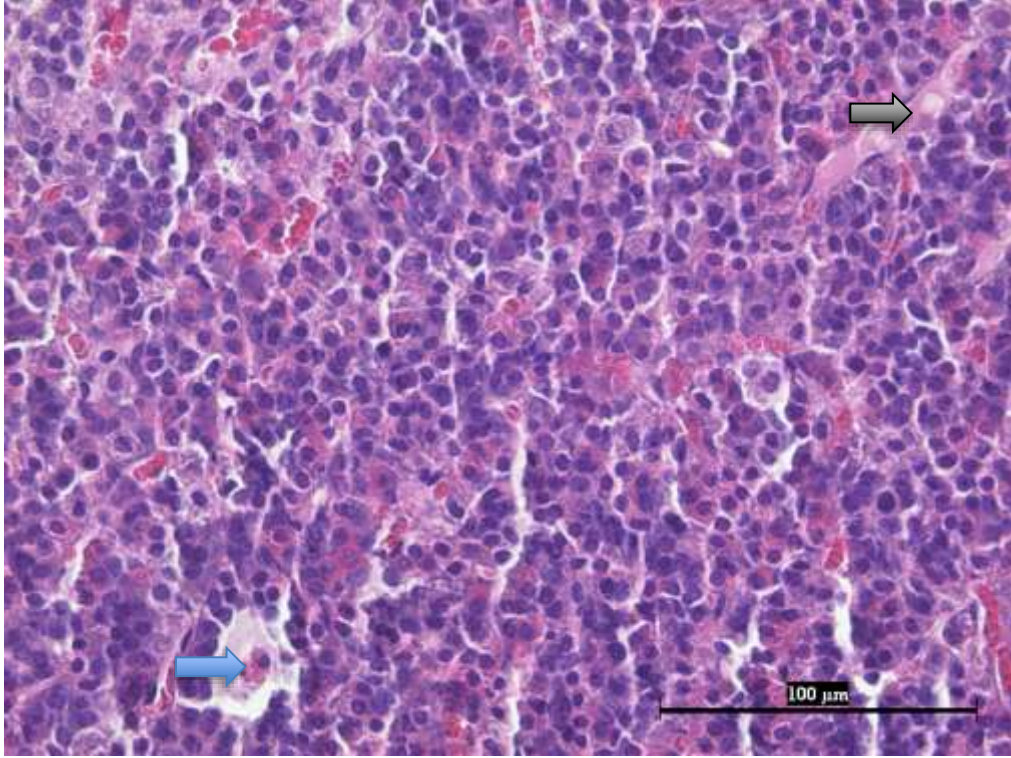
Şekil 4.26. Yağ kontrol grubuna ait nörohipofiz dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.27. BPA 50 mg/kg/gün pozitif kontrol grubuna ait nörohipofiz dokusunda hücresel dejenerasyon (→), (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.28. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait nörohipofiz dokusu (H&E boyama, 400X).



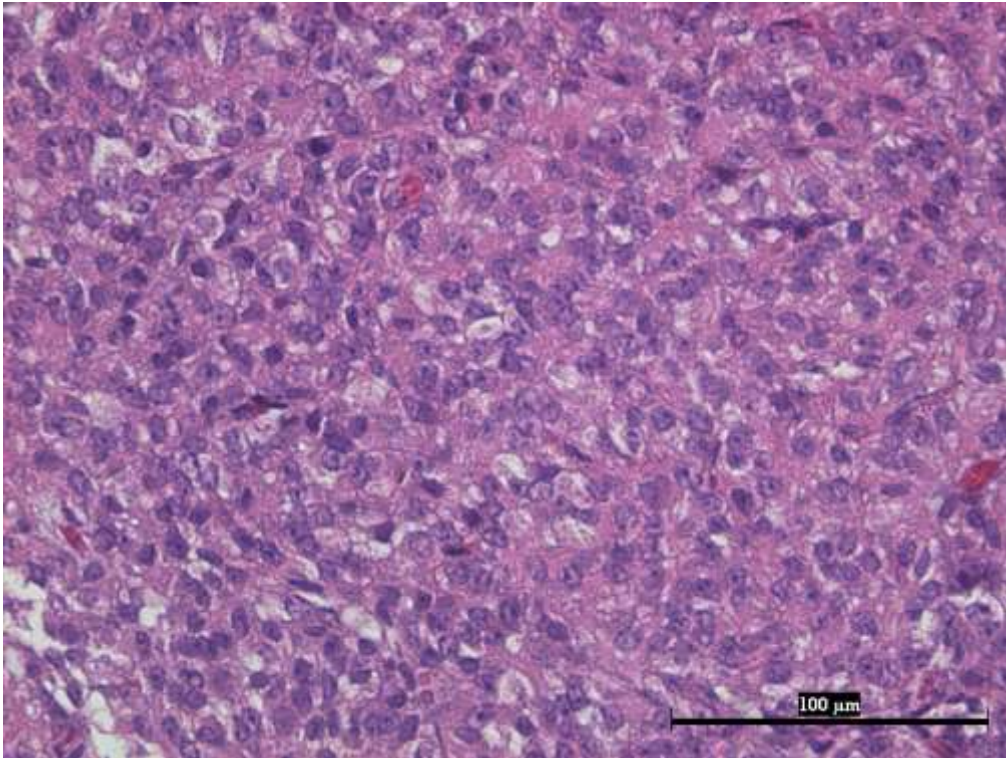
Şekil 4.29. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait hipofizin adenohipofiz bölgesinde ödem (→)ve dejenerasyon (→) (H&E boyama, 400X).



Şekil 4.30. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait nörohipofiz dokusunda dejenerasyon (→), (H&E boyama, 400X).

4.3.3. Epifiz Bezine Ait Bulgular

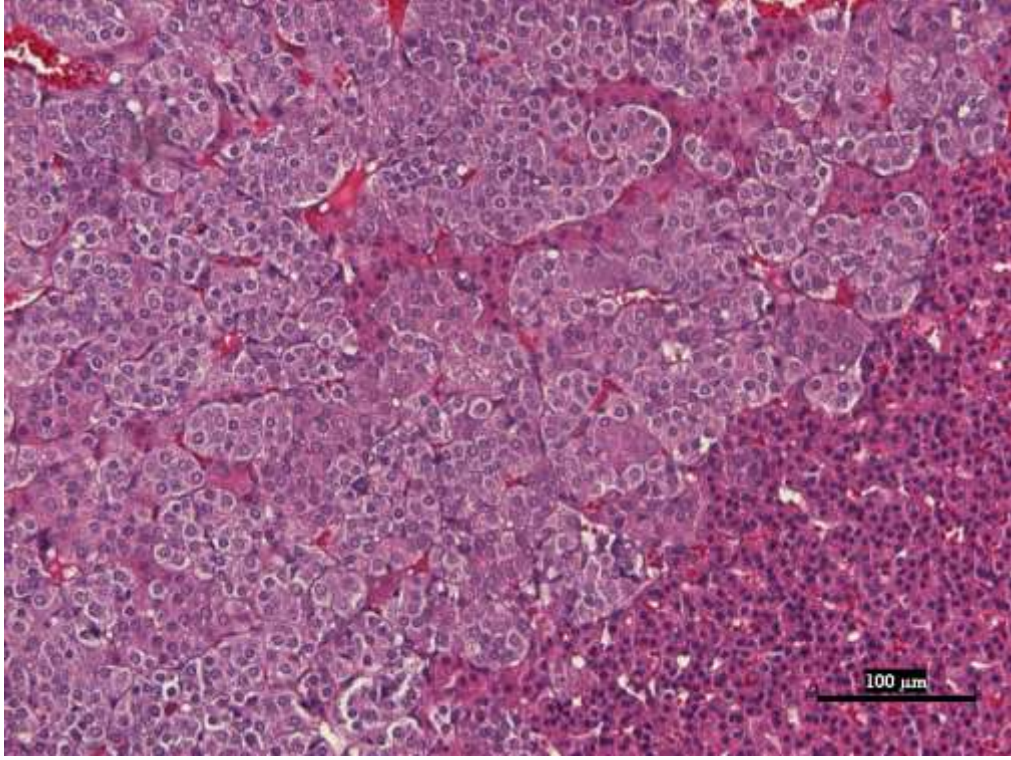
Kontrol grubu epifiz dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.31’de verilmiştir. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait epifiz dokusunda, 5 mg/kg/gün uygulama grubuna ait epifiz dokusunda, 25 mg/kg/gün uygulama grubuna ait epifiz dokusunda ve 125 mg/kg/gün uygulama grubuna ait epifiz dokusunda herhangi bir bulgu saptanmamıştır.



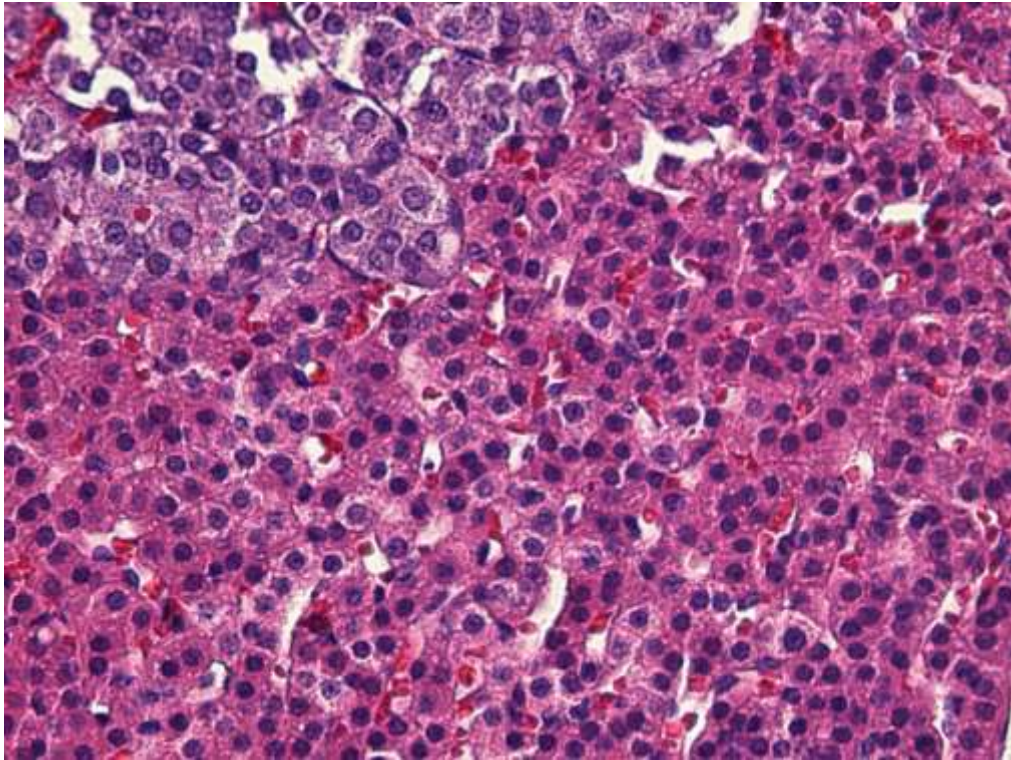
Şekil 4.31. Yağ kontrol grubuna ait epifiz dokusu (H&E boyama, 400X).

4.3.4. Adrenal Beze Ait Bulgular

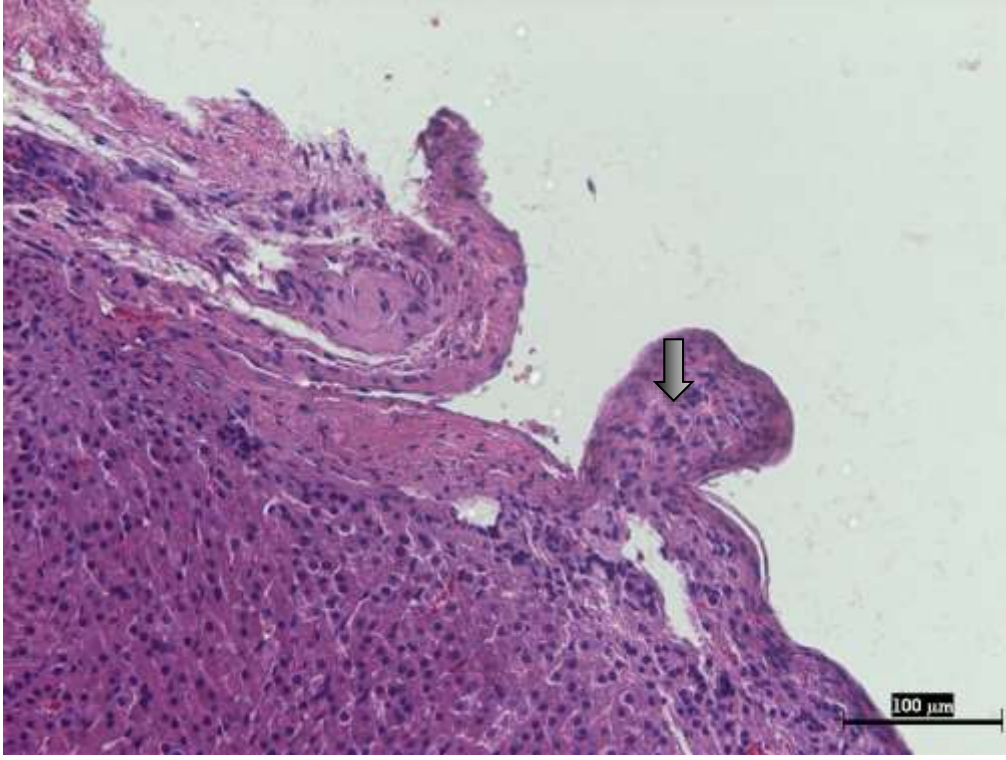
Kontrol grubu adrenal dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.32. ve 4.33.’de verilmiştir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda kortikal nodül (Şekil 4.34), 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda adrenal dokusunda dejenerasyon (Şekil 4.35.), 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda konjesyon ve ödem Şekil (4.36.), 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda ise konjesyon ve dejenerasyon tespit edilmiştir (Şekil 4.37.).



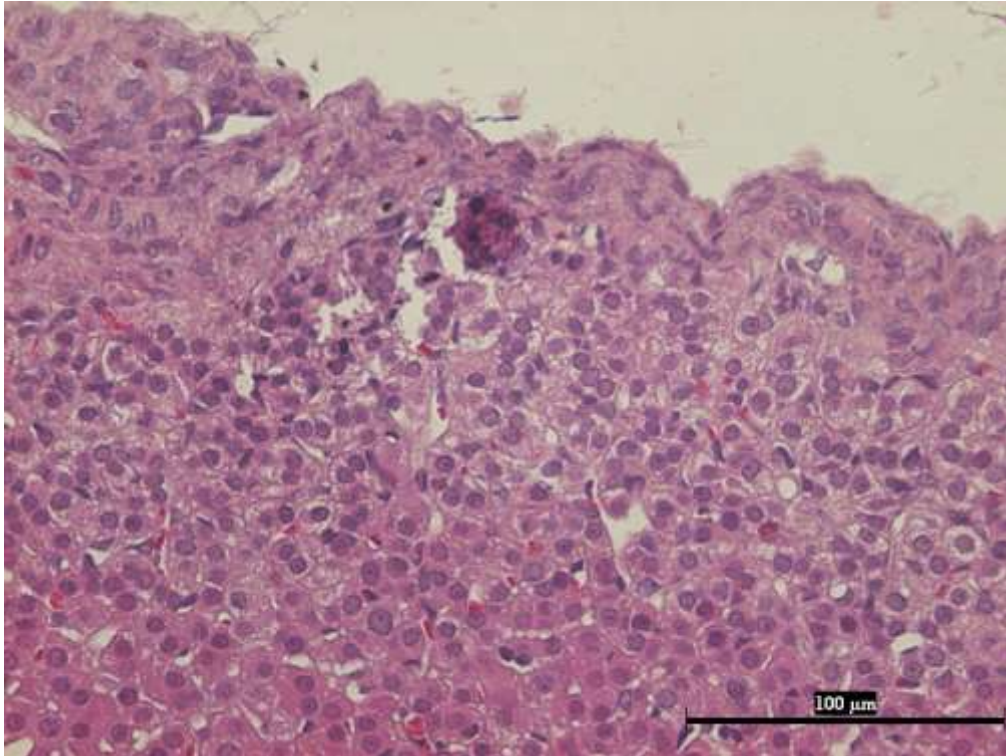
Şekil 4.32. Yağ kontrol grubuna ait adrenal korteks ve medulla görüntüsü, (H&E boyama, 200X).



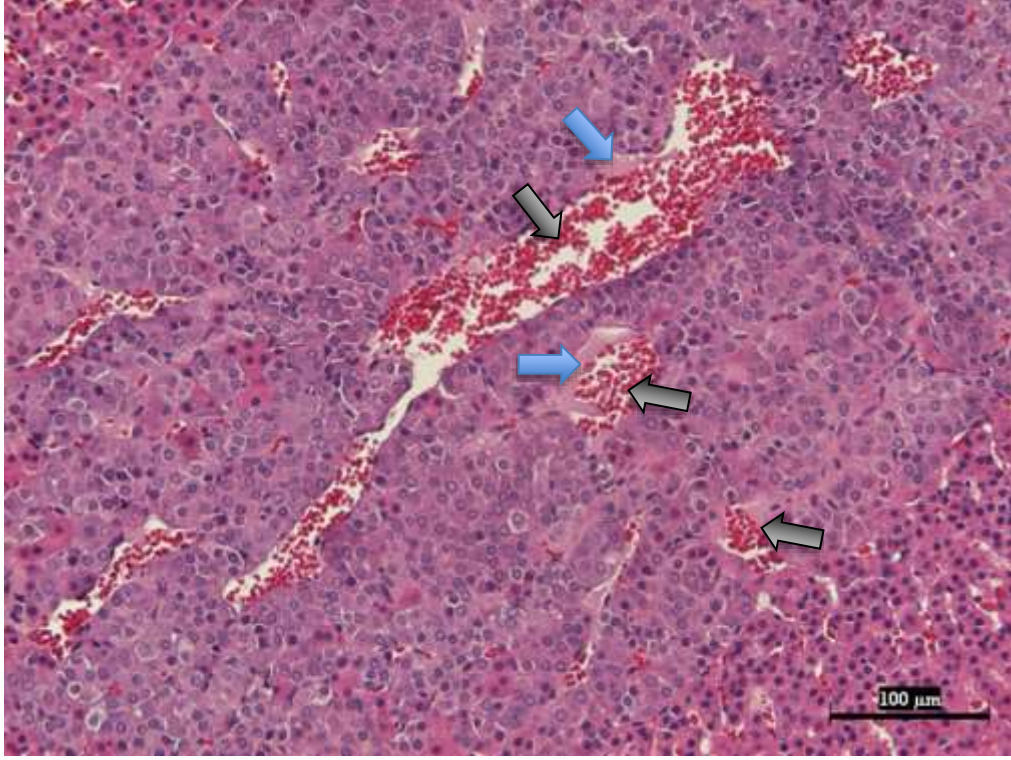
Şekil 4.33. Yağ kontrol grubuna ait adrenal korteks ve medulla görüntüsü, (H&E boyama, 400X).



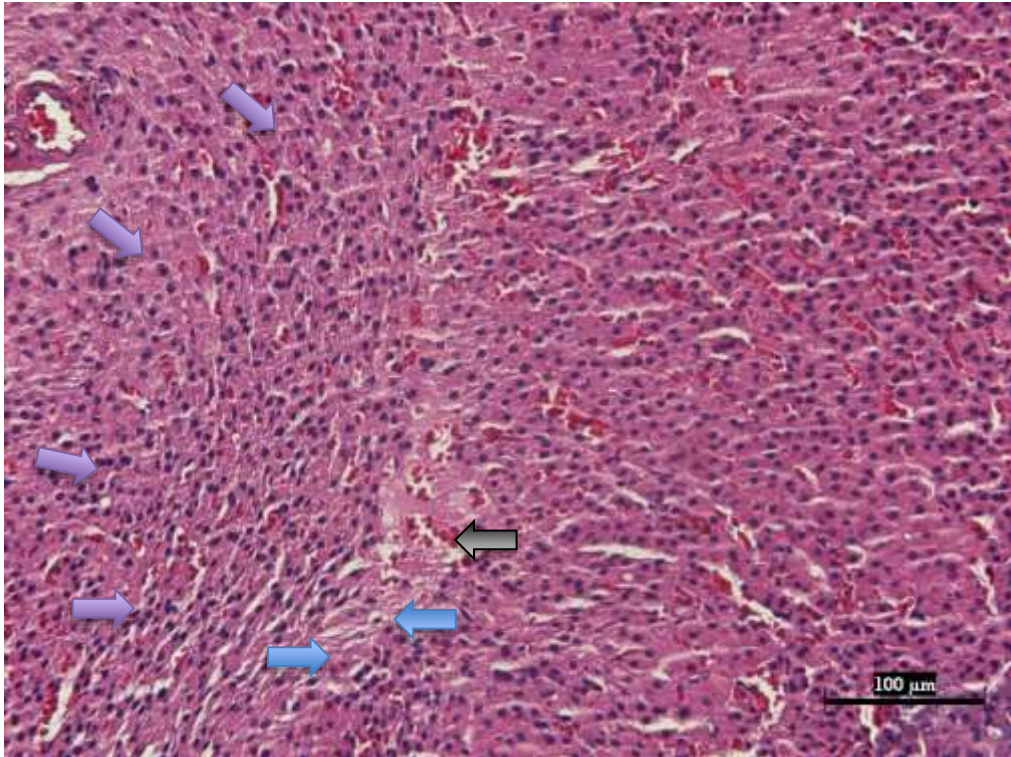
Şekil 4.34. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait adrenal kortekste kortikal nodül oluşumu (⇨), (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.35. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait adrenal dokusunda dejenerasyon (⇨) (H&E boyama, 400X).



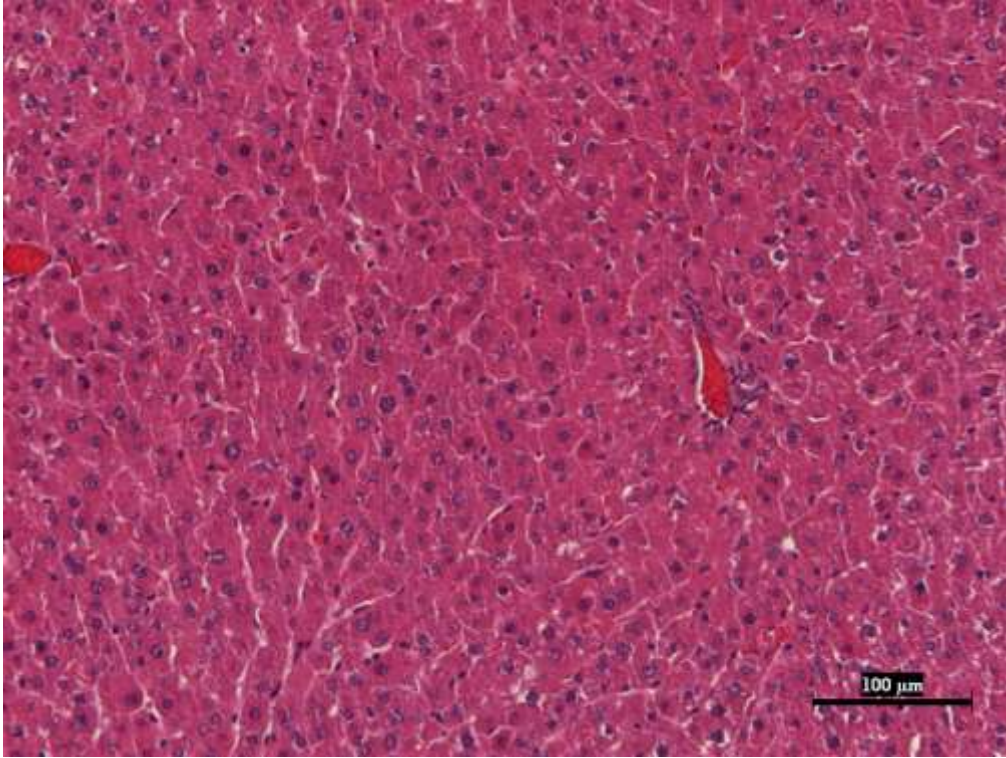
Şekil 4.36. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait adrenal dokusunda konjesyon(→) ve ödem (→), (H&E boyama, 200X).



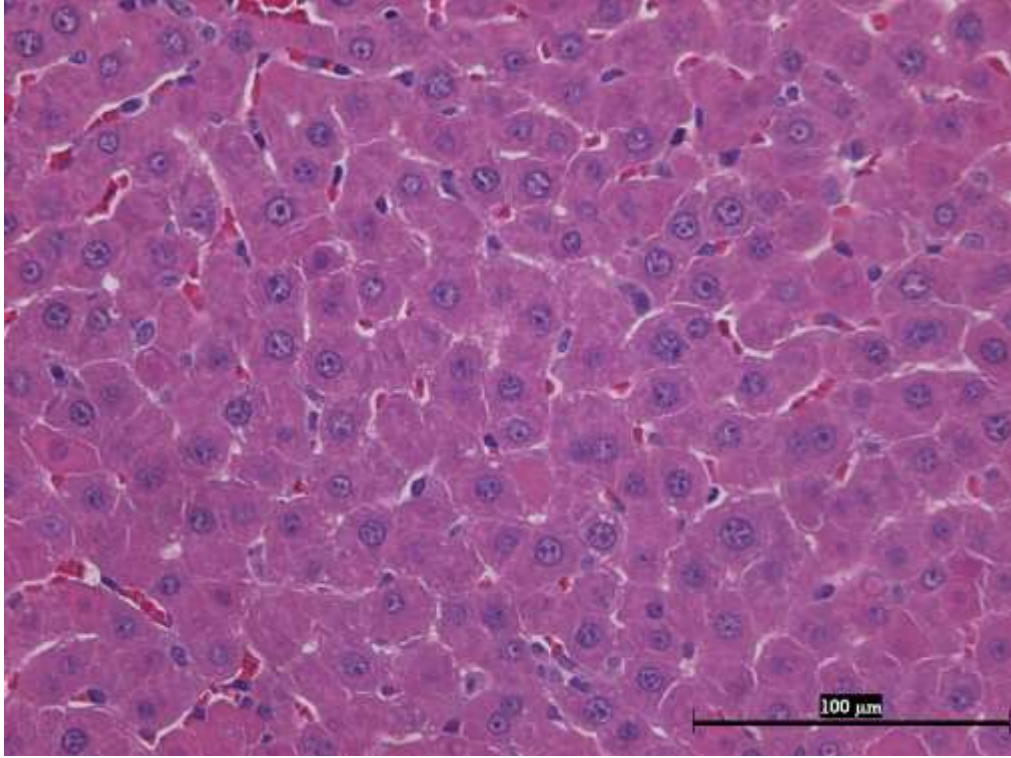
Şekil 4.37. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait adrenal dokusunda konjesyon (→), hücresel dejenerasyon (→) ve hiperplazi (→), (H&E boyama, 200X).

4.3.5. Karaciğer Dokusuna Ait Bulgular

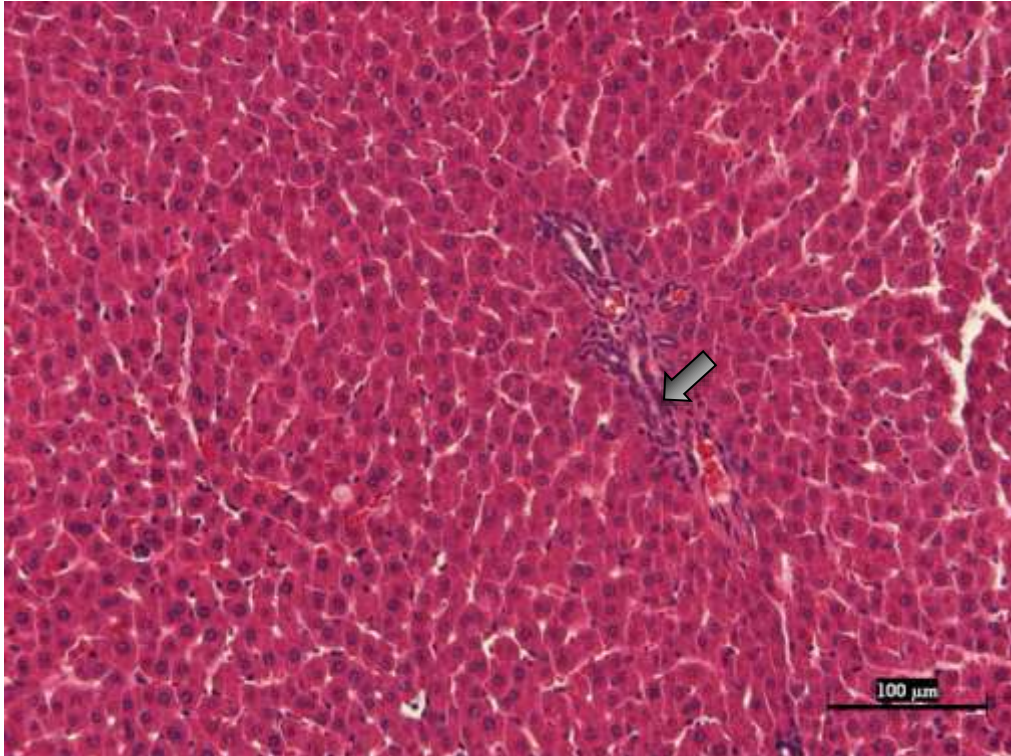
Kontrol grubu karaciğer dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.38 ve 4.39’da verilmiştir. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (Şekil 4.40.), 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda konjesyon (Şekil 4.41.), 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu ve minimal düzeyde ödem (Şekil 4.42.) ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda ise minimal düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu (Şekil 4.43.) saptanmıştır.



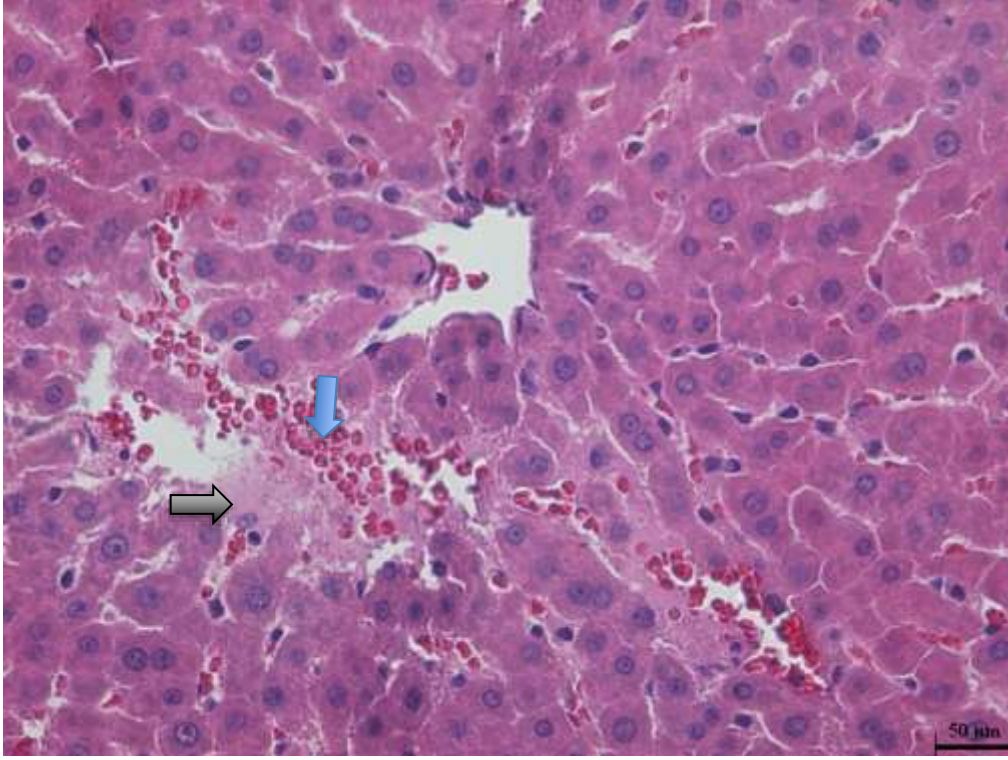
Şekil 4.38. Yağ grubuna ait karaciğer dokusunun histolojik görünümü (H&E boyama, 200X).



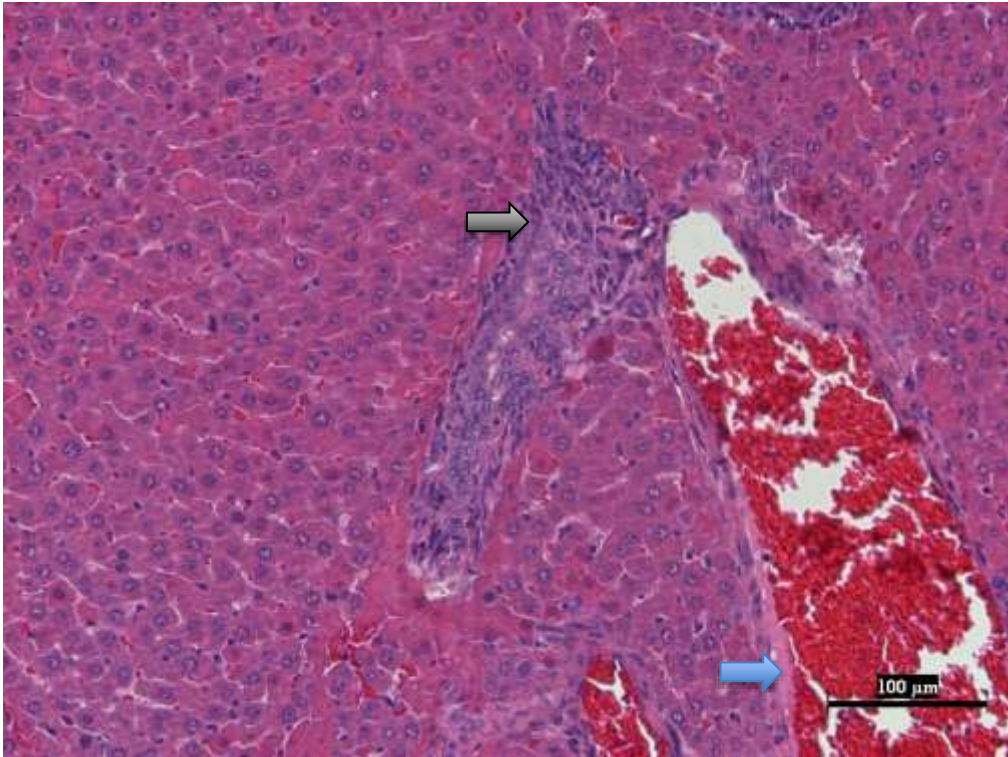
Şekil 4.39. Yağ grubuna ait karaciğer dokusunun histolojik görünümü (H&E boyama, 400X).



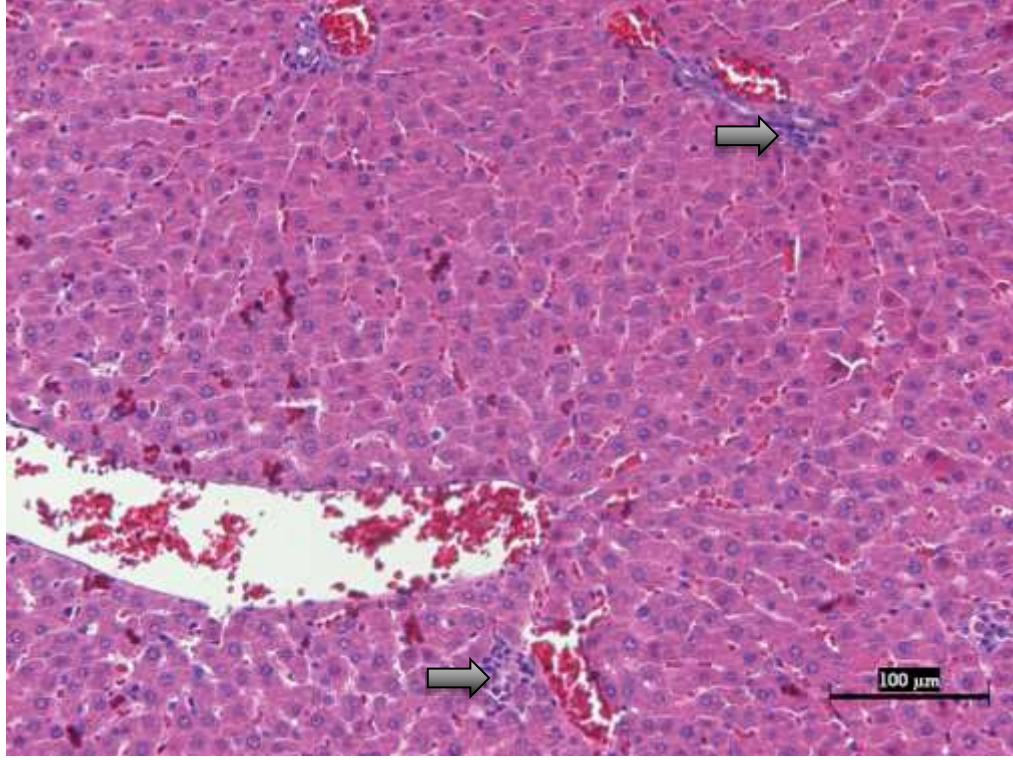
Şekil 4.40. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (→), (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.41. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda ödem (→) ve konjesyon (→) (H&E boyama, 400X).



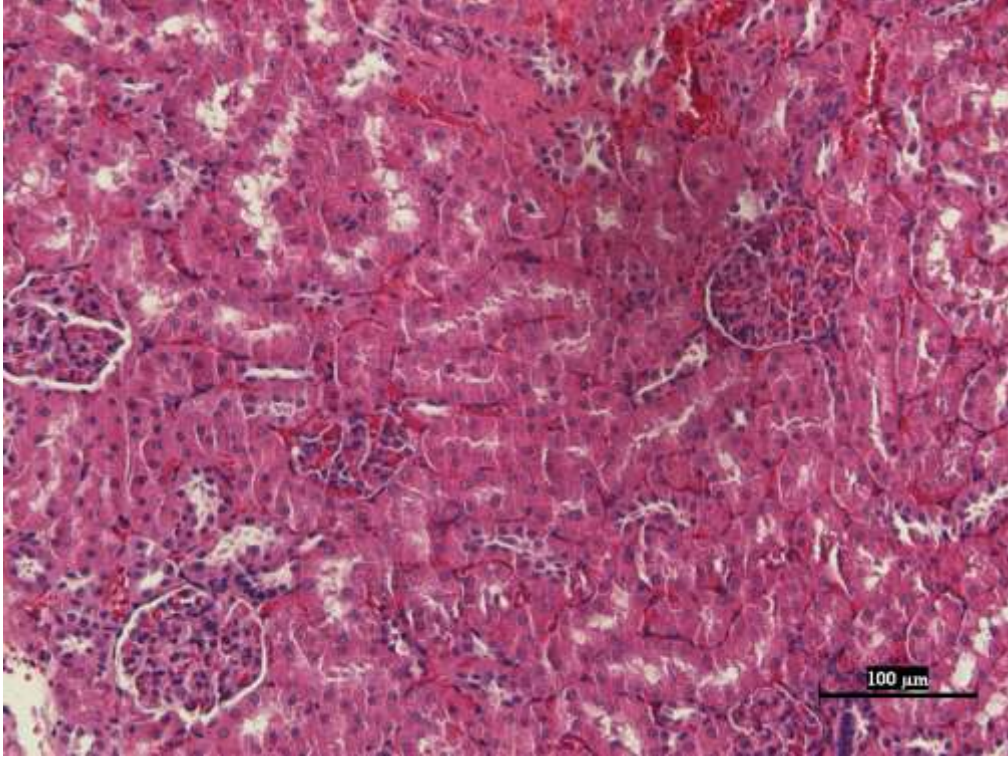
Şekil 4.42. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu (→), minimal düzeyde ödem (→), (H&E boyama, 200X).



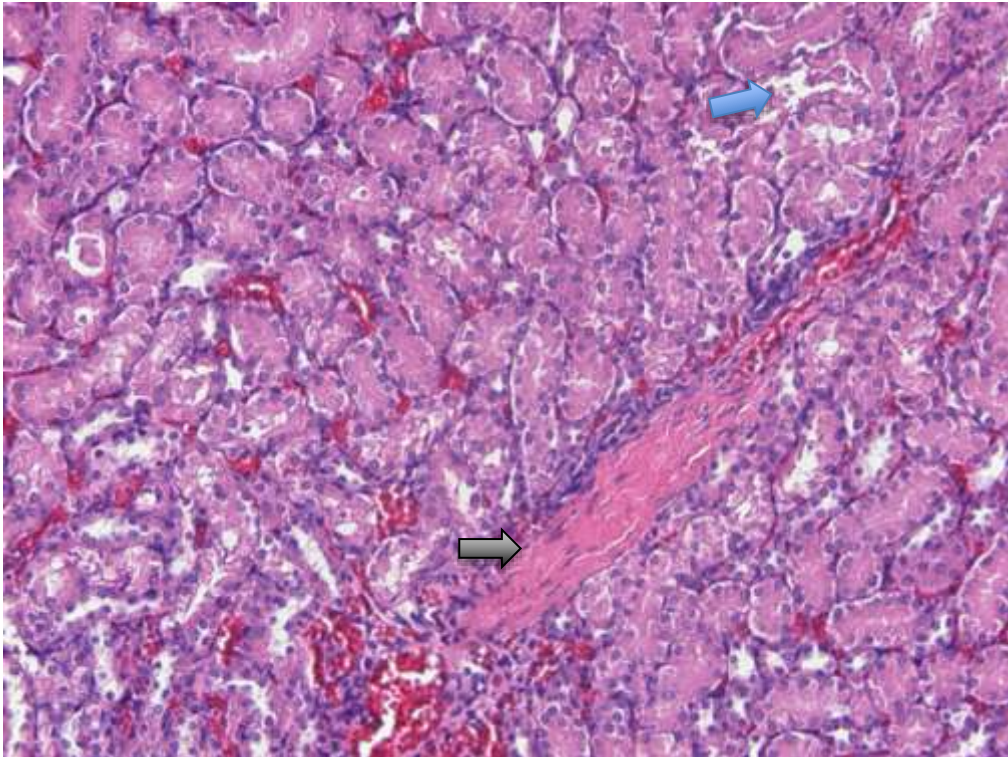
Şekil 4.43. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda minimal düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu (➡), (H&E boyama, 200X).



4.3.6. Böbrek Dokusuna Ait Bulgular

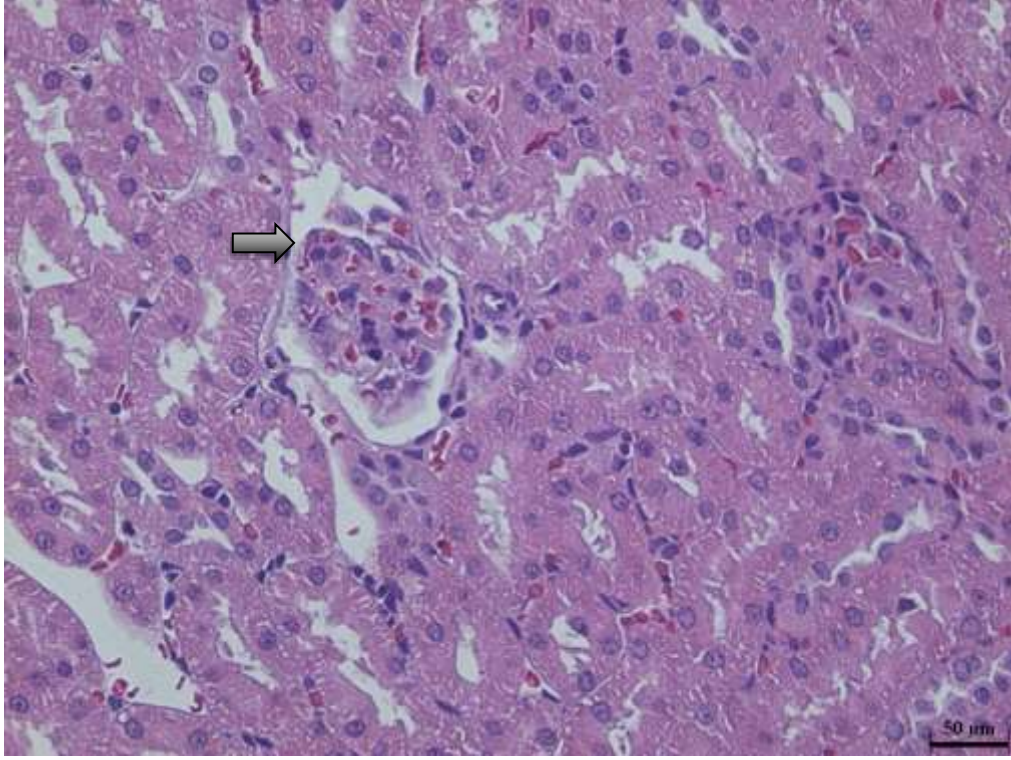
Kontrol grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü Şekil 4.44.'de verilmiştir. BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait böbrek dokusunda fibröz doku oluşumu ve tübüler dejenerasyon (Şekil 4.45.), 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda Bowman kapsülünde glomerular yapraklarda açılma ve dejenerasyon (Şekil 4.46.), 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda atrofik glomerulus (Şekil 4.47.), konjesyon ve ödem (Şekil 4.48), ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda ise fibröz doku oluşumu (Şekil 4.49.) saptanmıştır.




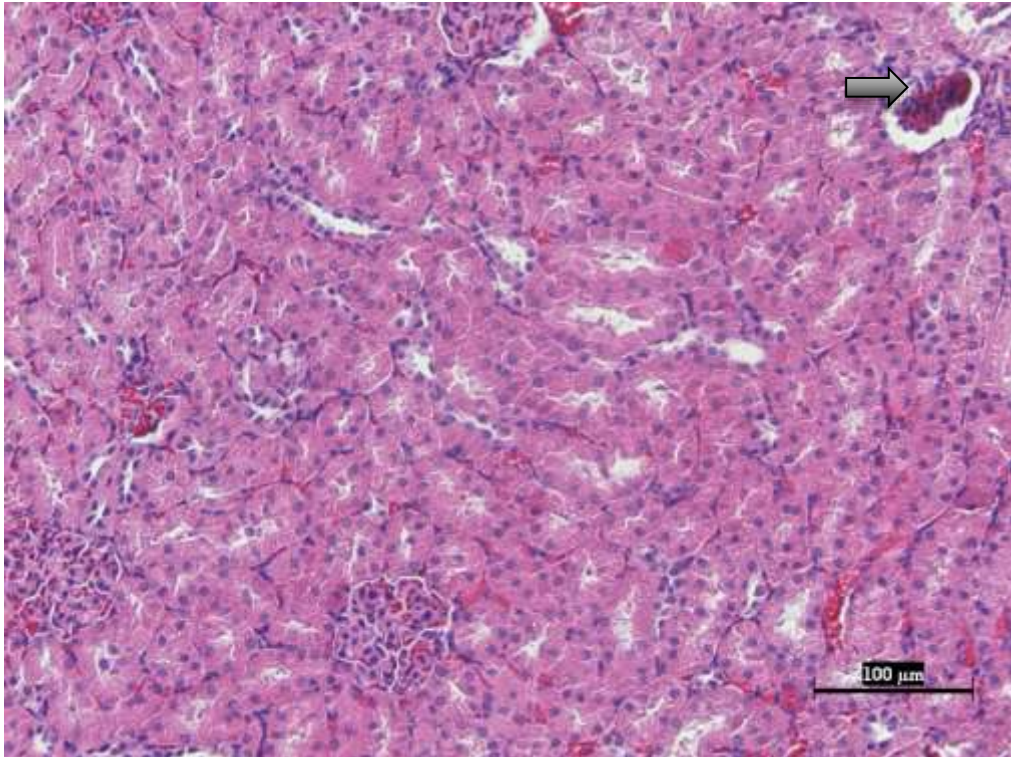
Şekil 4.44. Yağ grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü, (H&E boyama, 200X).




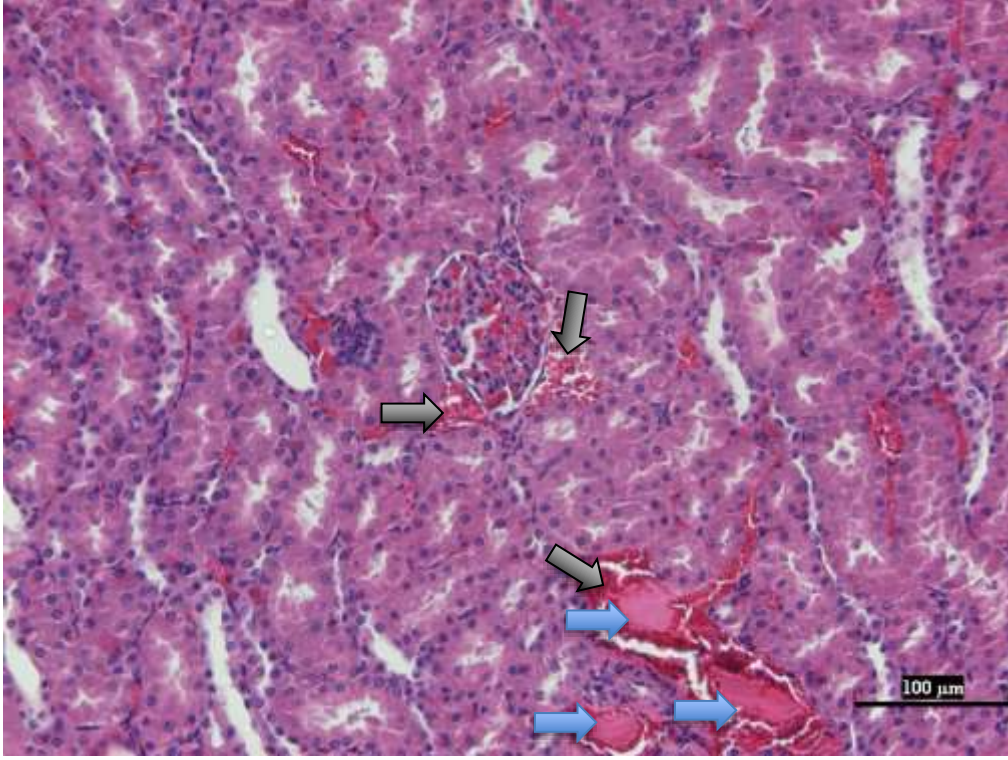
Şekil 4.45 BPA (50mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait böbrek dokusunda fibröz doku oluşumu () ve tübüler dejenerasyon () , (H&E boyama, 200X).



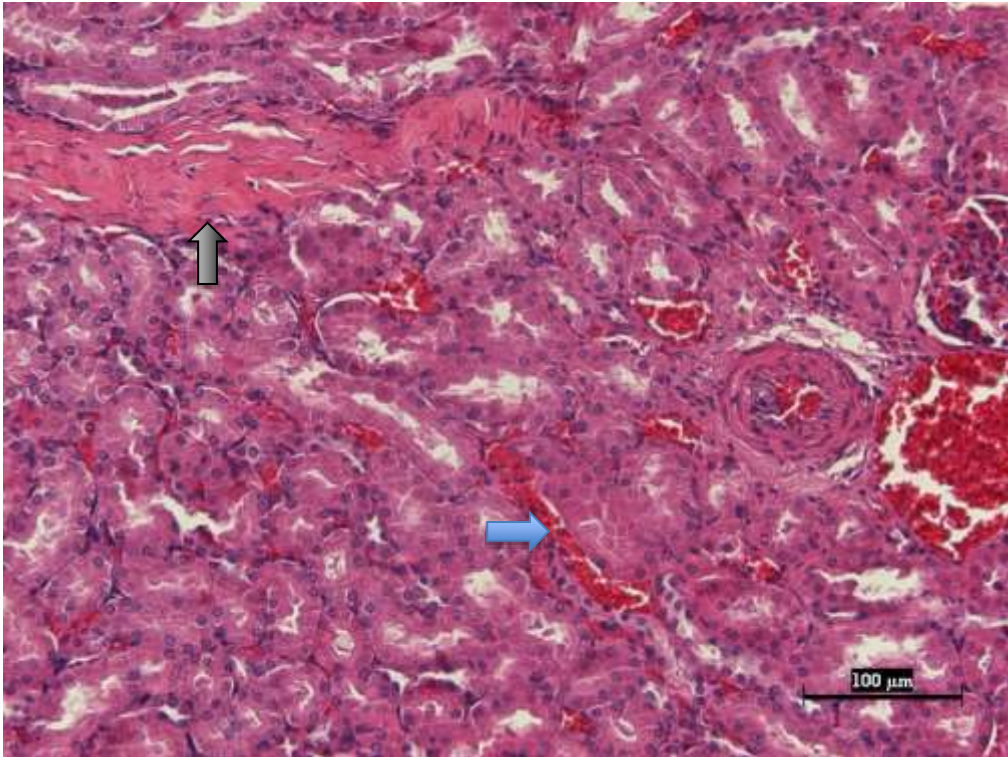
Şekil 4.46. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda glomerular (parietal) yapraklarda açılma () , (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.47. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda atrofik glomerulus () , (H&E boyama, 200X).



Şekil 4.48. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda konjesyon(⇒) ve ödem (⇒), (H&E boyama, 200X).

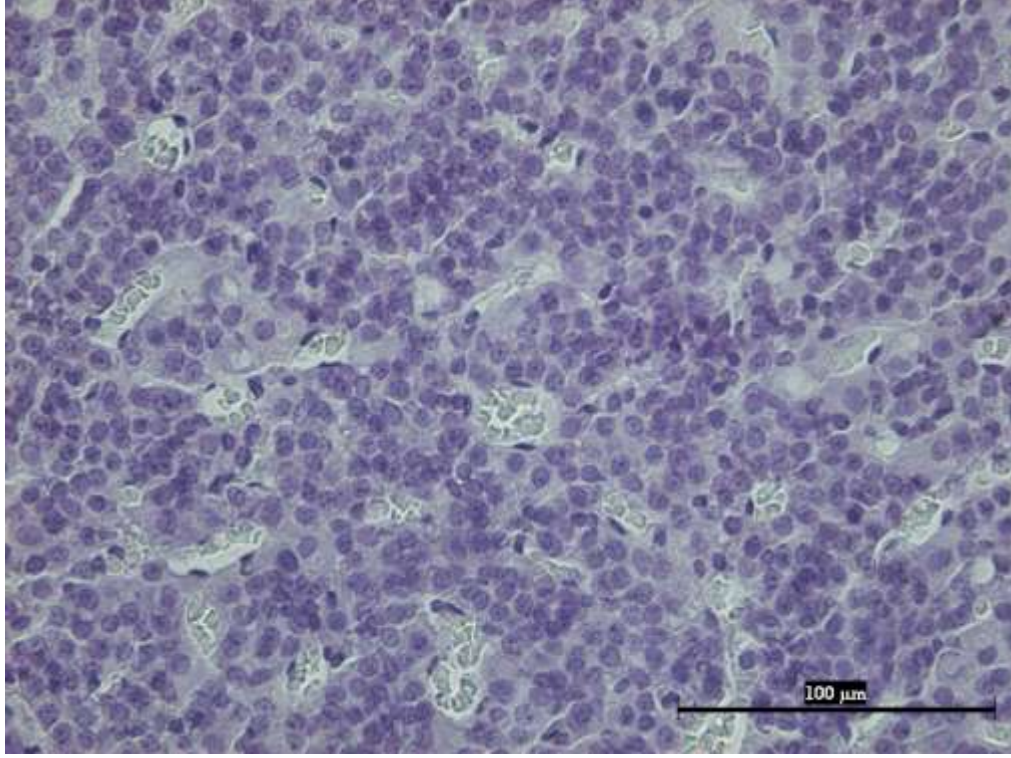


Şekil 4.49. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda fibröz doku oluşumu (⇒), ve konjesyon (⇒) (H&E boyama, 200X).

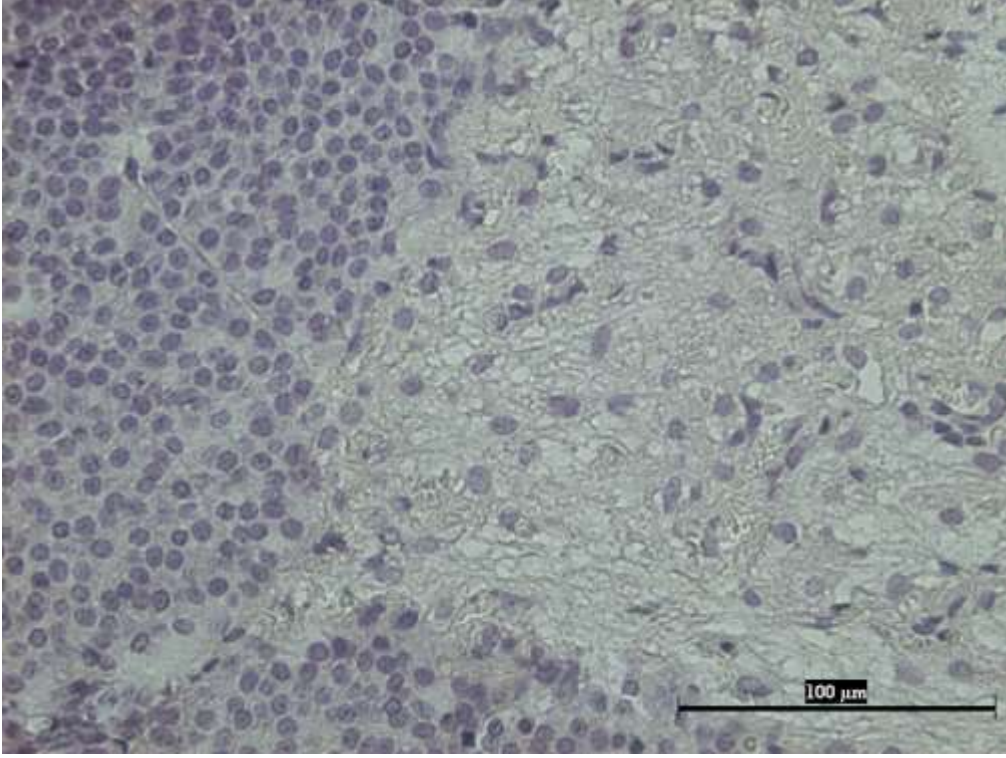
4.4. Apoptoz Analizi

4.4.1. Hipofiz Bezine Ait Bulgular

Yapılan analizler sonucu epifiz bezinde patolojik bulgu olarak apoptoza rastlanmamıştır (Şekil4.46., Şekil 4.47.)



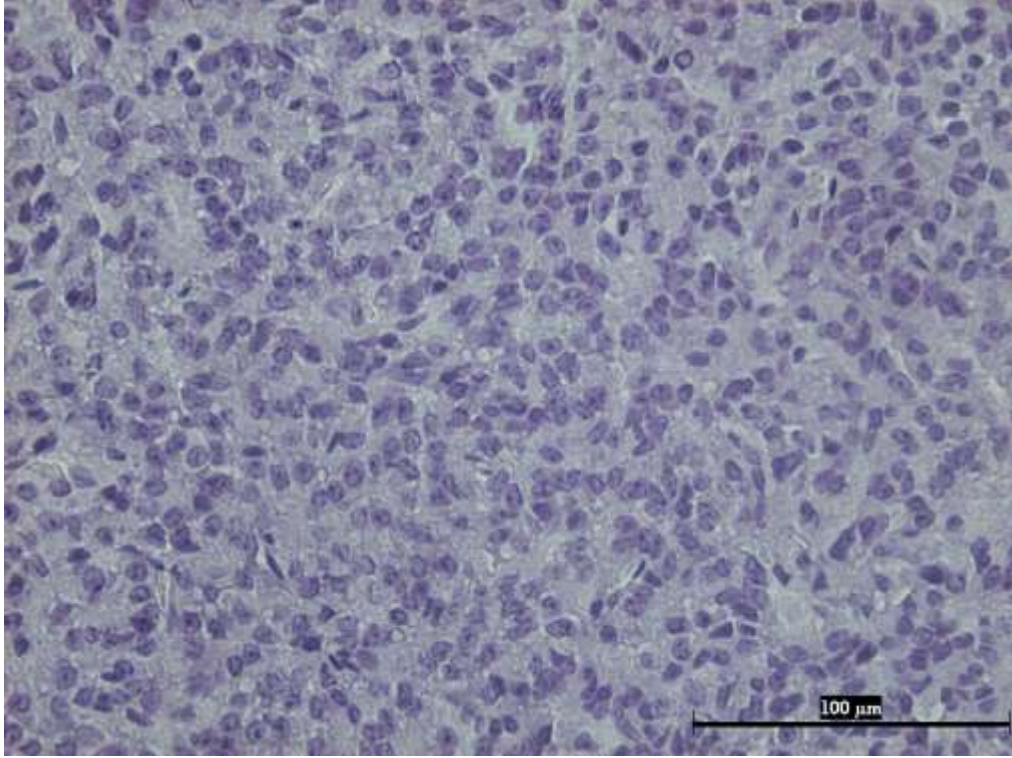
Şekil 4.50. Yağ grubu adenohipofiz dokusunun histolojik görünümü, (400X)



Şekil 4.51. Yağ grubu nörohipofiz bölgesinde dokusunun histolojik görünümü, (400X)

4.4.2. Epifiz Bezine Ait Bulgular

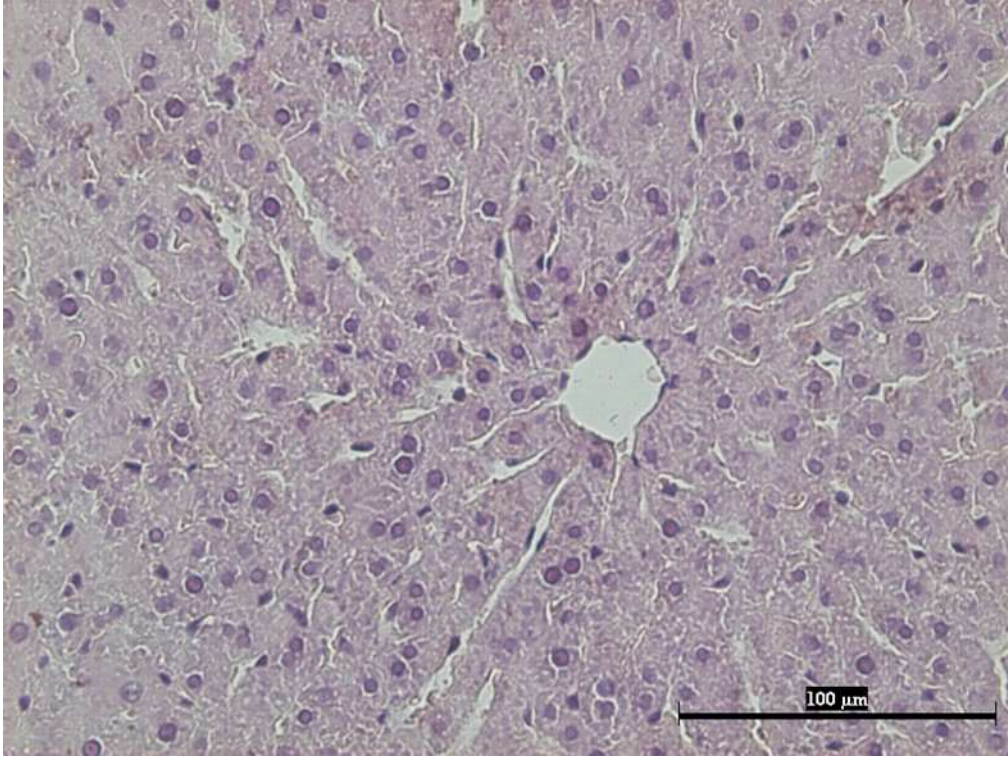
Yapılan analizler sonucu epifiz bezinde patolojik bulgu olarak apoptoza rastlanmamıştır (Şekil4.48).



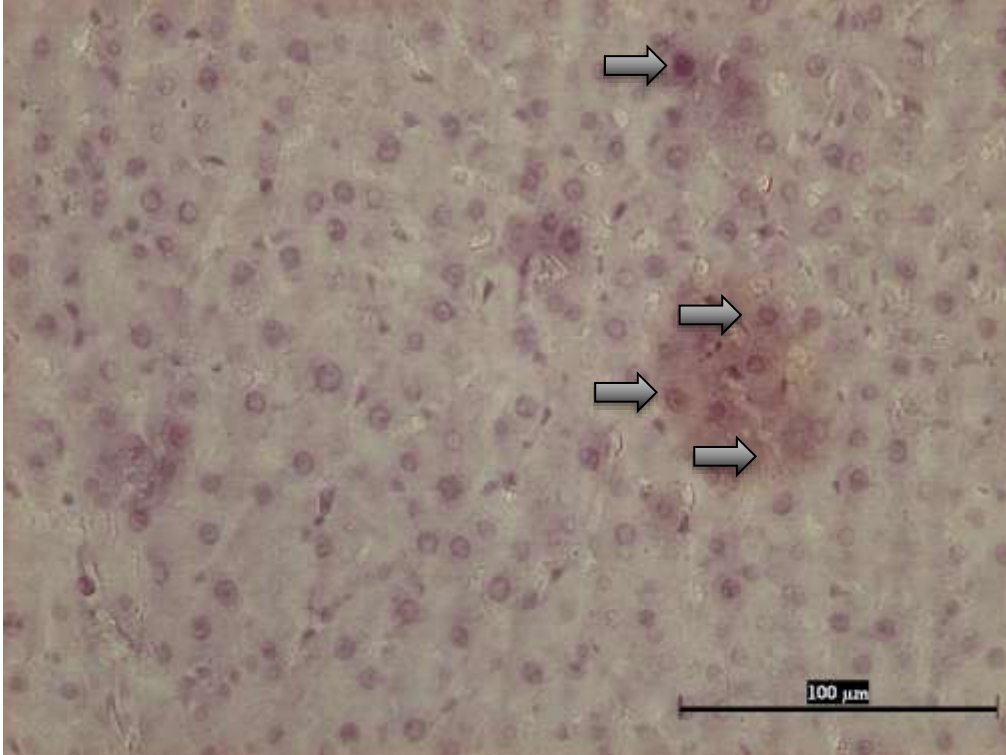
Şekil 4.52. Yağ grubu epifiz dokusunun histolojik görünümü, (400X)

4.4.3. Karaciğer Dokusuna Ait Apoptotik Bulgular

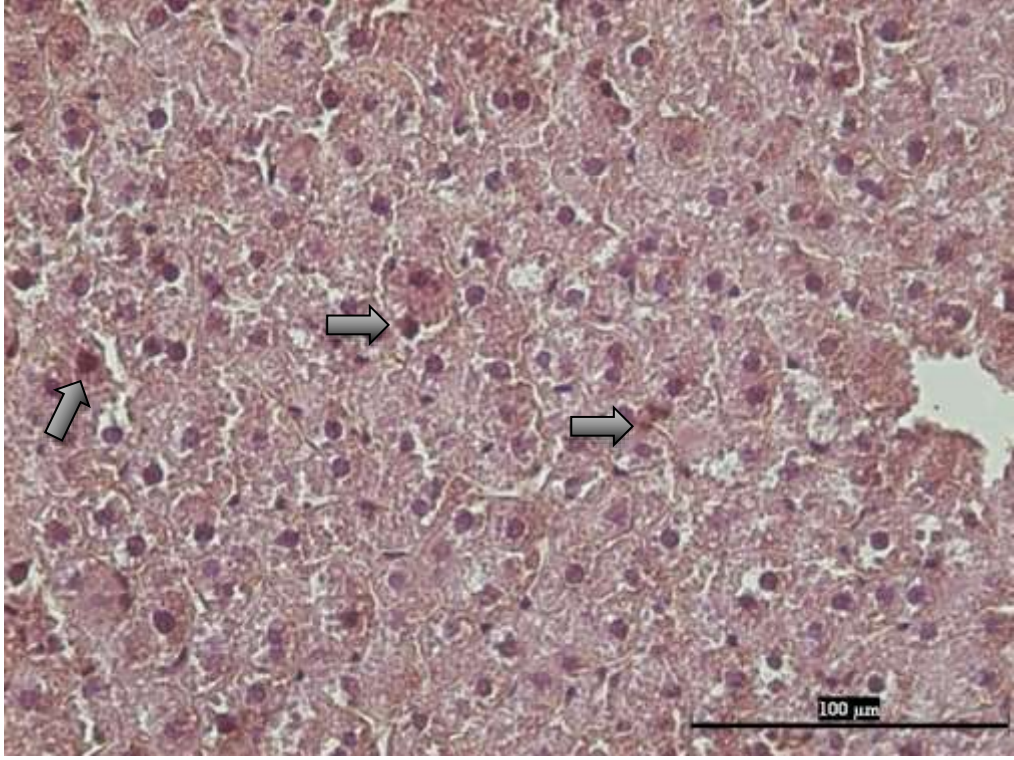
TUNEL yöntemi kullanılarak yapılan apoptoz analizleri sonucunda epifiz ve hipofiz dokularında apoptotik hücrelerin tespit edilememesi sonucu, analizler karaciğer dokusunda tekrarlanmıştır. Yağ grubuna ait karaciğer dokusunun görünümü Şekil 4.49'da verilmiştir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda, 5 mg/kg/gün, 25 mg/kg/gün ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda nonilfenola bağlı oluşan apoptotik hücreler ilgili şekillerde gösterilmiştir. (Şekil 4.50., Şekil 4.51., Şekil 4.52., Şekil 4.53.).




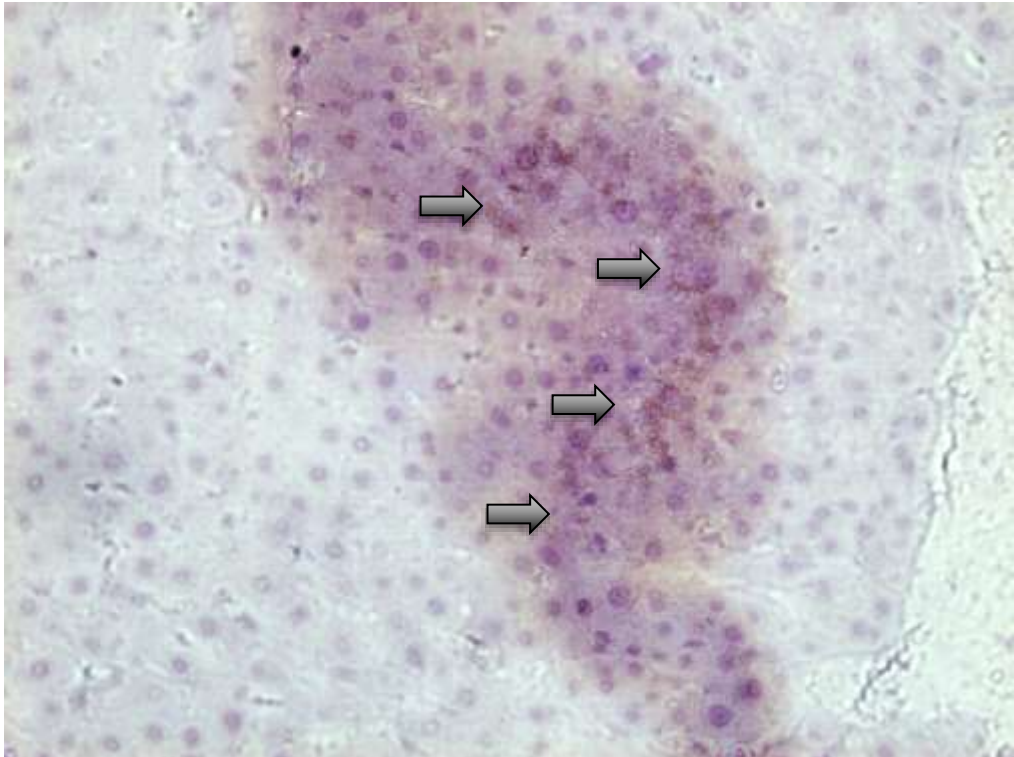
Şekil 4.53. Yağ grubu karaciğer dokusuna ait histolojik görüntü, (400X)




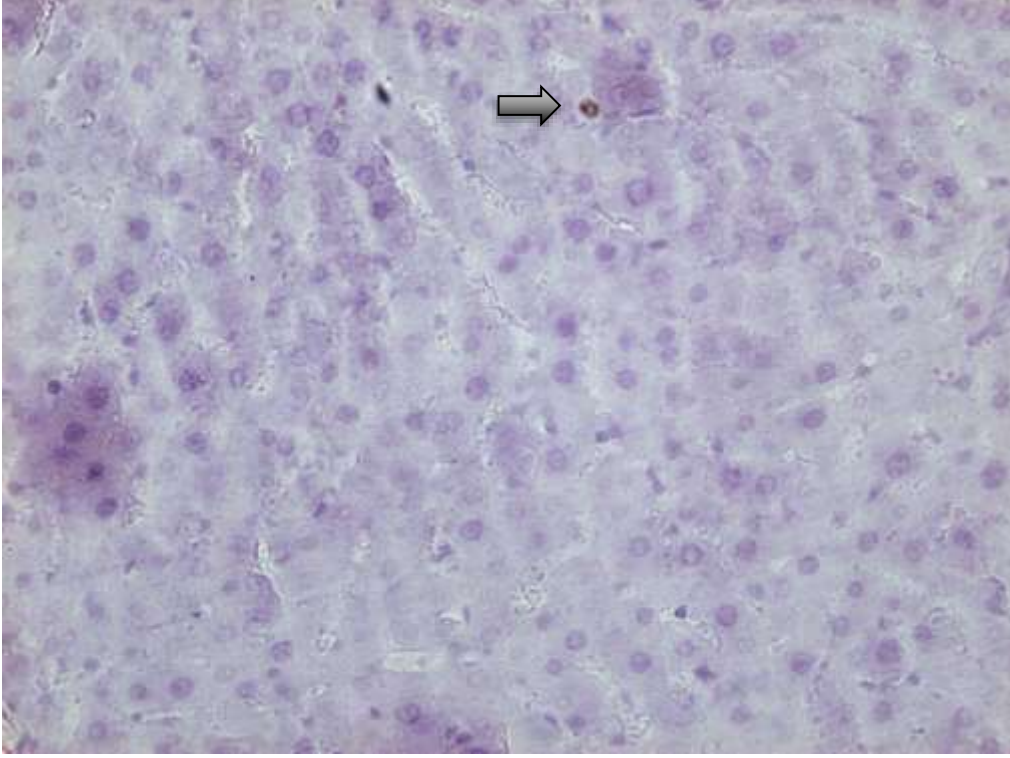
Şekil 4.54. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücreler (➡), (400X)



Şekil 4.55. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücreler (), (400X)



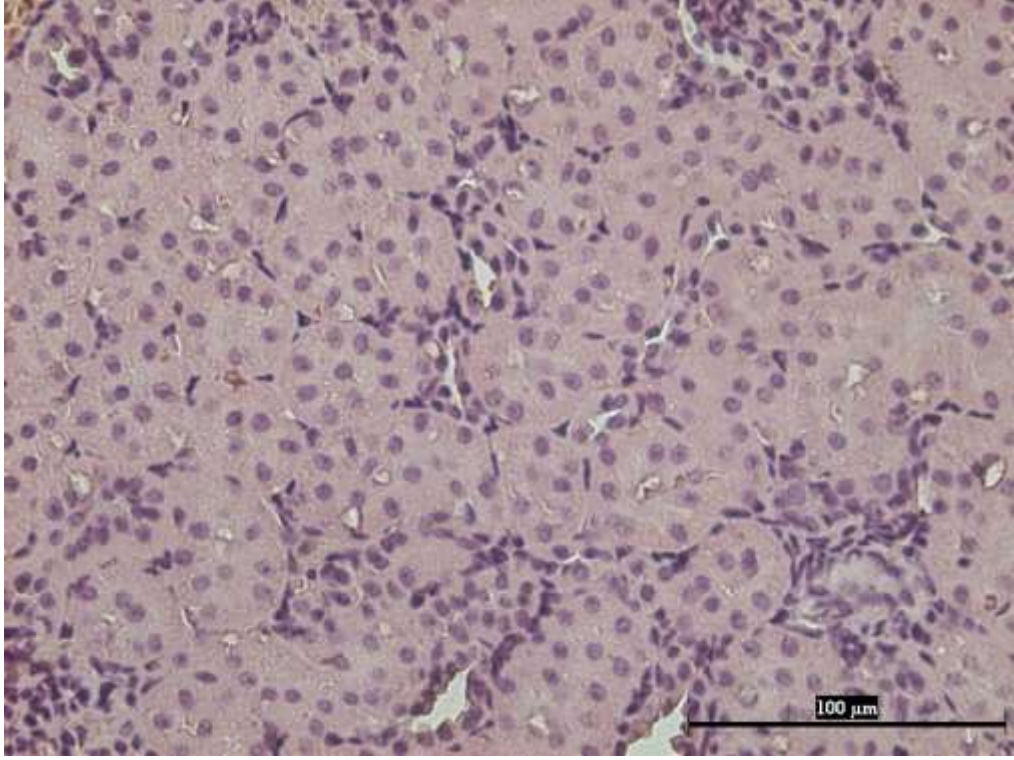
Şekil 4.56. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücreler (), (400 X)



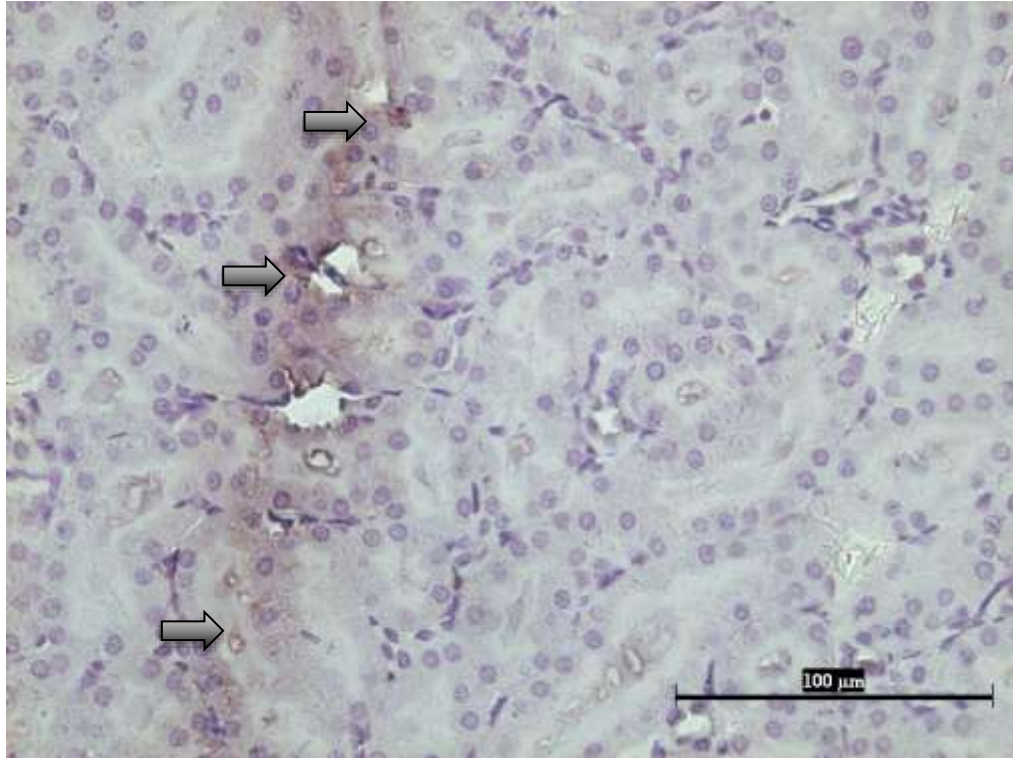
Şekil 4.57. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda apoptotik hücre (→), (400X)

4.4.4. Böbrek Dokusuna Ait Apoptotik Bulgular

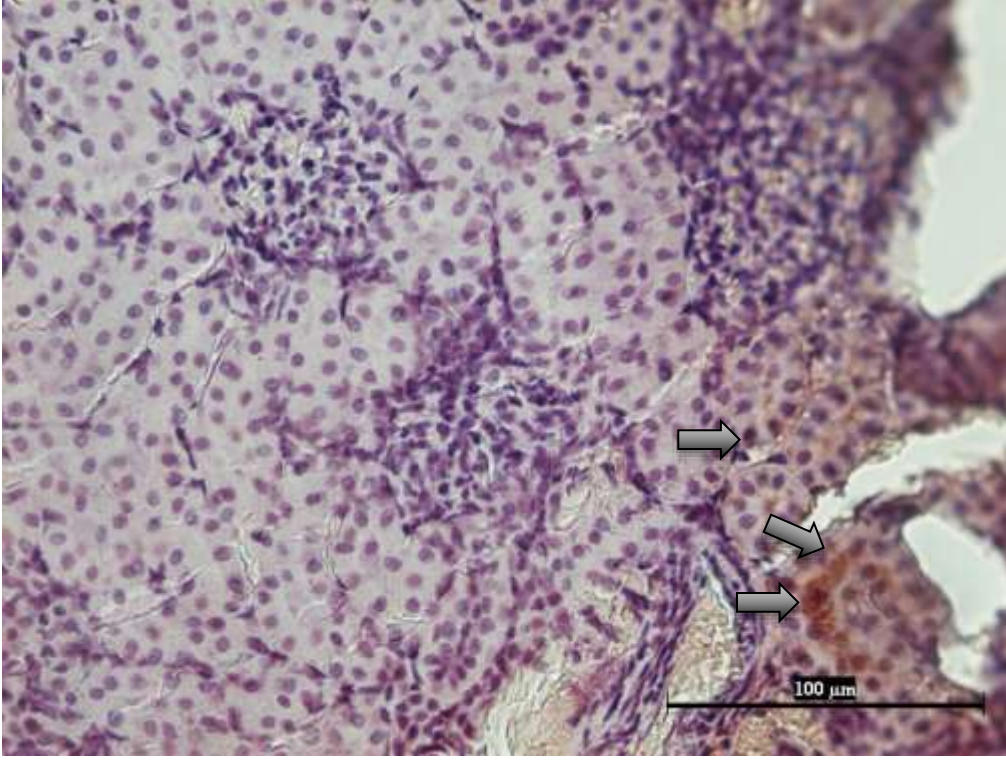
TUNEL yöntemi kullanılarak yapılan apoptoz analizleri sonucunda epifiz ve hipofiz dokularında apoptotik hücrelerin tespit edilememesi sonucu, analizler böbrek dokusunda tekrarlanmıştır. Yağ grubuna ait böbrek dokusunun görünümü Şekil 4.54'te verilmiştir. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubunda, 5 mg/kg/gün 25 mg/kg/gün ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda apoptotik hücreler ilgili şekillerde verilmiştir. (Şekil 4.55., Şekil 4.56., Şekil 4.57 ve Şekil 4.58.)



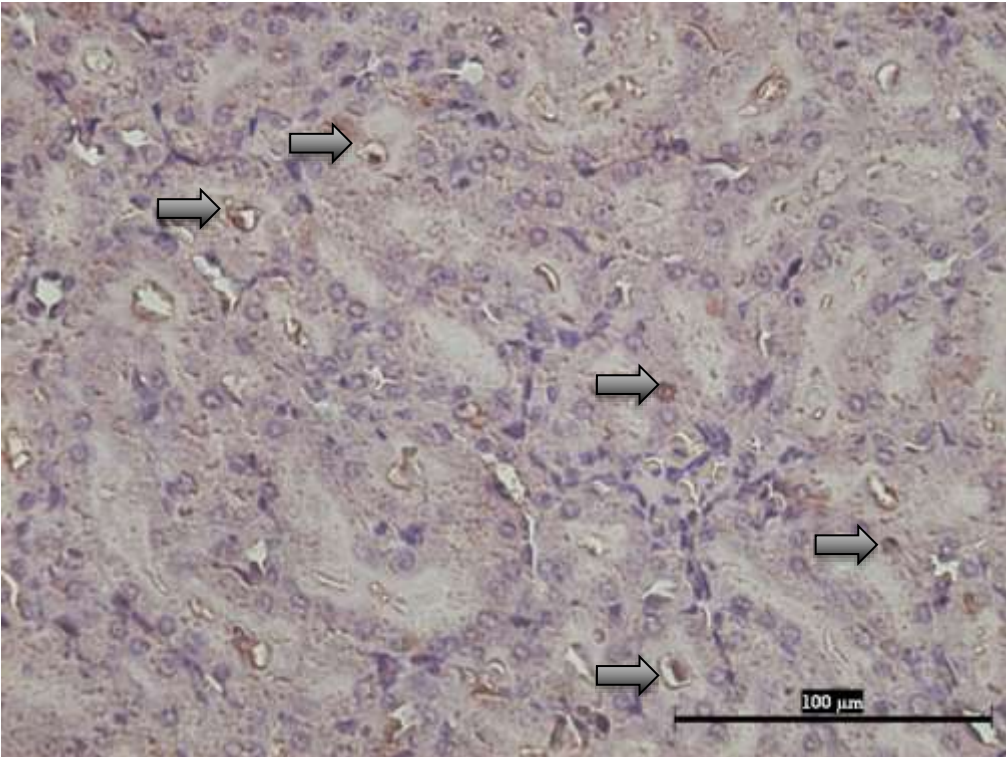
Şekil 4.58. Yağ grubu böbrek dokusunun histolojik görünümü, (400X)



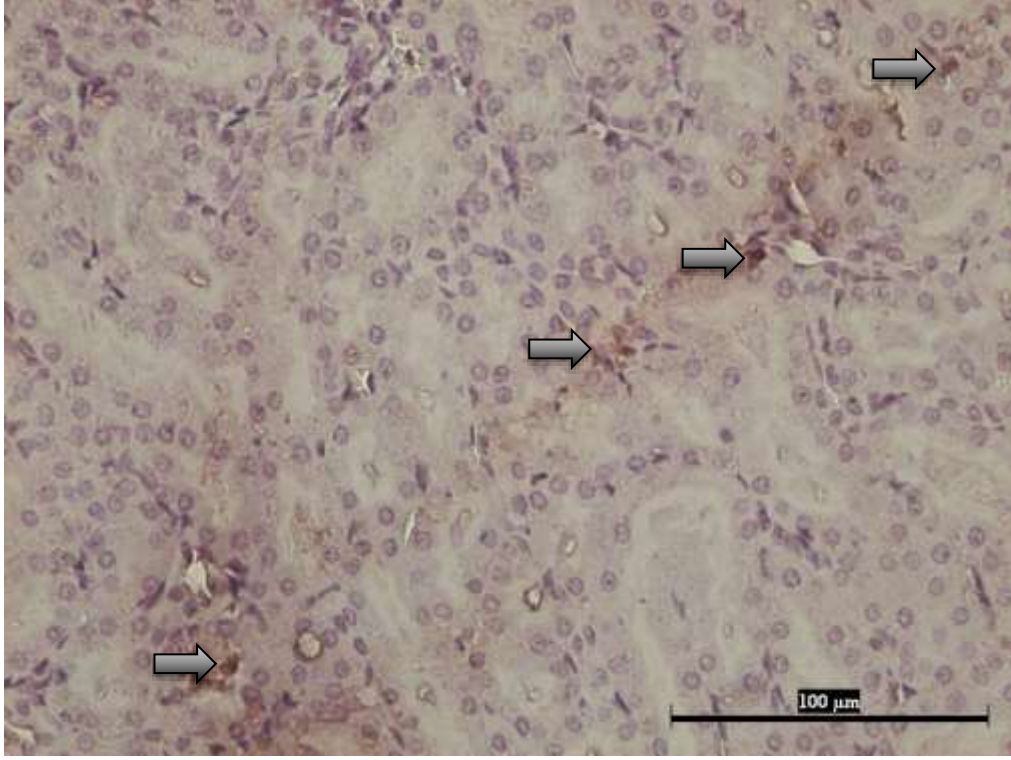
Şekil 4.59. BPA (50 mg/kg/gün) pozitif kontrol grubuna ait böbrek dokusunda apoptotik hücreler (→), (400X)



Şekil 4.60. 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda apoptotik hücreler (➡), (400X)



Şekil 4.61. 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda apoptotik hücre (➡), (400X)



Şekil 4.62. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda apoptotik hücreler (➡), (400X)

5. TARTIŞMA

Gelişen teknoloji ile kimyasalların kullanım alanları her geçen gün daha fazla artmaktadır. Kimyasallar günlük hayatımızın önemli bir bileşeni olarak yaşamın her alanında sıklıkla kullanılmaktadır. Endokrin bozucu kimyasallara maruziyet insan ve hayvan sistemlerinde hormonları etkileyerek etki gösterirler. Bu nedenle özellikle gelişimin erken aşamalarındaki maruziyet canlı sistemleri için hayati önem taşımaktadır. Uluslararası sağlık otoriteleri ve bilim adamları tarafından endokrin bozucu kimyasalların son yıllarda halk sağlığına yönelik ciddi tehlike oluşturduğu kabul edilmektedir (Aydemir et al., 2018; 2019; 2020; Kahn et al., 2020; Karabulut and Barlas, 2022; İnkaya and Barlas 2022).

Nonilfenol; diş hekimliği, gıda ambalajlama, tekstil, zirai ilaç, deterjan, boya ve kozmetik ürünlerin üretiminde kullanılan bir kimyasaldır. İçme suyu, meyve ve sebzeler gibi insanların tükettiği birçok gıda maddesinde nonilfenola rastlanmıştır. Son yıllarda nonilfenol etoksilatlar için artan talep ve üretim çevreye salınmasına yol açmıştır bu da insan ve hayvanların maruziyet süresini ve dozunu etkilemiştir (Porter ve Hayden, 2002).

Türkiye’de Mersin bölgesinde 103 idrar örneği 3-51 yaş aralığındaki kadın, erkek ve çocuklardan toplanmış ve yapılan analizler sonucunda toplanan idrar örneklerinde BPA ve nonilfenole rastlanmıştır (Sukuroglu et al., 2022)

Yapılan çalışmalarda daha çok nonilfenolün üreme sistemi üzerindeki etkilerini incelemeye odaklanılmıştır. Sıçanlarda yapılan çalışmalarda, nonilfenolün oral yolla maruziyetinin testislerde patolojik bulgulara neden olduğu tespit edilmiştir (Tabassum et al., 2017). İnsanlarda ise nonilfenolün östrojen hormon seviyelerini etkileyerek endokrin bozucu özellik gösterdiği belirtilmiştir. Ayrıca sucul canlılarda biyoakümülyasyona neden olarak üreme sağlığını etkilediği ortaya koyulmuştur (Crevet ve Vanacker, 2020, Saravanan et al.,2019).

Nonilfenolün yalnızca üreme sistemini değil tüm endokrin sistemi etkilediği düşünülmektedir. Bu nedenle bu çalışmada literatürde eksik olduğu düşünülen HPA eksenini üzerindeki etkilerinin ortaya çıkarılması hedeflenerek deneyler bu doğrultuda planlanarak yapılmıştır.

Çalışmada nonilfenol uygulaması canlı organizma için önemli fizyolojik, biyolojik, hormonal değişimleri içeren prepubertal dönemden başlayıp ergin döneme kadarki süreyi kapsayacak şekilde uygulanmıştır. Deney hayvanı olarak, birçok moleküler mekanizması insanla benzer olan *Rattus norvegicus* ile çalışılmıştır.

Sıçanların başlangıç ve bitiş ağırlıkları analiz edildiğinde başlangıç ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark tespit edilmiştir. Bu sebeple % ağırlık değişimi değerlendirilmiştir. % ağırlık değişiminde kontrol grubuna göre BPA (50 mg/kg/gün) ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür. Endokrin bozucularla yapılan bazı çalışmalarda vücuda alınan endokrin bozucu kimyasalın vücut ağırlığını istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde etkilemediği belirtilmektedir. Nagao ve ark. (2001) tarafından nonilfenol ile 2, 10, ve 50 mg/kg dozları ile yapılan çalışma sonucu vücut ağırlığının etkilenmediği kaydedilmiştir. Endokrin bozucu kimyasal olan oktilfenol ile yapılan çalışma sonucunda % vücut ağırlıklarında endokrin bozucu maddelere bağlı bir değişim gözlenmemiştir (Göktekin ve Barlas, 2008). Oral gavaj yoluyla 10 gün boyunca 10, 250, ve 750 mg/kg dozlarında propil parabene maruz kalan erkek sıçanlarda %vücut ağırlığının parabene bağlı azaldığı kaydedilmiştir (Özdemir et al., 2018). Parabenlerle yapılan bir başka çalışmada ise propil paraben ve metil paraben karışımının % vücut ağırlığında bir değişime neden olmadığı belirtilmiştir (İnkaya and Barlas, 2022). Yapılan çalışmalar incelendiğinde nonilfenol ve diğer endokrin bozucu kimyasallar, vücut ağırlıklarını deney hayvanı, yaş, maruziyet süresi, maruziyet yolu gibi birçok değişkene bağlı olarak farklı etkilediği görülmektedir.

Endokrin bozucu kimyasalların etkilerinden biri de organ ağırlıkları üzerinde yaptığı değişiklikler olduğu görülmektedir. Nagao ve ark. (2001) tarafından yapılan bir çalışmada 25 erkek ve 25 dişi sıçanlara 2, 10 ve 50 mg/kg/gün nonilfenol gavaj yoluyla uygulanmıştır. 50 mg/kg/gün nonilfenol uygulanan erkeklerde karaciğer, timus, böbrek ve hipofiz ağırlıklarında önemli artışların olduğu gözlenmiştir. Dişilerde ise yumurtalık ağırlığında azalma gözlenmiştir. 50 mg/kg/gün nonilfenol uygulanan erkek ve dişi sıçanların karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik değişiklikler tespit edilmiş ve bu bulgular organ ağırlıklarıyla birlikte değerlendirilmiştir. Bu grupta bulunan sıçanlarda karaciğer ağırlıklarında da artış gözlenmiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda 5 ve 25 mg/kg/gün uygulama gruplarında karaciğer ağırlığında meydana gelen artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Böbrek organ ağırlıklarında ise 25 mg/kg/gün uygulama grubundaki böbrek ağırlık artışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Hipofiz ve

epifiz bezlerinin çok küçük olmaları sebebiyle dokulara zarar vermemek amacıyla ağırlık ölçümü yapılmamıştır. Bu nedenle hipofiz ve epifiz ağırlıklarındaki değişim tespit edilememiştir.

Harvey ve ark. (2016) tarafından yapılan çalışmada nonilfenol maruziyetinin ACTH reseptörü regülasyonunda azalmaya sebep olduğu ve bu durumun adrenal bezdeki organ ağırlık artışıyla ilişkili olduğu belirtilmiştir. Çalışmamızda adrenal bezde ufak çaplı bir artış görülmüş fakat bu sonuç istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Çalışmamızda elde edilen ağırlık ölçümleri sonuçları literatürdeki bilgileri doğrular niteliktedir.

Serum ACTH, kortikosteron ve glikoz değerleri birbirleri ile ilişkili olduğu için birlikte değerlendirilmiştir. Çalışmamızda 5 ve 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama gruplarında ACTH miktarının istatistiksel olarak anlamlı şekilde azaldığı, kortikosteron miktarının 125 mg/kg/gün uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı şekilde arttığı ve aldosteron miktarının 5 ve 25 mg/kg/gün nonilfenol gruplarında istatistiksel olarak arttığı tespit edilmiştir. Serum glikoz miktarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir.

Endokrin sistem üzerinde etkili olan kimyasallar genellikle HPA eksenini ACTH salınımını artırarak etkilemektedir. Bunun yanı sıra insanlarda ölümcül adrenokortikal toksisiteye sebep olduğu bilinen aminoglutetimid ve etomidat farmasötik ilaçların ACTH reseptörü regülasyonda azalmaya sebep olarak etki gösterdiği de bilinmektedir (Harvey et al., 2016). Bu durumda, endokrin bozucu kimyasalların ACTH miktarını azaltarak ya da artırarak etki gösterdiğini söyleyebiliriz. Buna paralel olarak çalışma sonuçlarımız incelendiğinde pozitif kontrol BPA grubunda ACTH miktarı kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı artış gösterirken, 5 ve 25 mg/kg/gün nonilfenol doz gruplarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma tespit edilmiştir. *Triturus carnifex* (semender) ile yapılan bir çalışmada nonilfenolün serum ACTH seviyesinde önemli bir değişikliğe neden olmadığı tespit edilmiştir (Capaldo et al., 2011).

Endokrin bozucu olduğu bilinen dietil fitalatın erkek sıçanlarda serum ACTH seviyesinde artışa neden olduğunu ve buna ek olarak kortizol hormonu salgısını %100 oranında arttırdığı belirtilmiştir (Supornsilchai et al., 2007).

ACTH miktarının stabil kalması önemlidir çünkü ACTH doğrudan kortizol ile ilişkilidir ve kortizol canlı sistemlerinde hayati öneme sahip bir hormondur. Ek olarak ACTH sirkadiyen ritmin düzenlenmesiyle de doğrudan ilişkilidir. Bu nedenle serum ACTH

seviyesindeki hassas bir değişim fizyolojik, psikolojik ve metabolik faaliyetlerin tümünü etkileyecektir (Bowers ve Yehuda, 2016; Heaney, 2013).

Adrenal korteksin zona fasciculata tabakasından sentezlenen glukokortikoidler (insan: kortizol, sıçan: kortikosteron) glikoz, yağ ve protein metabolizmalarını kontrol eden yaşam için çok önemli hayati hormonlar olmaları nedeniyle endokrin bozulardan etkilenmeleri sağlık açısından büyük önem taşır. Endokrin bozucular serum kortizol düzeyinde yükselmeye yol açar, bu da canlı organizmanın aşırı stres durumuna girmesini tetikler. Sıçanlarda kortikosteron düzeyindeki artış yaşa bağlı hastalıkların ortaya çıkmasını tetikler. Tüm bunlar organ hasarı ile sonuçlanabilen mekanizmaları harekete geçirir. Ayrıca fetal dönemde endokrin bozucularla karşılaşmak üreme organlarının oluşumunu olumsuz yönde etkiler (Spiga et al., 2011). Chang et al., (2010) tarafından sıçanlar üzerinde yapılan çalışmada nonilfenolün P450scc (kolesterolün pregnenolona dönüşümünü katalize eden bir enzim) ve 11b-hidroksilazın (kortizonun aktif kortizole ve/veya tam tersine dönüşümünden sorumlu enzim) enzim aktivitelerini artırarak kortikosteron salgılanmasını artırdığını göstermiştir. Sıçanlarla yapılan çalışmalar sonucunda nonilfenolün adrenal bezin zona fasciculata tabakasını etkileyerek doğrudan kortikosteron salınımını arttırdığı kaydedilmiştir (Capaldo et al., 2011). Bir endokrin bozucu olarak bilinen trihenyltinin, sıçanlarda ROS (serbest oksijen radikalleri) üretimini tetiklediği ve kolesterol metabolizmasını bloke ederek kortikosteron üretimini inhibe ettiği belirtilmiştir (Liet al., 2004). Endokrin bozuculardan olan poliklorlu bifenil 126 ile yapılan *in vitro* çalışmalar incelendiğinde adrenal korteks hücrelerinde, artan doza bağlı olarak kortizol seviyelerinin yükseldiği tespit edilmiştir (Li et al., 2005). Metil paraben ve propil paraben ile yapılan bir diğer çalışmada doz gruplarında serum glikoz seviyesinde artış olduğu görülmüş ve bu artış kortizol seviyesindeki artış ile ilişkilendirilmiştir. Artan kortizol hormon seviyesinin glikojenezi arttırdığı, hücrelerde glikoz kullanımını azalttığı belirtilmiştir (İnkaya, 2019).

Glikoz karbonhidrat metabolizmasını incelemede en çok kullanılan parametrelerden biridir. Beslenme, hormonal değişimler gibi birçok faktör serum glikoz düzeyini etkileyebilir (Washington ve Hoosier., 2012). Ancak çalışmamızda serum glikoz miktarında gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık tespit edilememiştir. Tüm bu çalışmalar göz önüne alındığında endokrin bozucu kimyasalların glikoz üzerindeki etkilerinin değişken olduğunu söylemek mümkündür. Etkiler kimyasalın

yapısına, kullanılan deney hayvanına, deney hayvanının yaşına ve cinsiyetine, maruziyet süresi ve maruziyet yoluna bağlı olarak farklı olmaktadır.

Çalışmamızda serum kortikosteron seviyeleri kontrol grubunda 28,8ng/ml, 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda 31,4 ng/ml olarak tespit edilmiştir. 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubundaki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Ancak bu artış kontrol grubuna göre anlamlı bulunmasına rağmen serum glikoz seviyelerini etkileyecek düzeyde olmamıştır. Literatürdeki çalışmalar incelendiğinde endokrin bozucu kimyasalların kortikosteron düzeylerini %202 katına çıkardığı durumlarda glikoz seviyelerinin 2 katına çıktığı tespit edilmiştir (Goad et al., 2004). İnkaya ve Barlas (2022) yaptıkları çalışmada benzer şekilde kortikosteron seviyesi 7 kat arttığında glikoz seviyesinin 3 kat artış gösterdiğini belirtmişlerdir. Özetle kortikosteron ve glikoz seviyeleri birbiri ile ilişkili olmasına rağmen çalışmamızda kortikosteron seviyesinde görülen artışın glikoz seviyelerini etkileyecek düzeyde olmadığını söylemek mümkündür.

Aldosteron, adrenal korteksin zona glomerulosa bölgesinden sentezlenen su, sodyum ve potasyum homeostazının sağlanmasında rol oynayan bir mineralokortikoid hormondur (Buffolo et al., 2022). Aldosteronun en temel görevi memelilerde sıvı ve elektrolit dengesinin korunmasını sağlamaktır (İnkaya, 2019). Endokrin bozuculardan olan poliklorlu bifenil 126 ile yapılan *in vitro* çalışmalar incelendiğinde adrenal korteks hücrelerinde, artan doza bağlı olarak aldosteron seviyelerinin yükseldiği tespit edilmiştir (Liet al., 2004, Li et al., 2005). Yapılan çalışmalar sonucu endokrin bozucu kimyasallara maruz kalan sucül organizma popülasyonlarında maruz kalmayan popülasyonlar karşılaştırıldığında serum aldosteron seviyelerinde değişim olduğu gözlenmiştir (Harvey et al., 2016). Chang et al. (2020) tarafından yapılan çalışma sonucu nonilfenolün Sprague–Dawley sıçanlarında oral yolla akut maruziyetin aldosteron hormonunun salınımını arttırdığı kaydedilmiştir. Çalışmamızda aldosteron miktarının 5 ve 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama gruplarında istatistiksel olarak arttığı tespit edilmiştir. Aldosteron miktarındaki artış ise literatürdeki endokrin bozucu kimyasalların gösterdiği etkilerle örtüşmektedir.

Melatonin prepubertal dönem için son derece önemli bir hormondur. Yapılan çalışmalar sonucu yaş ilerledikçe melatonin-serum konsantrasyonunda azalma olduğu tespit edilmiştir (Çam ve Erdoğan, 2003). Melatonin sirkadiyen ritmin düzenlenmesi, bağışıklık sisteminin güçlenmesi, vücut ısısının düzenlenmesi gibi hayati önem taşıyan

fonksiyonlarının yanında gebeliğin sürdürülmesi için de çok önemli bir hormon olduğu bilinmektedir (Scarinci et al., 2019). Melatonin hormonunun organizmada azalması birçok hassas sistemi etkileyeceği için risk taşıdığı düşünülmektedir. Erkek sıçanlarda, endokrin bozucu olduğu bilinen ve ağır metal olan kadmiyum ile yapılan çalışmada melatoninin ROS uzaklaştırıcı ve hücre koruyucu etkisinin yanı sıra kadmiyumun hipofiz bezi üzerindeki olumsuz değişikliklerinden koruyucu etki gösterdiği ortaya koyulmuştur (Jime'nez-Ortega et al., 2012). Serum melatonin düzeyindeki bozulmaların kronik yorgunluğa, depresyona, üreme bozukluklarına ve hatta kansere yol açabileceğini destekler nitelikte çalışmalar yapılmıştır. Melatonin düzeyindeki azalma sonucu gonadotropin salgımında artış olacağını ve bunun da doğrudan östrojen üretiminde artışa yol açması nedeniyle insanlarda göğüs kanserine neden olduğu düşünülmektedir (Stevens et al., 2001). 2016 yılında yapılan bir çalışma sonucu melatonin hormonunun, nonilfenolün erkek sıçanların testislerinde neden olduğu oksidatif stresi antioksidan etkisi göstererek azalttığı ortaya koyulmuştur. Melatoninin özellikle endokrin bozucuların neden olduğu üreme toksisitesine karşı canlı sistemlerini korumada son derece etkili bir hormon olduğu belirtilmiştir (Tabassum et al., 2017). Melatonin değerleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında BPA (50 mg/kg/gün), 5 mg/kg/gün, 25 mg/kg/gün ve 125 mg/kg/gün nonilfenol doz gruplarında serum melatonin miktarının azaldığı tespit edilmiştir. Bu azalma tüm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur. Literatürde nonilfenolün melatonin hormonu üzerindeki değişimin doğrudan araştırıldığı bir çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle bu çalışma sonucu elde edilen bulgular özgün değer taşımaktadır. Literatürde melatoninin endokrin bozucu etkilerinden çok koruyucu etkileri üzerinde durulmuştur. Fakat serum melatonin seviyesindeki azalmanın canlı organizma için hayati öneme sahip olduğu düşünülmekte ve bu konuda daha fazla araştırmaların yapılması gerektiği önerilmektedir.

Endokrin bozucu kimyasallar dokular üzerinde patolojik etkiler meydana getirmektedir. Nonilfenol de dahil olmak üzere birçok endokrin bozucu kimyasalın özellikle karaciğer ve böbrek dokularında konjesyon ve ödemden nekroza kadar giden çeşitli derecelerde patolojik etkilere neden olduğu birçok çalışma ile kanıtlanmıştır (Desai et al., 2022). Endokrin bozucu kimyasalların hipotalamus ve epifiz üzerindeki histolojik etkilerinin incelendiği çalışma ise çok azdır. Hipofiz ise hipotalamus ve epifize göre nispeten daha fazla çalışılmıştır. Ancak her üç doku ile ilgili histolojik veriler oldukça kısıtlıdır. Çalışmamızda epifiz dokusunda patolojik bir bulguya rastlanmamıştır. Literatür

çalışmalarına bakıldığında Yeni Zelanda tavşanlarında yapılan bir çalışmada BPA maruziyetinin epifiz bezinde orta ve hafif düzeyde patolojik lezyonlar oluşmasına neden olurken hipofiz bezinde herhangi bir histopatolojik etki göstermediği belirtilmiştir (Itodo et al., 2022). Hipofiz dokusunda 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama dozunda ödem ve 125 mg/kg/gün uygulama grubunda dejenerasyon tespit edilmiştir. Endokrin bozucu olarak bilinen metil paraben ve propil parabenin birlikte etkisinin erkek sıçanlar üzerinde incelendiği bir çalışmada adenohipofiz dokusunda konjesyon, kromofob hücrelerinde Crooke hiyalin halkası ve vakuolizasyon tespit edilmiştir (İnkaya, 2019).

Hipotalamus canlılığın devamını sağlama ve homeostazı sürdürmek amacıyla afferent ve efferent nöronlara sahip hipofiz bezi aracılığıyla endokrin sisteme katkıda bulunan hayati bir organdır (Yavuz, 2015; Demir, 2019). 2014 yılında *Podarcis sicula* (İtalyan duvar kertenkelesi) ile yapılan bir çalışma sonucunda yüksek adrenal hormon seviyelerinin (özellikle kortikotropin salgılatıcı faktör) hipofiz-hipotalamus-adrenal ekseninde negatif geri besleme mekanizmasının çalışmasına engel olduğunu ve buna bağlı olarak organizmanın sistemik yanıtlarını bozduğu ortaya çıkarılmıştır (De Falco et al., 2014). Yapılan bir diğer çalışmada zebra balığı (*Danio rerio*) embriyoları üzerinde, Di(2-etilhekzil) fitalat (DEHP) ve ana metaboliti olan mono (2etilhekzil) fitalat (MEHP)'in hipotalamus hipofiz tiroit eksenine etkisi incelenmiştir. MEHP maruziyeti sonucunda total T4'ün azaldığı ve total T3'ün ise arttığı gösterilmiştir. Gen düzeyindeki çalışmalarda ise, T3 seviyesinde artışa sebep olan iyodotironin deiyodinaz 1 (DIO1), tiroit gelişimine katkıda bulunan tiroit transkripsiyon faktörü 1 (TTF-1, Nk2 homeobox 1 ve Nkx2.1) ve tiroit hormon sentezinde görev alan tiroit stimüle edici hormon (TSH) ve tiroglobulin (TG) genlerinin transkripsiyonlarında artış gözlenmiştir. Sonuç olarak, MEHP maruziyetinin hipotalamus hipofiz-tiroit ekseninde doku hasarı ile birlikte hormonal mekanizmaları etkileyerek etki ettiği belirtilmiştir (Yaman et al., 2015).

Endokrin bozucu olarak tanımlanan metil paraben ve propil parabenle yapılan çalışma sonucu adrenal dokusunda ödem, konjesyon, kortikal nodül ve fibröz doku oluşumu gözlenmiş ve bu değişikliklerin hormonal dengeyi etkileyebileceği belirtilmiştir (İnkaya ve Barlas, 2022). Göktekin ve Barlas (2008) tarafından yapılan bir çalışmada endokrin bozucu olan 4-tert-oktilfenolün 12 haftalık dişi sıçanlara 21 gün boyunca subkutan enjeksiyon yoluyla maruziyeti sonucu adrenal dokuda kortikal adenoma, hüresel dejenerasyon ve ödem tespit etmişlerdir. BPA ile maruziyetin piknotik çekirdek oluşumu, adrenal medullada genişleme ve belirgin inflamasyonları tetiklediği (lezyonlar)

gözlenmiştir. Oluşan lezyonların adrenalin, noradrenalin ve dopamin dahil olmak üzere katekolaminlerin üretimini olumsuz etkilemesine ve bu nedenle stres yanıtının değişmesine neden olacağı bildirilmiştir (Olukole et al., 2019). Yaglova et al. (2020) tarafından yapılan çalışmada elde edilen veriler, DDT maruziyetinin pubertal dönemde adrenal bezin zona fasikülata bölgesinde hücre ölümüne neden olduğu ve onarım sürecini etkilediği gösterilmiştir. Ayrıca DDT'nin zona fasciculatadaki hücre sayısını arttırdığı belirtilmiştir. Benzer şekilde herbisit olarak kullanılan paraquat ve glifosatın ROS üretimini tetikleyerek adrenal bezlerde kalıcı doku hasarına neden olduğu ortaya konulmuştur (Pontelli et al., 2019). Literatürde hipotalamus ile yapılan çalışmalar özellikle histopatolojik açıdan inceleme konusunda yetersiz kalmaktadır. Özetle nonilfenol ve diğer endokrin bozucu kimyasalların adrenal bezde patolojik etkilere neden olduğu açıktır.

Sıçanlarda karaciğer toksisitesinde ortaya çıkan başlıca bulgular konjesyon, hücresel dejenerasyon ve nekroz olarak tanımlanmıştır. Endokrin bozucu olduğu bilinen BPA'nın canlı sistemler üzerindeki etkileri kapsamlı bir şekilde araştırılmış ve birçok endokrin bozucu gibi hedef organların başlıca böbrek ve karaciğer olduğu belirtilmiştir (INFOSAN 2019). Kahverengi Hazar balığı ile yapılan çalışmada nonilfenolün karaciğer dokusunda konjesyon, sitoplazmik dejenerasyon, hipertrofi, nekroz, nükleer dejenerasyon, piknoz ve sinüzoidal genişleme gibi birçok histopatolojik bulguya neden olduğu ortaya koyulmuştur (Shirdel et al., 2020). *Cyprinus carpio var. specularis* (aynalı sazan) ile yapılan çalışmada nonilfenol ile maruziyet sonucu karaciğer dokusunda fibröz doku oluşumu, ödem ve mononükleer hücre infiltrasyonu ve aynı zamanda kan damarlarında konjesyon gözlenmiştir (Rahman et al., 2022). Sıçanlarla yapılan çalışmalar, nonilfenolün hepatositlerde hipertrofiye neden olduğu ve dokuda eozinofilik cisimler görüldüğü belirtilmiştir (Nagao et al., 2001). Sıçanlarda oral yolla alınan nonilfenolün karaciğerde hücre infiltrasyonuna neden olduğu ve yüksek dozlarda nekroza neden olduğu tespit edilmiştir (Kazemi et al., 2016). Çalışmamız sonucunda 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda konjesyon, 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda mononükleer hücre infiltrasyonu, minimal düzeyde ödem ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait karaciğer dokusunda ise minimal düzeyde mononükleer hücre infiltrasyonu bulguları tespit edilmiştir. Nonilfenolün diğer endokrin bozucu kimyasallara benzer şekilde karaciğer dokusunda toksik etkilere neden olarak doku hasarına yol açtığı tespit edilmiştir. Çalışma

sonuçlarımız literatürdeki çalışmalarını destekler niteliktedir. Kazemi ve ark. tarafından 2016'da yapılan bir çalışmada 5, 25, ve 125 mg/kg/gün dozlarında 35 gün boyunca nonilfenol uygulanan Wistar albino sıçanlarda serum alkalın fosfataz (ALP) seviyesinde artış olduğunu ve aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) enzimlerin seviyelerini değiştirmediği gösterilmiştir. Bu sonuca göre nonilfenolün karaciğer hasarına yol açabileceği de bildirilmiştir. Histolojik değerlendirmede de nonilfenolün hepatosit ölümünü artırdiği gösterilerek karaciğerde toksik bir etki yaptiğı belirtilmiştir (Kazemi et al., 2016).

Rahman et al. (2022) yaptiğı çalışmada *Cyprinus carpio var. specularis* (Aynalı Sazan)'in nonilfenole oral yolla akut maruziyeti sonucu böbrek dokusunda atrofi, tübüler dejenerasyon, mononükleer hücre infiltrasyonu, Bowman kapsülünde dejenerasyon ve konjesyona neden olduğu belirtilmiştir. Sıçanlarla 3 nesil boyunca yapılan çalışmalarda nonilfenolün oral olarak uygulamasının böbrek dokusunda eozinofilik cisimlerin oluşmasına neden olduğu belirtilmiştir (Nagao et al., 2001). Shirdel et al. tarafından 2020 yılında Kahverengi Hazar Balığı kullanılarak yapılan çalışmada nonilfenole oral yolla maruziyetin böbrek dokusunda glomerüler dejenerasyon, konjesyon, nekroz ve tübüler dejenerasyon gibi birçok histopatolojik bulguya neden olduğu ortaya koyulmuştur (Shirdel et a., 2020). Çalışmamızda 5 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda Bowman kapsülünde dejenerasyon, 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda atrofi, konjesyon ve ödem ve 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubuna ait böbrek dokusunda fibröz doku oluşumu gibi bulgularımız literatürde belirtilen çalışma sonuçlarına benzerlik göstermektedir. Bulgularımızda nonilfenolün böbrek üzerinde toksik etkilere neden olarak doku hasarına yol açtığı tespit edilmiştir.

Doku homeostazisinin sağlanması için apoptoz yani programlı hücre ölümü ve hücre proliferasyonunun dengede olması gerekir. Apoptoz doğal bir mekanizma olmasına karşın bazı hastalıkların gelişiminde rol oynadığı ve dışarıdan alınan toksik maddelerin apoptozu tetikleyebileceği bilinmektedir (Akşit et al., 2008).

Apoptoz hücre ölümü sinyallerinin alınmasıyla başlar, alınan sinyaller kaspazları aktive eder ve apoptoz gerçekleşir. Apoptoz sırasında hücrenin komşu hücrelerle bağlantısı kesilir, hücre küçülür ve sitoplazma yoğunlaşmaya başlar, hücre içine Kalsiyum girişinin başlamasıyla birlikte hücre çekirdeğinde kromatin iplikler yoğunlaşır ve piknotik çekirdek görünümlü oluşur. Bunun ardından parçalanma gerçekleşir. Parçalanma

sonrasında apoptotik cisimcikler oluşur. Oluşan apoptotik cisimler makrofajlar veya komşu hücreler tarafından fagosite edilir (Canpolat, 2016). Apoptoz doğal bir mekanizma olmasına rağmen bazen komşu hücrelerde nekrozun başlamasına neden olabilir (Akşit et al., 2008).

Apoptozun düzenlenmesinde hücre organelleri ve bir dizi protein ailesi rol oynar. En önemli role sahip moleküller Bcl-2 ailesi proteinleridir. Bu proteinlerin bir kısmı apoptozun başlamasına neden olurken (Bax, Bad, Bak, Bid, BclXs, Bim, Noxa ve Puma) bir kısmı ise apoptozu önleyici (Bcl-2, Bcl-Xl ve Mcl-1) etki gösterir. Bax ve Bcl-2 proteinleri arasındaki denge apoptozun gerçekleşip gerçekleşmeyeceğini belirler. Gerçekleşmesi için Bax düzeyinin fazla olması gerekir (Adams ve Cory, 2001, Spierings et al., 2004). Ayrıca dış etkenler (radyasyon, UV, ROS'un hücre içindeki artışı, çeşitli ilaç ve endojenler) de apoptozun başlamasına neden olabilir (Danial ve Korsmeyer, 2004, Baines et al., 2010). Hücre içine apoptoz başlatıcı bir sinyal alındıktan sonra Bcl-2 inaktive edilir, proapoptotik proteinlerden olan Bax ve Bak aktive edilir. Bu uyarı mitokondri membran bütünlüğünü bozarak mitokondriden sitokrom-c, AIF, Smac ve Endonükleaz-G salınımını indükler. Sitokrom-c, APAF-1 ve kaspaz-9 ile birleşerek apoptozom adı verilen hücre ölümünün gerçekleşmesini sağlayan kaspaz şelalesini aktive eder (Canpolat, 2016). Yapılan çalışmalar sonucu erkek sıçanlarda oral yolla BPA ile maruziyeti sonucu testis hücrelerinde kaspaz-9 ve kaspaz-3 aktivitesini arttırarak apoptozu tetiklediği kaydedilmiştir (Wang et al., 2009). Benzer şekilde nonilfenol ile yapılan bir çalışma sonucunda da nonilfenolün doğrudan kaspaz-3 aktivitesini etkileyerek apoptozu neden olduğu bildirilmiştir. Ayrıca mitokondri membranında da iyon dengesini bozduğu belirtilmiştir (Yao et al., 2006). TUNEL yöntemi kullanılarak yapılan bir çalışmada 125 mg/kg/gün ve 250 mg/kg/gün dozlarında 50 gün oral gavaj yolu ile nonilfenole maruz bırakılan 28-30 gün yaş aralığındaki erkek sıçanların seminifer tübüllerinde kontrol grubuna oranla apoptotik hücrelerde artış görülmüştür (Han et al., 2014).

Çalışma sonucu elde edilen bulgular pozitif kontrol grubu olarak belirlenen 50 mg/kg/gün BPA uygulama grubu ile karşılaştırıldığında %vücut ağırlığı değişiminde 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda BPA benzeri bir etki görülmüştür. BPA'nın melatonin değerlerini tüm doz gruplarına göre çok daha fazla oranda azalttığı söylenebilir. Serum aldosteron seviyeleri incelendiğinde 25mg/kg/gün ve 5mg/kg gün nonilfenol uygulama grubuna oranla BPA'nın çok daha yüksek bir artışa sebep olduğu görülmektedir. Hormon

analizleri açısından değerlendirildiğinde nonilfenolün BPA kadar olmamakla birlikte bu sistemler üzerinde etkili olacağı fikri öne sürülmektedir. Yapılan histopatolojik analizlerde BPA uygulama grubu benzeri patolojik bulgular gözlenmiştir.

Çalışma sonuçları birlikte değerlendirildiğinde nonilfenolün HPA eksenini üzerinde olumsuz etkileri olduğu tespit edilmiştir. Çalışmamızda moleküler düzeyde bir analiz yapılmadığı için hormonal düzeydeki değişimlerin tam olarak hangi mekanizmalardan gerçekleştiği tespit edilememiştir. Ancak nonilfenolün melatonin hormonu ve epifiz üzerindeki etkileri ilk defa bu tez kapsamında araştırılmıştır. Buna ilave olarak nonilfenolün toksik etkileri canlı organizma için hayati öneme sahip olan HPA eksenini üzerinde yeterli araştırılmadığı için çalışmamız kapsamında elde edilen bulgular literatürdeki bu eksikliği giderici niteliktedir. Bu tez kapsamında elde edilen bulgulardan yola çıkarak moleküler düzeyde ileri çalışmaların yapılması önerilmektedir. Ayrıca endokrin bozucular, insanların ve hayvanların sağlığı için ciddi bir tehdit ve halk sağlığı için giderek büyüyen bir endişe yaratmaktadır. Bu, maruziyeti azaltmak için toplumla kapsamlı iletişime geçmek ve buna ek olarak ilgili kurumlar tarafından koruyucu ve önleyici tedbirler alınmasını sağlamak gerektiği belirtilmektedir.

6. SONUÇ

1. Literatürde nonilfenolün melatonin hormonu üzerindeki olumsuz etkilerinin incelendiği bir çalışmaya rastlanmamıştır. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlarda vücudumuzda başta oksidatif stres olmak üzere birçok alanda koruyucu etki gösteren melatonin hormonunun serum düzeylerini azalttığı tespit edilmiştir. Melatonin hormonu, birçok kanser türüne karşı ROS oluşumunu engelleyerek ve doku hasarının önüne geçerek koruyucu etki göstermektedir. 5-25 ve 125 mg/kg/gün uygulama gruplarında serum melatonin miktarının azalması canlı sistemlerinde melatoninin koruyucu etkilerini azaltabileceği düşünülmektedir. Fakat bu enzim sistemlerinin karmaşıklığı nedeniyle moleküler mekanizması detaylı olarak araştırılmalıdır.

2. Yapılan çalışmada % vücut ağırlık artışı sonuçları karşılaştırıldığında, BPA (50 mg/kg/gün) ve 125 mg/kg/gün doz gruplarındaki ağırlık artışının kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı derecede azaldığı saptanmıştır. Gerçek ve rölatif beyin ağırlığında 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu, karaciğer ağırlıklarında da aynı şekilde 5 ve 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda istatistiksel olarak bir artış olduğu ve bu artışın anlamlı bulunduğu, 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda ise böbrek ağırlıklarında anlamlı bir artış olduğu tespit edilmiştir. Serum ACTH değerleri 5 ve 25 mg/kg/gün doz gruplarında anlamlı olarak artmış, serum aldosteron değerleri 5 mg/kg/gün ve 25 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda anlamlı olarak artmış ve serum kortikosteron miktarı ise 125 mg/kg/gün nonilfenol uygulama grubunda anlamlı olarak artmıştır. Fakat bu artışın serum glikoz düzeyini etkileyecek boyutta olmadığı tespit edilmiştir. Histopatolojik bulgular değerlendirildiğinde nonilfenolün tüm uygulama doz gruplarında hipotalamus, hipofiz, adrenal bezler, karaciğer ve böbrek dokularında histopatolojik bulgulara neden olduğu fakat epifiz bezinde patolojik bir bulguya neden olmadığı sonucuna ulaşılmıştır.

3. Literatürdeki çalışmalara göre nonilfenolün doğrusal bir doz-cevap ilişkisi yoktur. Çalışmamızdan elde edilen sonuçlarda da etkilerin doğrusal olmadığı tespit edilmiştir. Endokrin bozucu kimyasalların doz-cevap ilişkisine dair iki görüş mevcuttur. Endokrin bozucu kimyasalların doğrusal olmayan doz-cevap ilişkilerinin yeterli sayıda çalışma olmaması ve doz aralıklarının oldukça geniş seçilmesinden kaynaklandığını düşünen bir görüş mevcuttur. EFSA'nın da katıldığı bir diğer görüş ise endokrin bozucu kimyasalların doğrusal olmayan doz-cevap ilişkisinin birçok çalışma ile doğrulandığı ve bu kapsamda daha fazla çalışma yapılmasının gerekli ve değerli olduğudur.

4. Nonilfenolün tüm uygulama gruplarında karaciğer ve böbrek dokularında apoptoza neden olduğu tespit edilmiştir.

6. KAYNAKLAR

- Ackermann, G. E., Schwaiger J., Negele R. D. and Fent K. (2002). "Effects of long-term nonylphenol exposure on gonadal development and biomarkers of estrogenicity in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)." *Aquatic toxicology* 60(3-4): 203-221.
- Adams J.M., Cory S.(2001). Life or death decisions by the Bcl-2 family. *Trends Biochem Sci* 2001; 26: 61-6.
- Ademollo N., Ferrara F., Delise M., Fabietti F. and Funari E. (2008). "Nonylphenol and octylphenol in human breast milk." *Environment International* 34(7): 984-987.
- Ahmed R. (2017). "Endocrine disruptors; possible mechanisms for inducing developmental disorders." *International journal of basic science in medicine (IJBSM)* 2(4): 157-160.
- Akarca-Dizakar, S., Erdoğan D., Peker T., Coşkun Akçay N., Türkoğlu İ., Eşmekaya M. and Ömeroğlu S. (2020). "Effects of co-administered melatonin, fructose and bisphenol A (BPA) on rat epididymis and sperm characteristics." *Biotechnic & Histochemistry* 95(1): 18-26.
- Akşit H., Bildik A. (2008). ‘Apoptozis’ *YYU Vet Fak Derg.*; 19(1): 55-63.
- Aleandri, V., Spina V. and Morini A. (1996). "The pineal gland and reproduction." *Human reproduction update* 2(3): 225-235.
- Andiran F. "Adrenal tümörler." 2016 Araujo, F. G., G. F. Bauerfeldt and Y. P. Cid (2018). "Nonylphenol: Properties, legislation, toxicity and determination." *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 90(2): 1903-1918.
- Aydemir D., Barlas N., "Impact of the Di (2-ethylhexyl) phthalate administration on trace element and mineral levels in relation of kidney and liver damage in rats." *Biological trace element research* 186.2 (2018): 474-488.
- Aydoğan, M., Korkmaz A., Barlas N. and Kolankaya D. (2008). "The effect of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced brain damages of male rats." *Toxicology* 249(1): 35-39.

- Aydoğan M., Korkmaz A., Barlas N. and Kolankaya D. (2010). "Pro-oxidant effect of vitamin C coadministration with bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol on the reproductive tract of male rats." *Drug and chemical toxicology* 33(2): 193-203.
- Baines C.P. (2010). Role of the mitochondrion in programmed necrosis. *Front Physiol* 1: 156.
- Bakke D. (2003). Human and ecological risk assessment of nonylphenol polyethoxylate-based (NPE) surfactants in Forest Service herbicide applications, USDA Forest Service, Pacific Southwest Region (Region 5).
- Bang, D. Y., Kyung M., Kim M. J., Jung B. Y., Cho M. C., Choi S. M., Kim Y. W., Lim S. K., Lim D. S. and Won A. J. (2012). "Human risk assessment of endocrine-disrupting chemicals derived from plastic food containers." *Comprehensive Reviews in Food Science and Food Safety* 11(5): 453-470.
- Baquedano, E., García-Cáceres C., Diz-Chaves Y., Lagunas N., Calmarza-Font I., Azcoitia I., Garcia-Segura L. M, Argente J., Chowen J. A. and Frago L. M. (2011). "Prenatal stress induces long-term effects in cell turnover in the hippocampus-hypothalamus-pituitary axis in adult male rats." *PloS one* 6(11): e27549.
- Boussery K., Belpaire F. M. and Van de Voorde J. (2008). *Physiological Aspects Determining the Pharmacokinetic Properties of Drugs. The Practice of Medicinal Chemistry*, Elsevier: 635-654.
- Bowers M. and Yehuda (R.2016). "Neuroendocrinology of posttraumatic stress disorder: Focus on the HPA axis." *Stress: Neuroendocrinology and neurobiology: Handbook of stress series*: 165-169.
- Buffolo M., Tetti M., Mulatero P. and Monticone S. (2022). "Aldosterone as a Mediator of Cardiovascular Damage" *Hypertension* Volume 79, Issue 9, September 2022, Pages 1899-1911
- Canpolat F. (2016). "Hücre Siklusu ve Apoptoz", *Güncel Dermatoloji Dergisi*, Cilt 1 Sayı 1 11-17

- Capoldo F., Gay F., Valiante S., De Falco M., Sciarrillo R., Maddaloni M., Laforgia V. Comparative Biochemistry and Physiology, Part C ‘‘ Endocrine-disrupting effects of nonylphenol in the newt, Triturus carnifex (Amphibia, Urodela)’’
- Casals-Casas, C. and Desvergne B. (2011). "Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption."
- Chang, L.-L., Alfred W.-S. Wun and Wang P. S. (2010). "Effects and Mechanisms of Nonylphenol on Corticosterone Release in Rat Zona Fasciculata-Reticularis Cells." Toxicological Sciences 118(2): 411-419.
- Cheng, Y.C., Chen H.-W., Chen W.-L, Chen C.-Y. and Wang G.-S. (2016). "Occurrence of nonylphenol and bisphenol A in household water pipes made of different materials." Environmental monitoring and assessment 188(10): 562.
- Chlubek D. and Sikora M. (2020). "Fluoride and Pineal Gland." Applied Sciences 10(8): 2885.
- Chrousos G. P. (1995). "The Hypothalamic–Pituitary–Adrenal Axis and Immune-Mediated Inflammation." New England Journal of Medicine 332(20): 1351-1363.
- Coşkun N. (2020) ‘‘Sıçanlarda bisfenol A ile indüklenen polikistik over sendromuna karşı floretinin koruyucu etkilerinin araştırılması’’ Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Crevet L. and Vanacker J.-M. (2020). "Regulation of the expression of the estrogen related receptors (ERRs)." Cellular and Molecular Life Sciences: 1-7.
- Çam A. and Erdoğan M. F. (2003). "Melatonin." ANKARA ÜNİVERSİTESİ TIP FAKÜLTESİ MECMUASI Cilt 56, Sayı 2, 2003
- Çetinkaya S. (2009). "Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri/Endocrine disruptors and their effects on puberty." Dicle Tip Dergisi 36(1): 59.
- Danial N.N., Korsmeyer S.J. (2004) Cell death: critical control points. Cell,116: 205-19.
- De Coster S. and Van Larebeke N. (2012). "Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action." Journal of environmental and public health 2012.

- De Falco M., Sellitti A., Sciarrillo R., Capaldo A., Valiante S., Iachetta G., Forte M. and Laforgia V. (2014). "Nonylphenol effects on the HPA axis of the bioindicator vertebrate, *Podarcis sicula* lizard." *Chemosphere* 104: 190-196.
- de Souza Monteiro, C., de Sousa E., Xavier B., Caetano J. P. J. and Marinho R. M. (2020). "A critical analysis of the impact of endocrine disruptors as a possible etiology of primary ovarian insufficiency." *JBRA assisted reproduction* 24(3): 324.
- Demir İ. (2019). Sıçanlarda intraserebroventriküler salusin- β infüzyonunun hipotalamus-hipofiz-testiküler aks üzerindeki etkileri, İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Dunn A. J. (2007). "The HPA axis and the immune system: a perspective." *NeuroImmune Biology* 7: 3-15.
- Duprés M. (2020). Endocrine disrupting chemicals in cotton lingerie, Hochschule Niederrhein.
- Dutt M. and Jialal I. (2020). Physiology, Adrenal Gland. StatPearls [Internet], StatPearls Publishing.
- ECHA, E. (2015). Committee for Risk Assessment (RAC) Committee for Socio-economic Analysis (SEAC) Background document to the Opinion on the Annex XV dossier proposing restrictions on Perfluorooctanoic acid (PFOA), PFOA salts and PFOA-related substances.
- Evans, L. S., Moyer S. A. and Moore J. A. (1983). Bibliography of research reports and publications issued by the Toxic Hazards Division, 1957-1982, AIR FORCE AEROSPACE MEDICAL RESEARCH LAB WRIGHT-PATTERSON AFB OH.
- Fendoğlu B. Y., Koçer-Gümüşel B. and P. Erkekoğlu "Endokrin Bozucu Kimyasal Maddelere ve Etki Mekanizmalarına Genel Bir Bakış." *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* 39(1): 30-43.
- Goad RT, Goad J.T., Atieh B.H., et al. (2004) Carbofuran-induced endocrine disruption in adult male rats. *Toxicology Mechanisms and Methods* 14(4): 233–239.
- Gore A. C. (2010). "Neuroendocrine targets of endocrine disruptors." *Hormones* 9(1): 16-27.

- Göktekin E., Barlas N. (2008). "Histopathological effects of 4-tert-octylphenol treatment through the pregnancy period, on the pituitary, adrenal, pancreas, thyroid and parathyroid glands of offspring rats at adulthood" *Environmental Toxicology and Pharmacology* 26 (2008) 199–205
- Guenther, K., Kleist E. and Thiele B. (2006). "Estrogen-active nonylphenols from an isomer-specific viewpoint: a systematic numbering system and future trends." *Analytical and bioanalytical chemistry* 384(2): 542-546.
- Hampl, R., Kubátová J. and Stárka L. (2016). "Steroids and endocrine disruptors—history, recent state of art and open questions." *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 155: 217-223.
- Han X.D., Tu Z. G., Su Y. G., Xu N.S., Li Y. W., Ya N.K., Chen J. X. (2004). "The toxic effects of nonylphenol on the reproductive system of male rats" *Reproductive Toxicology* Volume 19, Issue 2, December 2004, Pages 215-221
- Hardeland, R., Pandi-Perumal S. and Cardinali D. P. (2006). "Melatonin." *The international journal of biochemistry & cell biology* 38(3): 313-316.
- Harvey P. W., Everett D. J. and Springall C. J. (2007). "Adrenal toxicology: a strategy for assessment of functional toxicity to the adrenal cortex and steroidogenesis." *Journal of Applied Toxicology: An International Journal* 27(2): 103-115.
- Harvey P. W. (2014). "Adrenocortical endocrine disruption" *Journal of Steroid Biochemistry & Molecular Biology*
- Heaney, J. (2013). Hypothalamic-Pituitary-Adrenal Axis. *Encyclopedia of Behavioral Medicine*. M. D. Gellman and J. R. Turner. New York, NY, Springer New York: 1017-1018.
- Heindel, J. J., Newbold R. and Schug T. T. (2015). "Endocrine disruptors and obesity." *Nature Reviews Endocrinology* 11(11): 653-661.
- Hong, Y., C. Feng, Z. Yan, Y. Wang, Liu D., Liao W., and Bai Y., (2020). "Nonylphenol occurrence, distribution, toxicity and analytical methods in freshwater." *Environmental Chemistry Letters*: 1-12.

- Hu H., Ge H., Yun L., Yi L., Shao-Chen X., Jun-Li S. WangMa (2022). "Exposure to nonylphenol impairs oocyte quality via the induction of organelle defects in mice" *Ecotoxicology and Environmental Safety* 230 113136.
- Inkaya, E. N., (2019). "Erkek sıçanlarda metil paraben ve propil parabenin birlikte etkisinin hipofiz-adrenal ekseninde incelenmesi."Hacettepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi.
- Inkaya E. N., Barlas N. (2022). "Investigation of combined effects of propyl paraben and methyl paraben on the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in male rats" *Toxicology and Industrial Health* 2022, Vol. 38(10) 687–701
- International Food Safety Authorities Network (INFOSAN), 'BISPHENOL A (BPA) - Current state of knowledge and future actions by WHO and FAO', no. November, pp. 1–6, 2009
- Itodo P., Peter I., Tagang R., Lushaikyaa A., Kelvin A., Stephen J., Kenneth K. Shettima A., Mohammad I., Abdullahi R. (2022)' Azanza garckeana ameliorates Bisphenol A-induced reproductive toxicities in rabbit bucks' *Theriogenology* 150-165
- Jakoi E. R. (2004). "Hypothalamus and pituitary gland." *Introductory Human Physiology* Ph.D
- Janz D. M. (2000). *Endocrine system. The laboratory fish*, Elsevier: 189-217.
- Jime'nez-Ortega, Barquilla P.C. , Ferná'ndez-Mateos P. , Cardinali D. P., Esquifino A.I.(2012) *Free Radical Biology and Medicine* Cadmium as an endocrine disruptor: Correlation with anterior pituitary redox and circadian clock mechanisms and prevention by melatonin
- Kabir E. R., Rahman M. S. and Rahman I. (2015). "A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health." *Environmental toxicology and pharmacology* 40(1): 241-258.
- Kahn, L. G., Philippat C., Nakayama S. F., Slama R.and Trasande L. (2020). "Endocrine-disrupting chemicals: implications for human health." *The Lancet Diabetes & Endocrinology* 8(8): 703-718.

- Kammann U., Vobach M., Wosniok W., Schäffer and Telscher A. (2009). "Acute toxicity of 353-nonylphenol and its metabolites for zebrafish embryos." *Environmental Science and Pollution Research* 16(2): 227.
- Kappers, J.A. (1976). The mammalian pineal gland, a survey. *Acta neurochir* 34, 109–149
- Karabulut G., Barlas N., (2022). "Endocrine adverse effects of mono(2-ethylhexyl) phthalate and monobutyl phthalate in male pubertal rats" *Arhiv za higijenu rada i toksikologiju* 73.4 (2022): 285-296.
- Karakaş, C. (2014). Substance flow analysis of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in Turkey, Middle East Technical University.
- Kazemi, S., Kani S. N. M., Ghasemi-Kasman M., Aghapour F., Khorasani H. and Moghadamnia A. A. (2016). "Nonylphenol induces liver toxicity and oxidative stress in rat." *Biochemical and biophysical research communications* 479(1): 17-21.
- Desai K., Bhavesh J., Patel U.D., Mayank H., Chauhan R. S. and Kachot R. J. "Evaluation of 4-nonylphenol induced oxidative stress in eye of adult male zebrafish" *The Pharma Innovation Journal* 2022; SP-11(12): 822-827 2022
- Khosla M. (2020). Unit-6 The Endocrine System, Indira Gandhi National Open University, New Delhi.
- Kim S. (2014). "Nonylphenol." *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A* Volume 78, Issue 8
- Klopčič, I., Kolšek and Dolenc M. S. (2015). "Glucocorticoid-like activity of propylparaben, butylparaben, diethylhexyl phthalate and tetramethrin mixtures studied in the MDA-kb2 cell line." *Toxicology letters* 232(2): 376-383.
- Li L.A, Wang P.W., Chang L.W., Polychlorinated biphenyl 126 stimulates basal and inducible aldosterone biosynthesis of human adrenocortical H295R cells, *Toxicology Applied Pharmacology*, 195 (2004) 92-102.
- Li L.A., Wang P.W., Chang L.W., PCB126 induces differential changes in androgen, cortisol, and aldosterone biosynthesis in human adrenocortical H295R cells, *Toxicological Science*, 85 (2005) 530-440.

- Lauretta, R., Sansone A., Sansone M., Romanelli F. and Appetecchia M. (2019). "Endocrine Disrupting Chemicals: Effects on Endocrine Glands." *Frontiers in Endocrinology* 10(178).
- Li, S., You M., Chai W., Xu Y. and Wang Y. (2019). "Developmental exposure to nonylphenol induced rat axonal injury in vivo and in vitro." *Archives of toxicology* 93(9): 2673-2687.
- Li X., Li L., Chen X., Li X., Wang Y., Zhu Q., Gao-Smith F. and Ge R.-S. (2020). "Triphenyltin chloride reduces the development of rat adrenal cortex during puberty." *Food and Chemical Toxicology*: 111479.
- Lin H.-C., Li H.-Y., Wu Y.-T., Tsai Y.-L., C.-Y. Chuang, Lin C.-H. and Chen W.-Y. (2020). "Bayesian inference of nonylphenol exposure for assessing human dietary risk." *Science of The Total Environment* 713: 136710.
- Lyons, F. M. and Meeran K. (1997). "The physiology of the endocrine system." *International anesthesiology clinics* 35(4): 1-21.
- Mao, Z., Zheng X.-F., Zhang Y.-Q., Tao X.-X., Li Y. and Wang W. (2012). "Occurrence and biodegradation of nonylphenol in the environment." *International journal of molecular sciences* 13(1): 491-505.
- Minguini, I. P., Luquetti C. M., Baracat M. C. P., Maganhin C.C., Nunes C. d. O., Simões R. S., Veiga E. C. d. A, Cipolla J., Baracat E. C. and Soares J. M (2019). "Melatonin effects on ovarian follicular cells: a systematic review." *Revista da Associação Médica Brasileira* 65(8): 1122-1127.
- Miyagawa S., Sato T. and Iguchi T. (2016). Nonylphenol. *Handbook of Hormones*, Elsevier: 573-574.
- Monneret C. (2017). "What is an endocrine disruptor?" *Comptes rendus biologies* 340(9-10): 403-405.
- Nagao, T., Wada K., Marumo H., Yoshimura S. and Ono H. (2001). "Reproductive effects of nonylphenol in rats after gavage administration: a two-generation study." *Reproductive toxicology* 15(3): 293-315.

- Noorimotlagh Z., Mirzaee S. A., Ahmadi M., Jaafarzadeh N. and Rahim F. (2018). "The possible DNA damage induced by environmental organic compounds: The case of Nonylphenol." *Ecotoxicology and environmental safety* 158: 171-181.
- Nuñez P., Fernandez T., García-Arévalo M., Alonso-Magdalena P., Nadal A., Perillan C. and Arguelles J. (2018). "Effects of bisphenol A treatment during pregnancy on kidney development in mice: a stereological and histopathological study." *Journal of Developmental Origins of Health and Disease* 9(2): 208-214.
- Olukole S. G., Lanipekun D. O., Ola-Davies E. O. and Oke B. O. (2019). "Melatonin attenuates bisphenol A-induced toxicity of the adrenal gland of Wistar rats." *Environmental Science and Pollution Research* 26(6): 5971-5982.
- Othman, A., Edrees G., El-Missiry M. A., Ali D. A., Aboel-Nour M. and Dabdoub B. R. (2016). "Melatonin controlled apoptosis and protected the testes and sperm quality against bisphenol A-induced oxidative toxicity." *Toxicology and Industrial Health* 32(9): 1537-1549.
- Özdemir E., Barlas N. and Çetinkaya M. (2018) Assessing the antiandrogenic properties of propyl paraben using the Hershberger bioassay. *Toxicology Research* 7(2):235–243.
- Özkara H. (2004). "Santral Kontrolü." İstanbul Üniversitesi Tıp Fakültesi, Üroloji Anabilim Dalı
- Parent A. S., Naveau E., Gerard A., Bourguignon J.-P. and Westbrook G. L. (2011). "Early developmental actions of endocrine disruptors on the hypothalamus, hippocampus, and cerebral cortex." *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part B* 14(5-7): 328-345.
- Pontelli, R. C., Souza M. C., Fantucci M. Z., de Andrade and Rocha E. M. (2019). "The role of endocrine disruptors in ocular surface diseases." *Medical Hypotheses* 122: 157-164.
- Porter A. and Hayden N. (2002). "Nonylphenol in the environment: a critical review." See <http://www.emba.uvm.edu/wnhayden/npreview.pdf>.
- Rahman M., Shereen M., Tarek M., Nesma K., Ibrahim R. D., Rania M., Dina G., Tamer M. M., Hebah A. I., Mahbou I. (2022). 'Palliative effect of dietary common sage

leaves against toxic impacts of nonylphenol in Mirror carp (*Cyprinus carpio* var *specularis*): Growth, gene expression, immune-antioxidant status, and histopathological alterations” *Aquaculture Report* 25 101200

Reiter, R. J., Rosales-Corral S. and Sharma R. (2020). "Circadian disruption, melatonin rhythm perturbations and their contributions to chaotic physiology." *Advances in medical sciences* 65(2): 394-402.

Rocha, C., Rato L., Martins A., Alves and Oliveira P. (2015). "Melatonin and male reproductive health: relevance of darkness and antioxidant properties." *Current molecular medicine* 15(4): 299-311.

Samuel, D. S., Duraisamy R. and Kumar M. (2019). "Pineal gland-A mystic gland." *Drug invention today* 11(1).

Saravanan, M., Nam S.-E., Eom H.-J., Lee and Rhee J.-S. (2019). "Long-term exposure to waterborne nonylphenol alters reproductive physiological parameters in economically important marine fish." *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology* 216: 10-18.

Sargis, R. M. (2015). "Metabolic disruption in context: clinical avenues for synergistic perturbations in energy homeostasis by endocrine disrupting chemicals." *Endocrine Disruptors* 3(1): e1080788.

Scarinci, E., Tropea A., Notaristefano G., Arena V., Alesiani O., Fabozzi S., Lanzone and Apa R. (2019). "“Hormone of darkness” and human reproductive process: direct regulatory role of melatonin in human corpus luteum." *Journal of endocrinological investigation* 42(10): 1191-1197.

Schaeffer HJ, Sirotkin AV. (1997). “Melatonin and serotonin regulate the release of insulin-like growth factor-I, oxytocin and progesterone by cultured human granulosa cells.” *Exp Clin Endocrinol Diabetes.*;105(2):109-12.

Schug, T. T., Janesick A., Blumberg B. and Heindel J. J (2011). "Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility." *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology* 127(3-5): 204-215.

- Seneff, S., Swanson N. and Li C. (2015). "Aluminum and Glyphosate Can Synergistically Induce Pineal Gland Pathology: Connection to Gut Dysbiosis and Neurological Disease." *Agricultural Sciences* 6(01): 42.
- Sharma M. and Chadha P. (2018). "Toxicity of non-ionic surfactant 4-nonylphenol an endocrine disruptor: A review." *International Journal of Fisheries and Aquatic Studies* 6(2): 190-197.
- Sharma, M. and Chadha P. (2020). "From Genotoxicity Induction to Recovery in Different Organs in Fish *Channa punctatus* after Sub Chronic Exposure to 4-Nonylphenol." *Toxicology International* 27(1&2): 8-13.
- Shirdel S., Kalbassi M. R., Esmailbeigi M., Tinous B., ‘’ Disruptive effects of nonylphenol on reproductive hormones, antioxidant enzymes, and histology of liver, kidney and gonads in Caspian trout smolts’’ *Comparative Biochemistry and Physiology, Part C* 232 108756
- Smith, S. M. and Vale W. W. (2006). "The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress." *Dialogues in clinical neuroscience* 8(4): 383-395.
- Soares, A., Guieysse B., Jefferson B, Cartmell E. and Lester J. (2008). "Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters." *Environment international* 34(7): 1033-1049.
- Spierings D.C., de Vries E. G., Vellenga E., (2004). Tissue distribution of the death ligand TRAIL and its receptors. *J Histochem Cytochem*, 52: 821-31.
- Spiga, F., Walker J. J., Terry J. R and Lightman S. L. (2011). "HPA axis-rhythms." *Comprehensive Physiology* 4(3): 1273-1298.
- Stevens S., Mark S. Rea (2001). ‘’Light in the built environment: potential role of circadian disruption in endocrine disruption and breast cancer’’ *Cancer Causes and Control* 12: 279±287, 2001
- Sukuroglu, A.A., Battal D., Kocadal, K. et al. (2022) Biomonitoring of bisphenol A, 4-nonylphenol, and 4-t-octylphenol in Turkish population: exposure and risk assessment. *Environ Sci Pollut Res* 29, 26250–26262

- Sweeney, B. and Currie J. (2002). "European Union Risk Assessment Report: 4-Nonylphenol (Branched) and Nonylphenol." Office for official publications of the European Communities, Luxembourg 2002.
- Şener, G. (2010). "Karanlığın hormonu: melatonin." *Marmara Eczacılık Dergisi* 14: 112-120
- Tabassum, H., Parvez S. and Raisuddin S. (2017). "Melatonin abrogates nonylphenol-induced testicular dysfunction in Wistar rats." *Andrologia* 49(5): e12648.
- Tekin S., (2011). Erkek sıçanlarda intraserebroventriküler apelin uygulamasının hipotalamus-hipofiz-gonadal eksen üzerindeki etkileri, İnönü Üniversitesi.
- Tsigos, C. and Chrousos G. P. (2002). "Hypothalamic–pituitary–adrenal axis, neuroendocrine factors and stress." *Journal of psychosomatic research* 53(4): 865-871.
- Uysal, Y. (2017). "Çevrede nonilfenol; oluşumu, akıbeti, toksisitesi ve atıksularda arıtımı." *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Mühendislik Bilimleri Dergisi* 20(4): 125-133.
- Ünlühizarci K., and Tanriverdi F. (2006). "Hipotalamus-Hipofiz Aks Fizyolojisi." *Türkiye Klinikleri Dahili Tıp Bilimleri Dergisi* 2(37): 1-4.
- Üstündağ, H., Şentürk E. and Gül M. "Melatonin and Hyperthyroidism." 2020
- Wang P., Luo C., QianyuanLi Q., Yong S. C., HuLi H., (2009). "Mitochondrion-mediated apoptosis is involved in reproductive damage caused by BPA in male rats" *Environmental Toxicology and Pharmacology* 38, 1025–1033
- Warhurst A. M. (1995). "An Environmental Assessment of Alkylphenol Ethoxylates and Alkylphenols." *Friends of the Earth*: 26-28.
- Washington G., Hoosier G.V., (2012) "The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents", Chapter 3, 57-115, 2012.
- Webley G.E, Luck M.R., Hearn J.P., (1988). "Stimulation of progesterone secretion by cultured human granulosa cells with melatonin and catecholamines". *J Reprod Fertil.* ;84(2):669-77

- Supornsilchai V., Soder O., Svechnikov K., 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.
- Yaglova N., Obernikhin S., Nazimova S., Yaglov V., Kosmachevskaya O. and Topunov A. (2020). "Changes in Transcriptional Regulation of Postnatal Morphogenesis of the Adrenal Zona Fasciculata Caused by Endocrine Disruptor Dichlorodiphenyltrichloroethane." *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*: 1-5.
- Yaman Ü., Erkekoğlu P. and Gümüsel B. K. "Endokrin Bozucu Kimyasal Maddeler ve Tiroid Üzerine Etkileri: Poliklorlu Bifeniller, Ftalat ve Bisfenol A." *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi* (1): 1-19. 2015
- Yang, M., Park M. S. and Lee H. S. (2006). "Endocrine disrupting chemicals: human exposure and health risks." *Journal of Environmental Science and Health Part C* 24(2): 183-224.
- Yao G., Yang L., HuJun Y., Junfeng L., LiangYayi L., (2006). "Nonylphenol-induced thymocyte apoptosis involved caspase-3 activation and mitochondrial depolarization" *Molecular Immunology* 43 (2006) 915–926
- Yavuz A. Ö., (2015). "Hipofiz Adenomlu Hastalarda Klinik Laboratuvar, Tani Ve Tedavinin Retrospektif Olarak Değerlendirilmesi."
- Zagrean, A., Chitimus D. M., Badiu C., Panaitescu A. M., Peltecu G. and Zagrean L. (2020). *The Pineal Gland and its Function in Pregnancy and Lactation. Maternal-Fetal and Neonatal Endocrinology*, Elsevier: 15-37.
- Zemheri F. and Cevdet U."Endokrin bozucu kimyasallar: Nonilfenol ve Bisfenol A." *Marmara Fen Bilimleri Dergisi* 30(1): 71-76. 2018

EKLER