



**RATLARDA BİSFENOL A İLE OLUŞTURULAN
TESTİKÜLER TOKSİKASYON
ÜZERİNE HESPERİDİNİN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

SAMET TEKİN

Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı

Tez Danışmanı

Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ

Doktora Tezi-2023

**T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**RATLARDA BİSFENOL A İLE OLUŞTURULAN
TESTİKÜLER TOKSİKASYON ÜZERİNE
HESPERİDİNİN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Samet TEKİN

**Veterinerlik Fizyolojisi Anabilim Dalı
Doktora Tezi**

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ**

**ERZURUM
2023**

İÇİNDEKİLER

İÇİNDEKİLER	III
TEŞEKKÜR	VII
ÖZET	VIII
ABSTRACT.....	IX
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	X
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	XII
TABLolar DİZİNİ	XV
1. GİRİŞ	16
2. GENEL BİLGİLER.....	20
2.1. Erkek Üreme Sistemi	20
2.1.1. Testislerin Yapısı ve Fonksiyonel Organizasyonu	20
2.1.1.1. Spermatogenezis	23
2.1.2. Epididimis.....	24
2.1.3. Duktus Deferens veya Vas Deferens	25
2.1.4. Ejakülatör kanallar ve Üretra	25
2.1.5. Eklenti bezleri ve Penis.....	25
2.1.6 Testis Fonksiyonun Kontrolü.....	27
2.1.6.1 Hipotalamo-Hipofiz-Testis Ekseninin Fonksiyonel Organizasyonu	27
2.2. Bisfenol A	29
2.2.1. Bisfenol A'nın Vücuda Girişi ve Farmakokinetiği	30
2.2.2. Bisfenol A'nın Organizmaya Olan Etkileri	32
2.3. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres	34
2.3.1. Serbest Radikallerin Tipleri	34
2.3.1.1. Süperoksit Radikali	34

2.3.1.2. Hidrojen Peroksit	35
2.3.1.3. Hidroksil Radikali.....	35
2.3.1.4. Peroksil Radikali.....	35
2.3.1.5. Nitrik Oksit	36
2.3.2. Serbest Radikallerin Kaynakları	36
2.3.2.1. Endojen Serbest Radikal Kaynakları	36
2.3.2.2. Eksojen Serbest Radikal Kaynakları.....	37
2.3.3. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri	37
2.3.4. Antioxidant Savunma Sistemi	39
2.3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar	41
2.3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)	41
2.3.4.1.2. Glutasyon peroksidazı (GSH-Px).....	42
2.3.4.1.3. Malondialdehit (MDA)	42
2.3.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar.....	44
2.3.4.2.1. Glutasyon (GSH).....	44
2.3.4.2.2. Katalaz (KAT)	45
2.4. İnflamasyon	45
2.4.1. İnterlökin 1 β	45
2.4.2. TNF-alfa.....	46
2.4.3. İnterlökin 6.....	48
2.4.4. İnterlökin 10.....	48
2.4.5. COX-2.....	49
2.4.6. Nükleer Faktör-Kappa B.....	49
2.5. Apoptozis	50
2.6. Hesperidin	52

2.6.1 Hesperidinin Metabolizması	52
2.6.2. Hesperidinin Koruyucu Etkileri.....	53
3. MATERYAL VE METOT.....	54
3.1. Deneylerde Kullanılan Hayvanlar ve Yapılan Uygulamalar	54
3.2. Biyokimyasal Analizler	55
3.3. ELISA Yöntemiyle İlgili Parametrelerin Ölçümü	56
3.3.1. Testis doku örneklerin Hazırlanması	56
3.3.2. Standart hazırlama	56
3.3.3. Örneklerin Yüklenmesi.....	57
3.3.4. Yıkama Prosedürü.....	57
3.3.5. Kromojen A ve B yüklenmesi	57
3.3.6. Okutma Aşaması.....	57
3.4. Histopatolojik İncelemeler.....	58
3.5. İmmunohistokimyasal (IHC) İncelemeler	58
3.6. Sperma Analizleri	59
3.7. İstatistiksel Analiz:	60
4. BULGULAR.....	61
4.1. Deney Gruplarında Testis Dokusu Oksidatif Stres Parametreleri	62
4.2. Deney Gruplarında Testis Dokusu İnflamasyon Parametreleri	67
4.3. Deney Gruplarında Testis Dokusu Apoptozis Parametreleri.....	73
4.4. Deney Gruplarında Serumda FSH, LH ve Testosteron Parametreleri.....	75
4.5. Deney Gruplarında Testis Dokusu Steroidojenik Enzimler	78
4.6. Deney Gruplarında Ortalama Testis ve Vücut Ağırlıkları.....	81
4.7. Sperm Parametreleri	82
4.8. Histopatolojik Bulgular.....	86

4.9. İmmunohistokimyasal Bulgular.....	88
5. TARTIŞMA.....	99
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	114
KAYNAKLAR	116
EKLER	140
EK-1. ÖZGEÇMİŞ	140
EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU	142
EK-4. DİĞER FORMLAR.....	144



TEŞEKKÜR

Doktora tezi olarak sunduğum bu çalışmayı, değerli bilgi ve katkıları ile yöneten, tezimin her aşamasında yardımlarını esirgemeyen hocam Sayın Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ'ye en derin saygı ve şükranlarımı sunarım.

Doktora eğitimim sürecinde değerli katkılarını gördüğüm Prof. Dr. Ali ÇINAR, tez çalışmamın her aşamasında yardımcı olan Doç.Dr. Emin ŞENGÜL'e, dokuların patolojik analizlerinde yardımlarını esirgenmeyen Fakültemizin Patoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi Doç. Dr. Serkan YILDIRIM'a, testis ve sperm analizlerinde yardımlarını eksik etmeyen Öğretim Üyesi Doç.Dr.Emrah Hicazi AKSU'ya, her zaman yanımda olan desteğinden sonsuz faydalandığım eşim Merve TEKİN'e, bu çalışmayı TDK-2020-8637 BAP proje numarası ile destekleyen Atatürk Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğüne, çalışmalarım sırasında ilgi ve desteklerini esirgemeyen çalışma arkadaşlarıma, yoğun eğitim dönemim boyunca sabırla beni destekleyen aileme teşekkür ederim.

Samet TEKİN

ÖZET

Ratlarda Bisfenol A ile Oluşturulan Testiküler Toksikasyon Üzerine Hesperidinin Etkisinin Araştırılması

Amaç: Bisfenol A (BPA) epoksi reçinelerinden tüm plastiklere kadar yaygın kullanıma sahip bir ksenoöstrojendir. Kalp, karaciğer, testis ve beyin gibi birçok doku ve organda hasara yol açtığı iyi bilinmektedir. Çalışmamızda BPA ile oluşturulan testis hasarında antioksidan, antiinflamatuvar, antiapoptotik gibi özellikleri bilinen Hesperidinin koruyucu rolünü araştırdık.

Materyal Metod: Bu çalışmada toplam 52 Sprague-Dawley ırkı erkek rat kullanıldı. Hayvanlar 4 eşit grubu random olarak dağıtıldı. Gruplar; Grup1: Kontrol, Grup2: Hesperidin(50mg/kg-ig/gün), Grup3: Bisfenol A(100mg/kg-ig/gün), Grup4: Bisfenol A(100mg/kg-ig/gün) + Hesperidin(50mg/kg-ig/gün) olarak belirlendi. Deneysel süreç 14 gün boyunca devam etti. Deneyler sonunda ratlardan alınan doku örneklerinden histopatolojik, immunohistokimyasal ve ELISA yöntemi kullanılarak analizler yapıldı. Ratlardan alınan sperm örneklerinde motilite, yoğunluk, ölü ve anormal sperm oranları belirlendi. Serum örneklerinde ise ELISA yöntemi kullanılarak analizler tamamlandı.

Bulgular: Deney sonunda BPA uygulanan ratlardan alınan testis dokularından ELISA yöntemiyle yapılan analizlerde oksidatif stres ile ilgili olarak MDA düzeyinin yüksek olduğu, SOD, Katalaz, GSH ve GPx düzeylerinin ise düşük olduğunu tespit ettik. İnflamasyon ile ilgili olarak ise IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve COX-2 düzeylerinin yüksek olduğu, IL-10 düzeyinin ise düşük olduğunu gördük. Yine Apoptozis ile ilgili olarak p38 MAPK ve p53 düzeylerinin yüksek olduğunu belirledik. Testosteron sentezinde görevi bulunan p450scc, 17 β -HSD3 ve StAR enzimlerinin düzeylerinde azalma olduğunu gördük. BPA uygulanan ratların serumlarında ise FSH, LH ve Testosteron seviyesinin düşük olduğu görüldü. Testis dokusundaki 8-OHdG, Bax ve Kaspaz 3 düzeyinin arttığı, Bcl-2 düzeyinin ise düştüğü immunohistokimyasal yöntemle gözlemlendi. Grup 4'te Hesperidinin; oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve steroidojenik enzimler ile ilgili değerleri, BPA'nın olumsuz etkisinden koruduğu ve ortaya çıkan verilerin kontrol ve hesperidin gruplarıyla benzer olduğu tespit edildi.

Sonuçlar: BPA uygulanan ratlarda oluşan testis hasarında Oksidatif Stres, İnflamasyon, Apoptozis ve Steroidojenik enzimler üzerine Hesperidinin koruyucu etkilerinin olduğu ve bu parametrelerin fizyolojik düzeylerde kalmasında önemli bir rol oynadığını tespit ettik.

Anahtar Kelimeler: Apoptosis, bisfenol A, inflamasyon, steroidojenik enzimler, oksidatif stres, testis

ABSTRACT

Investigation of the Effect of Hesperidin on Testicular Toxication induced by Bisphenol A in Rats

Aim: Bisphenol A (BPA) is a widely used xenoestrogen from epoxy resins to all plastics. It is well known to cause damage to many tissues and organs, such as the heart, liver, testicles, and brain. In our study, we investigated the protective role of Hesperidin, which is known to have antioxidant, anti-inflammatory, and anti-apoptotic properties, in testicular damage induced by BPA.

Material and Method: A total of 52 Sprague-Dawley male rats were used in this study. Animals were randomly divided into four equal groups. Groups; Group1: Control, Group2: Hesperidin(50mg/kg-ig/day), Group3: Bisphenol A(100mg/kg-ig/day), Group4: Bisphenol A(100mg/kg-ig/day) + Hesperidin(50mg/kg -ig/day) was determined. The experimental process continued for 14 days. At the end of the experiments, histopathological, immunohistochemical, and ELISA analyzes were made from the tissue samples taken from the rats. Motility, density, dead and abnormal sperm rates were determined in sperm samples taken from rats. Analyzes of serum samples were completed using the ELISA method.

Results: At the end of the experiment, we found that the MDA levels were high and the SOD, Catalase, GSH, and GPx levels were low about oxidative stress in the analyzes performed by the ELISA method from testicular tissues taken from the rats, which were administered BPA. Regarding inflammation, we found that IL-1 β , TNF- α , IL-6, and COX-2 levels were high, while IL-10 levels were low. Again, we determined that p38 MAPK and p53 levels were high in apoptosis. We observed a decrease in the levels of p450_{scc}, 17 β -HSD3, and StAR enzymes, which have a role in testosterone synthesis. FSH, LH, and Testosterone levels were found to be low in the serum of rats administered BPA. It was observed by the immunohistochemical method that 8-OHdG, Bax, and Caspase 3 levels increased, and Bcl-2 levels decreased in testicular tissue. Hesperidin in Group 4 determined that the values related to oxidative stress, inflammation, apoptosis, and steroidogenic enzymes were protected from the harmful effects of BPA and the resulting data were similar to the control and hesperidin groups.

Conclusions: We found that Hesperidin has protective effects on Oxidative Stress, Inflammation, Apoptosis, and Steroidogenic enzymes in testicular damage in BPA-treated rats and plays a vital role in maintaining these parameters at physiological levels.

Key Words: Apoptosis, bisphenol A, inflammation, steroidogenic enzymes, oxidative stress, testis

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

17 β -HSD3	:	7- β -hidroksisteroid dehidrojenaz 3 enziminin
8-OHdG	:	8-hydroxy-2' -deoxyguanosine
Bax	:	Bcl-2-associated X protein
Bcl-2	:	B-cell lymphoma 2
BPA	:	Bisfenol A
BPA-glukan	:	BPA-glukuronide
KAT	:	Katalaz
COX-2	:	Siklooksijenaz (COX)
DD	:	Ölüm alanı
FSH	:	Folikül uyarıcı hormon
GnRH	:	Gonadotropin salgılatıcı hormon
GSH	:	Glutasyon
GSH-Px	:	Glutasyon Peroksidaz
GSSG	:	Oksitlenmiş glutasyon
H ₂ O ₂	:	Hidrojen peroksit
Hesperidin	:	Hesperetin-7-O-rutinosid
I κ B	:	İnhibitor of nuclear factor kappa B
IHC	:	İmmunohistokimyasal
IL-1	:	İnterlökin-1
IL-10	:	İnterlökin-10
IL-1 β	:	İnterlökin-1 β
IL-6	:	İnterlökin 6
LH	:	Luteinize edici hormon
LPS	:	Lipopolisakarit

MAPK	:	Mitojenle aktive olan protein kinaz
MDA	:	Malondialdehit
NF- κ B	:	Nükleer faktör-kappa B
NO	:	Nitrik oksit
OH $\cdot$	:	Hidroksil radikali
PARP	:	Poly (ADP-ribose) polymerase
PI3K	:	Fosfoinositid 3-kinaz
ROO $\cdot$	:	Peroksil radikali
Se-GSH-Px	:	Selenyuma bağımlı GSH-Px
SOD	:	Süperoksit dismutaz
StAR	:	Steroidogenic acute regulatory protein
TLR	:	Toll benzeri reseptör
TNF- α	:	Tümör Nekroz Faktör alfa
TRADD	:	TNFR1 ile ilişkili DD
TRAF	:	TNF ile ilişkili faktör
UGT	:	Üridin Difosfat-Glukuronil Transferaz

ŞEKİLLER DİZİNİ

<u>Şekil No</u>	<u>Sayfa No</u>
Şekil 2.1. Erkek Üreme Sisteminin Anatomisi.....	20
Şekil 2.2. Testis ve Spermatogenezis	21
Şekil 2.3. Seminifer tubüllerin yapısı	22
Şekil 2.4. Testosteron sentez aşamaları	29
Şekil 2.5. BPA'nın kimyasal yapısı.....	30
Şekil 2.6. BPA'nın bağırsakta ve karaciğerde dağılımı ve metabolizması.	31
Şekil 2.7. İnsanlarda BPA'ya maruz kalma yolları.....	32
Şekil 2.8. MDA'nın moleküler yapısı	43
Şekil 2.9. Hesperidin'in kimyasal yapısı	52
Şekil 4.1. Testis Dokusunda SOD Enzimi.....	62
Şekil 4.2. Testis Dokusunda GSH Enzimi.....	63
Şekil 4.3. Testis Dokusunda GPx Enzimi.....	64
Şekil 4.4. Testis Dokusunda Katalaz Enzim Düzeyi.	65
Şekil 4.5. Testis Dokusunda MDA Düzeyi.	66
Şekil 4.6. Testis Dokusunda IL-1 β Düzeyi.....	67
Şekil 4.7. Testis Dokusunda IL-6 Düzeyi.....	68
Şekil 4.8. Testis Dokusunda IL-10 Düzeyi.....	69
Şekil 4.9. Testis Dokusunda TNF- α Düzeyi.....	70
Şekil 4.10. Testis Dokusunda NF- κ B Düzeyi.....	71
Şekil 4.11. Testis Dokusunda COX-2 Düzeyi.	72
Şekil 4.12. Testis Dokusunda P53 Düzeyi.	73
Şekil 4.13. Testis Dokusunda Apoptozis Parametreleri.	74
Şekil 4.14. Serumda FSH Düzeyleri.....	75

Şekil 4.15. Serumda LH Düzeyleri.....	76
Şekil 4.16. Serumda Testosteron Düzeyleri.	77
Şekil 4.17. Testis Dokusunda StAR Düzeyleri.....	78
Şekil 4.18. Testis Dokusunda p450scc Düzeyleri.	79
Şekil 4.19. Testis Dokusunda 17 β -HSD3 Düzeyleri.	80
Şekil 4.20. Sperm Motilitesi.	82
Şekil 4.21. Sperm Yoğunluğu.....	83
Şekil 4.22. Anormal Sperm.	84
Şekil 4.23. Ölü Sperm.....	85
Şekil 4.24. Kontrol grup: testis dokusu, normal histolojik görünüm, H&E, Bar:20 μ m.	86
Şekil 4.25. HESP grup: testis dokusu, normal histolojik görünüm, H&E, Bar:20 μ m. .	87
Şekil 4.26. BPA grup: testis dokusu, intertubuler aralıklarda şiddetli ödem, spermatoisitlerde şiddetli dejenerasyon ve nekroz, tubulus duvarında incelme, H&E, Bar:20 μ m.	87
Şekil 4.27. BPA+HESP grup: testis dokusu, intertubuler aralıklarda hafif düzeyde ödem, spermatoisitlerde hafif düzeyde dejenerasyon, H&E, Bar:20 μ m.....	88
Şekil 4.28. Kontrol grup: testis dokusu, negatif 8 OHdG ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 μ m.	89
Şekil 4.29. HESP grup: testis dokusu, negatif 8 OHdG ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 μ m.	89
Şekil 4.30. BPA grup: testis dokusu, seminifer tubulus duvarlarında spermatoisitlerde şiddetli düzeyde 8 OHdG ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 μ m.	90
Şekil 4.31. BPA+HESP grup: testis dokusu, spermatoisitlerde hafif düzeyde sitoplazmik 8 OHdG ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 μ m.	90

Şekil 4.32. Kontrol grup: testis dokusu, negatif Bax ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	91
Şekil 4.33. HESP grup: testis dokusu, negatif Bax ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm....	92
Şekil 4.34. BPA grup: testis dokusu, seminifer tubulus duvarlarında ve spermatositlerde şiddetli düzeyde Bax ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	92
Şekil 4.35. BPA+HESP grup: testis dokusu, Spermatositlerde hafif düzeyde stoplazmik Bax ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	93
Şekil 4.36. Kontrol grup: testis dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	94
Şekil 4.37. HESP grup: testis dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	94
Şekil 4.38. BPA grup: testis dokusu, spermatositlerde hafif düzeyde Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.....	95
Şekil 4.39. BPA+HESP grup: testis dokusu, spermatositlerde şiddetli düzeyde sitoplazmik Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	95
Şekil 4.40. Kontrol grup: testis dokusu, negatif Kaspaz-3 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	96
Şekil 4.41. HESP grup: testis dokusu, negatif Kaspaz 3 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	97
Şekil 4.42. BPA grup: testis dokusu, spermatositlerde şiddetli düzeyde	97
Şekil 4.43. BPA+HESP grup: testis dokusu, seminifer tubulus duvarlarında spermatositlerde hafif düzeyde sitoplazmik Kaspaz 3 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.	98

TABLÖLAR DİZİNİ

<u>Tablo No</u>	<u>Sayfa No</u>
Tablo 3.1. Araştırmada uygulanan deney grupları, gruplardaki hayvan sayıları ve uygulama süreleri.....	55
Tablo 3.2. Standart Hazırlama Tablosu.....	56
Tablo 4.1. Deneyin başlangıcında ve sonunda ratların canlı ağırlıkları ve deney sonundaki testis ağırlıkları.	81
Tablo 4.2. Testis dokularında histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguların skorlanması.	98

1. GİRİŞ

Sentetik ksenoöstrojenler (endokrin bozucu kimyasallar) arasında Bisfenol A (BPA), yıllık üretimi 3,8 milyon tonu aşan önemli insan yapımı bileşiklerden biridir.¹⁻³

BPA, epoksi reçineleri, polikarbonat plastikler ve diğer polimer materyallerin sentezinde geniş bir şekilde kullanılan endüstriyel bir komponentdir. BPA'dan yapılan polikarbonat plastikler; iyi mukavemet ve sertlik, termal kararlılık ve asit ile yağlara karşı direnç dâhil olmak üzere mükemmel kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir. BPA, yukarıdaki malzemelerde, plastik şişelerde ve bebek biberonları gibi yiyecek ve içecek kaplarında ve ayrıca oyuncak, gözlük ve CD'lerde yaygın olarak kullanılır. Epoksi reçine, temel olarak metal ürünlere astar üretmek için kullanılır. Diş dolgu macunları ve termal kâğıt üretiminde de bileşen olarak kullanılmaktadır.⁴

BPA, sindirim sistemi, solunum yolu ve cilt Emilimi yoluyla organizmaya girebilir; bununla birlikte sindirim sistemi en büyük emilim kaynağıdır ve vücuda giriş yoludur.⁵

BPA'ya maruz kalma yolları arasında en baskın olan yol gastrointestinal sistemdir, bunu solunum ve dermal yol izler. Genel popülasyonda BPA maruziyetinin en büyük nedeni; diyet yoluyla alınan BPA ile bulaşık yiyecek ve su, ardından solunum yoluyla alınan hava ve tozdur. Termal kâğıt ve diş materyalleri maruziyetinin rolü küçüktür. Mesleki BPA maruziyeti, BPA ile ilgili ürünler üreten kasiyerlere ve işçilere odaklanmaktadır. BPA insan vücuduna girdikten sonra; kan, idrar, tükürük, saç vb. dahil olmak üzere çeşitli biyolojik numunelerde tespit edilebilir.⁶

BPA'nın farmakokinetiği ile ilgili birçok çalışma, BPA'nın gastrointestinal sistemden hızla emildiğini ve daha sonra bağırsak ve karaciğerde UDP-glukuronik asit ile konjüge edilerek BPA-glukan metabolize olduğunu gösterir. Konjugasyon reaksiyonuna, üridin difosfat-glukuronil transferaz (UGT) aracılık eder. Sonuç olarak,

BPA ve metabolitleri idrar veya dışkı yoluyla atılır ve BPA'nın yarı ömrü 6 saatten azdır.⁷ BPA-glukanın yanı sıra, BPA uygulamasının daha yüksek dozları glukuronidasyon yolunda doygunluk meydana getireceğinden dolayı BPA'nın diğer küçük metabolitleri oluşabilmektedir.⁸

BPA, östrojen ve androjen reseptörlerinin yanı sıra endokrin sisteminin hormonları ve vücudun diğer sistemleri ile ilişkili aril hidrokarbon reseptörü ve peroksizom proliferatör ile aktive edilmiş reseptör dâhil olmak üzere çeşitli reseptörlere bağlanabilir.⁹ Endokrin bozucu aktivitesi, oksidatif ve mutajenik potansiyelin yanı sıra hipometilasyon kabiliyeti nedeniyle BPA, hayvanlarda ve muhtemelen insanlarda çok yönlü toksik etkilere neden olabilmektedir.¹⁰ BPA'nın seks hormonları, leptin, insülin ve tiroksin gibi çeşitli hormonların işlevini bozduğu ve hepatotoksik, immünotoksik, mutajenik ve kanserojen etkilere neden olduğu kanıtlanmıştır.¹¹ Son veriler ayrıca, insanlarda BPA'ya maruz kalmanın obezite, diyabet ve kalp hastalığı riskini artırdığını göstermiştir.¹²

BPA'nın erkek üreme fonksiyonu üzerindeki zararlı etkileri kemirgenler gibi laboratuvar hayvanlarında yaygın olarak araştırılmıştır. Vom Saal ve arkadaşları erkek fareler üzerinde prenatal BPA maruziyetini araştırmış ve prepusiyal bezlerin boyutunun arttığını ve epididimis boyutlarının ise azaldığını ortaya koymuşlardır. Bunun yanı sıra sperm üretiminin etkinliğinin de azaldığını bulmuşlardır.¹³ Testiküler Leydig hücrelerinde Testosteron inhibisyonu, muhtemelen; BPA'nın steroidojenik proteinler üzerine baskılayıcı etkisiyle gerçekleşmektedir. Daha önce yapılan araştırmalarda BPA'nın, steroidogenic acute regulatory protein (StAR) proteininin ve 17- β -hidroksisteroid dehidrojenaz 3 (17 β -HSD3) enziminin ekspresyonunu inhibe ederek bu etkisini gösterdiği bildirilmektedir.^{14, 15}

BPA antisteroidojenik etkisini, Leydig tümör hücrelerinde in vitro olarak LH (luteinize edici hormon) reseptörüne adenilat siklazin bağlanmasını önleyerek gösterir ve bu etki cAMP oluşumu inhibe eder, bu testislerde testosteron sentezini engelleyen önemli mekanizmalardan biridir.¹⁶ BPA maruziyeti ile plazma FSH konsantrasyonundaki azalma arasında bir ilişkinin olduğu ve BPA'nın FSH salınmasını inhibe ettiği düşünülmektedir.^{13,17}

Polifenoller; patojenlere, radyasyona ve toksinlere karşı koruma sağlayan farklı bitki parçalarına renk ve lezzet veren biyolojik olarak aktif maddelerdir. Flavonoidler en yaygın polifenollerden biridir ve bu bileşikler serbest durumda veya glikozitler olarak faydalı etkileri açısından değerlendirilmişlerdir. Hesperidin, bir disakkarite bağlı flavon aglikon hesperetin içeren bir glikozittir.¹⁸

Hesperidin (hesperetin-7-O-rutinosid) flavanon, hesperetin'in β -glikozit formudur ve neredeyse sadece narenciye meyvelerinde, özellikle portakalda bulunur.¹⁹ Tatlı portakal suyu 487-584 mg hesperidin / l içerir.²⁰ Hesperidin ve aglikon hesperetin, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, osteoporoz, obezite ve diyabet gibi birçok dejeneratif hastalığa karşı çeşitli yararlı sağlık etkileri gösterdiği öne sürülmüştür.²¹⁻²³ Ek olarak, hesperetin metabolitleri için protein kinazlar²⁴ gibi çeşitli anahtar proteinlerle etkileşimleri²⁴⁻²⁷ ve hücrel fonksiyonlarla ilgili spesifik genlerin indüksiyonu veya azaltılması yoluyla faydalı sağlık etkileri bildirilmiştir.²⁸⁻³⁰

Oral alımdan sonra, hesperidin ve aglikon hesperetin, bağırsak ve karaciğer dokusunda yoğun bir şekilde metabolize edilir ve hesperetin, çoğunlukla sistemik dolaşımda konjuge formlarda bulunur.³¹⁻³⁴

Ağız yoluyla alınan hesperidin, ince bağırsakta β -glukozidazlar ile hidrolize edilemezler, ancak kolon içine girdiklerinde kolondaki enterositlere absorbe edilmeden önce kolonik mikrobiyota tarafından hesperetin aglikonuna hidrolize edilir.³²

Hesperetin'in kolonik mikrobiyota salınımı, emilim için hız sınırlayıcı adımdır.³⁴ Hesperidin aksine, hesperetin aglikonu pasif difüzyon ile doğrudan ince bağırsak enterositine alınabilir.³² Emilen hesperetin incebağırsak, kolon ve karaciğerde; UDP-glukuronosil transferazlar ve sülfotransferazlar tarafından metabolize edilir.³⁵ İnsan idrarında mono-konjugat ve di-konjugatlar dahil olmak üzere birçok hesperetin metaboliti tanımlanmıştır, bu da mono-konjugatların daha fazla konjugasyon geçirdiğini gösterir.^{31, 33, 36}

Hesperidin dokularda meydana gelen oksidatif hasara ve inflamasyona karşı koruyucu etkilere sahiptir. Dokudaki inflamatuvar markırların miktarında azalma meydana getirir. Pro-inflamatuvar sitokinlerin ve inflamatuvar enzimleri baskılama özellikleri vardır. Aynı zamanda anti-inflamatuvar markırların seviyesinde de artma meydana getirir.³⁷

Hesperidin anti-apoptotik markırların seviyesini artırırken, pro-apoptotik markırların seviyelerinde azalma meydana getirmektedir.³⁸

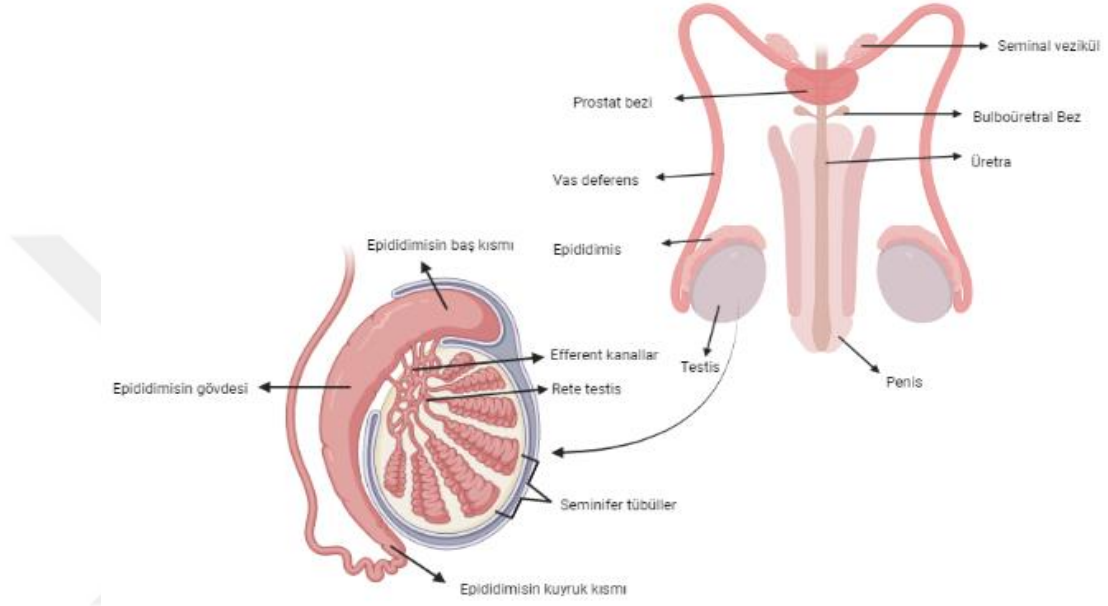
Hesperidin aynı zamanda oksidatif DNA hasarını ve lipid peroksidasyonunu azaltmaktadır.³⁹

Çalışmamızda, BPA ile oluşturulan testiküler toksikasyonda oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis ve steroidojenik enzimler üzerine hesperidin koruyucu etkileri araştırıldı.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Erkek Üreme Sistemi

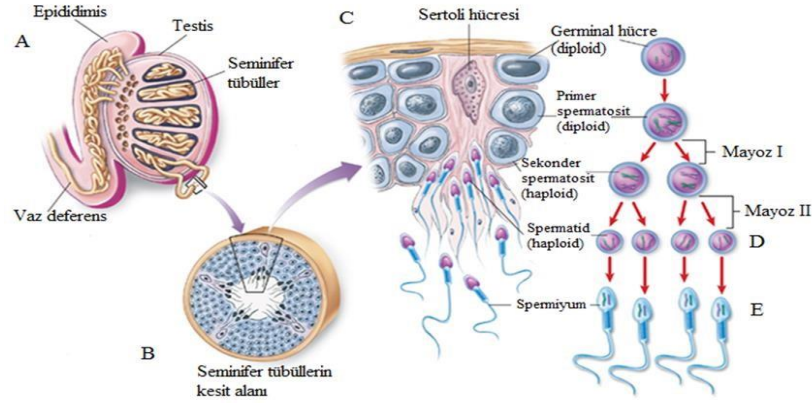
Erkek üreme sistemi; testis, epididimis, vas deferens, ejakulatorik kanallar, üretra, aksesuar cinsiyet bezleri ve penisi içine alan doku ve organlardan oluşmaktadır (Şekil 2.1.).⁴⁰



Şekil 2.1. Erkek Üreme Sisteminin Anatomisi.

2.1.1. Testislerin Yapısı ve Fonksiyonel Organizasyonu

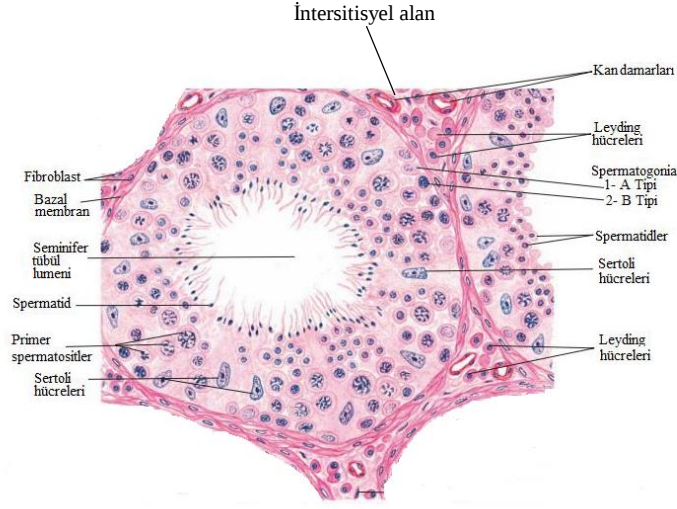
Testisler, erkek gametleri ve erkek cinsiyet hormonlarını (androjenler) üretir. Gamet üretimi spermatogenez terimi ile ifade edilirken, erkek steroid hormonlarının üretimi ise Steroidogenez terimi ile ifade edilir. Spermatogenez ve Steroidogenez, morfolojik ve fonksiyonel olarak birbirinden ayırt edilebilen iki bölümde gerçekleşir. Bunlar seminifer tübül (tubuli seminiferi) ve seminifer tübülleri arasındaki interstisyel kompartmanlardır. Anatomik olarak ayrı olmasına rağmen, her iki bölme de birbiriyle yakından bağlantılıdır. Kantitatif ve kalitatif olarak normal sperm üretimi için her iki kompartmanın da bütünlüğü gereklidir.⁴⁰ Testisin genel yapısı Şekil 2.2.'de gösterilmiştir.⁴¹



Şekil 2.2. Testis ve Spermatogenezis. (A) Testisin genel yapısı. (B) seminifer tubulün kesit alanı. (C) Spermatogenezisin aşamaları. (D) spermatit. (E) spermiyum.

İnterstitiyel kompartmanın en önemli hücreleri Leydig hücreleridir. Bu hücreler testis kaynaklı testosteronun ve insülin benzeri faktör 3'ün kaynağını oluşturmaktadır. Leydig hücrelerinin yanı sıra, interstisyel alan ayrıca bağışıklık hücreleri, kan ve lenf damarları, sinirler, fibroblastlar ve gevşek bağ dokusu içerir. Leydig hücreleri ilk olarak 1850'de Franz Leydig (1821–1908) tarafından tanımlanmıştır. Leydig hücrelerinin en önemli görevi erkek cinsel hormonu olan testosteronu üretmesi ve salgılamasıdır. Her 10-50 Leydig hücresi için bir makrofaj bulunur. Makrofajlar muhtemelen Leydig hücrelerinin işlevini ve steroid üretimini etkilemektedir. Proinflamatuvar sitokinler, Reaktif oksijen türleri (ROS), nitrik oksit ve prostaglandinler, Leydig hücre fonksiyonunu etkileyen diğer unsurlardır.⁴² Leydig hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde katekolaminlerin de rolünün olabileceği ifade edilmektedir.⁴³

Spermatogenez; testislerin tübüler kompartmanında gerçekleşmektedir. Bu bölge, toplam testis hacminin yaklaşık %60-80'ini oluşturur. Seminifer tübüllerin yapısı Şekil 2.3.'de gösterilmiştir.⁴¹



Şekil 2.3. Seminifer tubüllerin yapısı.

Testisin yapısında germ hücreleri ve iki farklı tipte somatik hücre (peritübüler hücreler ve Sertoli hücreleri) bulunmaktadır. Testis, bağ dokusu septası ile yaklaşık 250–300 lobüle bölünür. Genel olarak, bir testis yaklaşık 600 seminifer tübül içerir.⁴⁰

Seminifer tübüller, bir bazal membran, bir kolajen tabakası ve peritübüler hücrelerden (miyofibroblastlar) oluşan bir lamina propria ile kaplıdır. Peritübüler hücreler, hücrel kontraktilite ile ilgili panaktin, desmin, gelsolin, düz kas miyozini ve aktin üretir. Bu hücreler ayrıca hücre dışı matriksi ve tipik olarak bağ dokusu hücreleri tarafından eksprese edilen kolajen, laminin, vimentin, fibronektin, büyüme faktörleri, fibroblast proteini ve adhezyon molekülleri faktörlerini de salgırlar. Miyofibroblastlar, kendiliğinden kasılma kapasitesine sahip, zayıf şekilde farklılaşmış miyositlerdir. Olgun sperm, bu hücrelerin kasılması ile seminifer tübüllerin çıkışına doğru taşınır.⁴⁰

Sertoli hücreleri, germinal epitel içinde bulunan somatik hücrelerdir. Bu hücreler bazal membran üzerinde bulunur ve seminifer tubulus lümenine kadar uzanır ve geniş anlamda germinal epitelin destekleyici yapısı olarak düşünülebilir. Sertoli hücreleri çok çeşitli faktörleri sentezler ve salgılar. Bunlara örnek olarak proteinler, sitokinler,

büyüme faktörleri, opioidler, steroidler, prostaglandinler, hücre bölünmesi modülatörleri sayılabilir. Sertoli hücrelerinin morfolojisi, çeşitli fizyolojik işlevleriyle sıkı şekilde ilişkilidir. Sitoplazmasında; endoplazmik retikulum, golgi cihazı, lizozomal granüller ve ayrıca mikrotübüller ve ara filamentler bulunur. Genel olarak Sertoli hücrelerinin spermatojenik süreci topografik ve fonksiyonel olarak koordine ettiği varsayılır.⁴⁰

2.1.1.1. Spermatogenezis

Testislerde spermatozoonların oluşumuna spermatogenezis denir. Spermatogenezis testis dokusunda tubuli seminiferi kontorti denilen yapılar içinde gerçekleşir. Spermatogenezisin ilk aşamasında (çoğalma evresi), A tipi spermatogonyumlar çoğalarak ve dönüşerek B tipi spermatogonyumları oluşturur. Bu spermatogonyumlardan bir tanesi seminifer tübüllerin bazal membranında kalarak spermatogonyumların sürekliliğini sağlar. Diğer tip spermatogonyum ise Sertoli hücreleri boyunca seminifer tübüllerin boşluğuna doğru ilerlemektedir. Spermatogenezisin ikinci aşamasında (büyüme evresi) ise; B tipi spermatogonyumlar büyür, gelişir ve primer spermatositlere dönüşür. Bu değişimler sırasında 2n kromozom sayısı değişmez. Bundan sonra primer spermatositler olgunlaşma evresine girer ve mayoz I geçirerek sekonder spermatositleri oluşturur. Primer spermatositlerden daha küçük olan bu sekonder spermatositler bu bölünme sırasında çekirdeklerinde bulunan kromozom sayısı yarıya düşer. Bunun nedeni ise her çift kromozomun ayrı ayrı sekonder spermatosite geçmesinden kaynaklanmaktadır. Bu oluşan sekonder spermatositler yine lümene doğru hareket ederler ve etraflarını Sertoli hücreleri sarmaktadır. Her sekonder spermatosit, spermatit oluşturmak üzere mayoz II geçirir ve 4 eşit spermatit oluşur.⁴⁴

Bu oluşan spermatitler, türe özgü olan kromozom sayısının yarısına sahiptir. Spermatitlerin sitoplazmaları boldur ve çekirdekleri yuvarlaktır. Sitoplazmalarında,

çekirdeğin hemen bitişiğinde iyi gelişmiş bir golgi aygıtı ve çok sayıda mitotokondri bulunmaktadır. İnsanlarda her spermatit çekirdeğinde 23 adet eşleşmemiş kromozom mevcuttur. Spermatitler gerçek anlamda haploittirler, yani kromozomlarında yalnızca bir tane kromatin bulunur.⁴⁴

Spermatitlerin çekirdekleri şekillendiğinde bu kromozomlar kromatine dönüşür. Seminifer tübül lümeninin yakınında bulunan bu spermatitler başkalaşım evresine girerler ve Sertoli hücrelerinin apikal sitoplazma oyukları denilen bölgelerine gömülürler. Burada olgunlaşma işlemi tamamlanan spermatozoonlar seminifer tübül lümeni boyunca hareket ederler.⁴⁴

Bu spermatitlerin spermatozoonlara dönüşüm sürecine spermiyogenezis denilmektedir. Spermatitlerin çekirdeğinde de köklü değişiklikler meydana gelir. RNA, su ve glikojen kaybolur, sitoplazma yavaş yavaş çekirdeğin biçimini alarak uzar. Spermatozoonlarda spermatitlerden farklı olarak golgi aygıtında granüller geliştiği ve bu granüllerin ise akrozom denilen kese içinde birleştiği görülmektedir.⁴⁴

Spermatozoonların, Sertoli hücrelerinden uzaklaşarak seminifer tübül lümenine atılması olayına spermiyasyon denilmektedir. Lumene atılan spermatozoonlar, rete testise, oradan da eferent kanalcıklar yoluyla epididimise geçmektedir.⁴⁴

2.1.2. Epididimis

Epididimis, testislere bitişik ve bağlantılı, virgül şeklinde ve testis boyunca uzanan bir kısımdır. Epididimisler sıkıca sarılmış bir tüp olan duktus epididimis içerir. Epididimiste sperm olgunlaşması tamamlanır ve ejakulasyon anına kadar saklanır. Ejakulasyon sırasında, epididimisi çevreleyen düz kaslar kasılır ve olgun sperm bir sonraki tüp olan duktus deferensi geçmeye çalışır. Duktus epididimisin duvarları, spermi besleyen stereosilya adı verilen mikrovilli içerir.⁴⁰

2.1.3. Duktus Deferens veya Vas Deferens

Duktus deferens, epididimisten sonra gelen kanaldır. Sperm epididimisten ayrıldıktan sonra buradan geçer. Duktus deferens karın boşluğuna girer, mesane etrafından geçer ve seminal vezikülden gelen kanalla birlikte ejakülatuar kanala bağlanır. Ejakülasyon kanalına girmeden önce duktus deferens genişleyerek ampulla adı verilen bir bölge oluşturur. Duktusu çevreleyen düz kasların peristaltik kasılmaları ejakülasyon sırasında spermin öne doğru ilerlemesini sağlar. Spermiler bu ana kadar duktus deferens'de depolanır.⁴⁰

2.1.4. Ejakülatör kanallar ve Üretra

Üretra, idrar ve meni için geçiş yoludur. Üretranın üç bölgesi bulunur:

- Prostatik üretra; prostat bezinden geçer.
- Membranöz üretra; ürogenital diyaframdan geçer.
- Süngerimsi üretra; penisten geçer.

Üretra, penisin üretral açıklık diye ifade edilen uç kısmında sonlanır.⁴⁰

2.1.5. Eklenti bezleri ve Penis

Aksesuar cinsiyet bezleri olarak da tanımlanan eklenti bezleri, spermi taşıyan geçiş yollarına çeşitli salgılar bırakarak meninin sıvı kısmına katkıda bulunurlar.

Seminal veziküller hem sağda hem de sol tarafta ductus deferensin ampullasına açılan kıvrımlı ve uzun bir kesedir. Çok fazla dallanma gösteren tubulo-alveolar bir bezdir. Bezin epitelleri ise tek katlı olup prizmatiktir.⁴⁴

Seminal veziküller, vajinadaki asidi nötralize eden; alkali bir sıvıyı, sperm için enerji sağlayan; fruktozu ve sperm canlılığını artıran, spermin rahime girmesine yardımcı olan ve uterus kasılmalarını uyaran; prostaglandinleri salgırlar.⁴⁰

Seminal veziküller ayrıca; testosteron denetiminde görevini yerine getirirler. Testislerin çıkarılmasının sonucu küçüldüğü görülen bezin, testosteron enjeksiyonu sonrası tekrar büyüdüğü gözlenmiştir.⁴⁴

Seminal veziküller salgılarını ductus ejakulatoryus denilen bir kanalla prostat içerisinden üretraya aktarırlar.

Prostat bezi, idrar kesesinin hemen altında bulunan, 25-50 lobcuktan oluşan tubulo-alveolar yapıya sahip bir bezdir. Bezin tam ortasında idrar kesesinden çıkan üretra geçmektedir. Prostat ise salgısını 20 kadar küçük kanalcık vasıtasıyla bu kanala dökmektedir. Salgı hücreleri; sitrik asit, kalsiyum, asit fosfataz ve fibrinolizin içermektedir. Bu salgı süt görünümündedir ve alkali özellik taşımaktadır. Fibrinolizin dişi üreme yollarında pıhtılaşmış olan spermayı sıvılaştırır ve akıcı olmasını sağlar.⁴⁴

Bulboüretral bez, penisin hemen başlangıcında kök kısmında bulunmaktadır. Üretra prostat bezini geçtikten sonra bu beze ulaşmaktadır. Berrak, alkali özelliğe sahip, koyu kıvamda yapışkan ve müküs içeren bir salgya sahiptir. Salgılarını üretraya vermektedir. Bu salgı ejakulasyon sırasında üretrayı kaygan bir hale getirir. Bu kayganlık sayesinde spermatozoonların üretraya yapışması engellenir. Ayrıca spermatozoonların geçişi öncesi asidik durumda olan kanalın hem nötürleşmesini hem de temizlenmesini sağlamaktadır.⁴⁴

Penis hem idrarın dışarı çıkarılmasında hem de spermanın dişi genital organa aktarılmasında önemli görevi bulunmaktadır. Kök, gövde ve baş olmak üzere 3 kısımdan oluşmaktadır. Kök kısmı vücut içinde bulunur. Penis atardamarı arteria penistir. Penisi dıştan scrotum denilen ince bir deri kaplar. Deri altında ince bir düz kas tabakası bulunur ve ereksiyon sırasında kas telleri tonusunu yitirir, deri uzar ve genişler.

Deri altında tunika albuginea da denilen sert bir bağ dokusu bulunmaktadır. Bu bağ doku içerisinde bol miktarda kollojen iplikler bulunmaktadır. Tunika albuginea

penis yumuşak olduğu durumda kalınlaşır, ereksiyon sırasında ise incelir. Tunika albuginea'dan ayrılan düzensiz bölmeler (septumlar) ve bölmecikler (trabeküller) penisin iç kısımlarına dağılır. Bu septumlar ve trabeküller; penisin asıl yapısını oluşturduğu bilinen korpus kavernosumlardaki boşlukların duvarını meydana getirmektedir.⁴⁴

2.1.6 Testis Fonksiyonun Kontrolü

Testisler, spermatozoa ve androjenik hormonlar ürettikleri için üreme ve endokrin sisteminin önemli bir parçasıdır. Her iki testis fonksiyonu da hipotalamik-hipofiz ekseninin karmaşık ve hassas bir şekilde düzenlenmiş kontrolü altındadır.

2.1.6.1 Hipotalamo-Hipofiz-Testis Ekseninin Fonksiyonel Organizasyonu

Hipotalamus, talamusun hemen altında ve ara beynin tabanında bulunur. Hipotalamus ile hipofiz bezi arasında çok sıkı bir ilişki mevcuttur. Hipofiz, hipofiz sapı ile hipotalamusa bağlıdır. Bu bağlantı bölgesinden hem sinir telleri hem de kan damarları geçmektedir. Portal kan damarları ön hipofizle bağlantı kurarken, sinir telleri ise arka hipofizle bağlantı halindedir. Hipotalamusta kortikotropin salgılatıcı hormon (CRH), tirotropin salgılatıcı hormon (TRH), büyüme hormon salgılatıcı hormon (GHRH), büyüme hormonu salınımını kısıtlayıcı hormon (GHRH), gonodotropin salgılatıcı hormon (GnRH), prolaktin salgılatıcı hormon (PRH), prolaktin salınımını kısıtlayıcı hormon (PIH), melanosit uyarıcı hormon salınımını kısıtlayıcı hormon (MSH) ve melanosit uyarıcı hormon salgılatıcı hormon (MSHRH) sentezlenir ve salgılanır.⁴⁴ GnRH hipotalamusta bulunan preoptik alan ve arkuat çekirdekten salgılanır. GnRH hipotalamo-hipofizer portal sistem yoluyla ön hipofize ulaşır. Daha sonra GnRH, ön hipofizde bulunan endokrin hücrelere (gonadotropik hücreler) luteinize edici hormon (LH) ve folikül uyarıcı hormonu (FSH) sentez ettirir. Kan yoluyla testislere ulaşan LH, seks hormonlarının, özellikle testosteron, dihidrotestosteron (DHT) ve daha küçük

miktarlarda estradiolün üretimini ve salgılanmasını aktive etmek için Leydig hücrelerinde eksprese edilen spesifik reseptörlere bağlanır. FSH, spermatogenez desteklemek için Sertoli hücrelerinde bulunan reseptörlerine bağlanır.

Hipofiz gonadotropları gonad fonksiyonunu kontrol eden merkezi yapılardır. GnRH salgılanması ise hipotalamusta bulunan GnRH nöronlarının yüzeyinde bulunan GPR54 reseptörünün kisspeptin adı verilen bir nöromediyatörle aktive edilmesine bağlıdır. Hipofiz işlevi, ayrıca aktivitesini hem doğrudan hem de hipotalamus vasıtasıyla etkileyen gonadal steroidlerin ve peptitlerin kontrolü altındadır. Çok sıkı anatomik ve fonksiyonel bağlantıları nedeniyle, hipotalamus ve hipofiz bezi benzersiz bir fonksiyonel birim olarak düşünülebilir.⁴⁰

FSH, büyük moleküllü bir glikoprotein yapısına sahip hormondur. FSH, testislerde hedef hücre zarının dış membranındaki reseptörlere bağlanarak hücre içinde adenilat siklazı aktive eder. Etkin duruma geçen adenilat siklaz ise ATP'yi siklik AMP'ye (cAMP) dönüştürür. cAMP ise steroid yapıdaki hormonların sentezini uyarmaktadır.⁴⁴

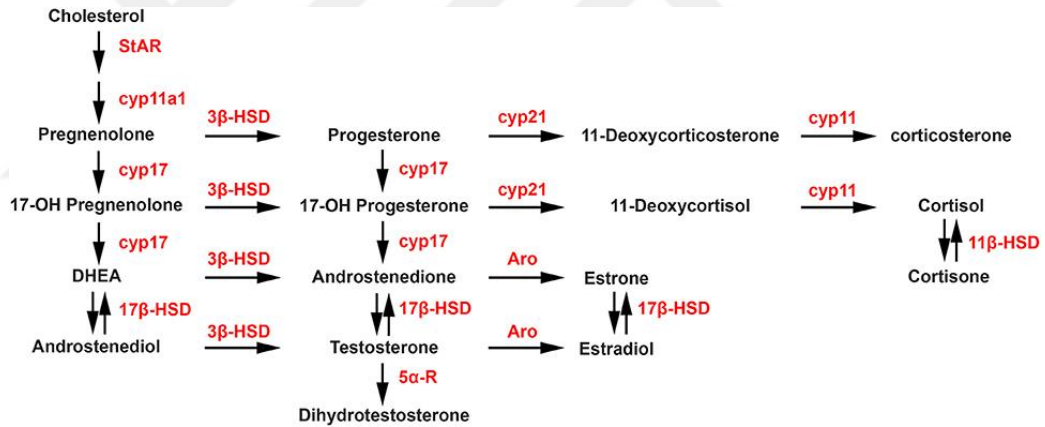
FSH, spermatogenezin gerçekleşmesinde çok önemli role sahiptir. FSH, seminifer tübüllerde dağınık halde bulunan Sertoli hücrelerini uyarır ve spermatogonyumlardan spermatozoon oluşumunu başlatır. Ancak; spermatozoon oluşumunun tamamlanması testosteron etkisiyle meydana gelmektedir.⁴⁴

LH, glikoprotein yapısına sahiptir. GnRH, ön hipofizde bulunan gonodotropik hücrelere bağlanır ve hücre zarının dış membranındaki reseptörlere bağlanarak hücre içinde adenilat siklazı aktive eder. Etkin duruma geçen adenilat siklaz ise ATP'yi cAMP'ye dönüştürür. cAMP ise hücre içinde LH üretimini uyarmaktadır.⁴⁴

LH testislerde bulunan Leydig hücreleri üzerine etkisini göstererek testosteron üretimini sağlamaktadır. Leydig hücrelerinden salınan testosteronun bir bölümü

seminifer tübülde bulunan epiteli besler ve Sertoli hücrelerine spermatozoon oluşumu için gerekli olan testosteronu sağlar. Böylece FSH'nın spermatojenik etkisini testosteron tamamlar. Seminifer tübüllerde bulunan Sertoli hücreleri inhibin adı verilen bir hormon salgılar. İnhibin ise negatif feedback mekanizması yoluyla ön hipofizden FSH salınımını baskılayarak spermatogenez sürecini kontrol etmeye katkıda bulunur.⁴⁴

Testosteron, testislerde bulunan Leydig hücrelerinde kolesterol üzerinden sentezlenmektedir. Testosteronun sentezinde görevli olan Star ve P450scc, kolesterolde pregnenolon sentezinde görevli enzimlerdir.⁴⁵ 17 β -hydroxysteroid dehydrogenases (17 β -HSDs), androstenone'den testosteron sentezinde görevli bir enzim grubudur.⁴⁶ Bu mekanizma aşağıda Şekil 2.4. te gösterilmiştir.⁴⁶



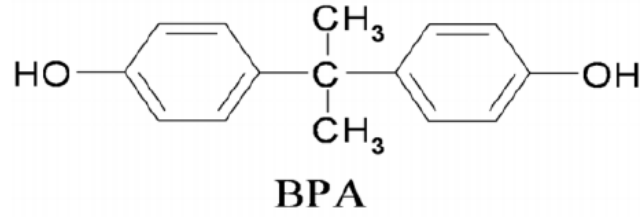
Şekil 2.4. Testosteron sentez aşamaları.

2.2. Bisfenol A

Sentetik ksenoöstrojenler arasında bulunan Bisfenol A (BPA), yıllık üretimi 3,8 milyon tonu aşan önemli insan yapımı kimyasal bileşiklerden biridir.¹⁻³

BPA, epoksi reçineleri, polikarbonat plastikler ve diğer polimer materyallerin sentezinde geniş bir şekilde kullanılan endüstriyel bir komponentdir. BPA'dan yapılan polikarbonat plastikler; iyi mukavemet ve sertlik, termal kararlılık ve asit ile yağlara karşı direnç dahil olmak üzere mükemmel kimyasal ve fiziksel özelliklere sahiptir.

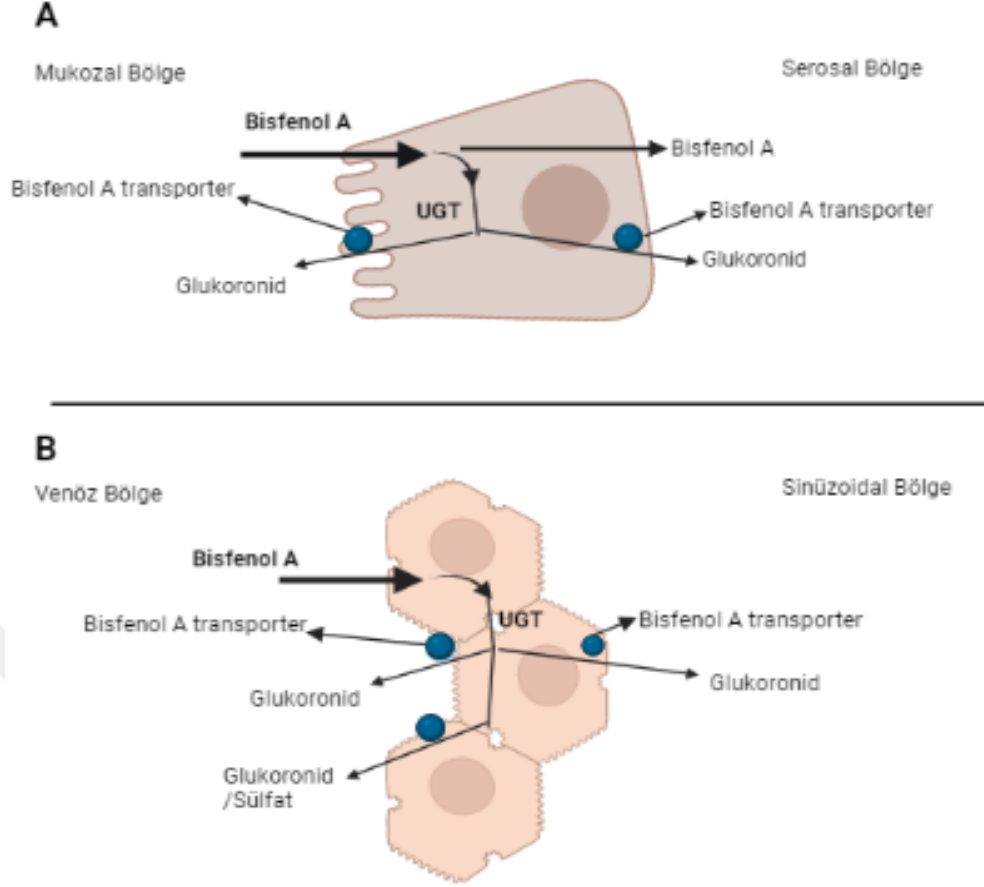
BPA; günlük hayatımızda kullandığımız plastik şişeler (su, meyve suyu, sıvı yağ şişeleri gibi.), plastik bardak ve tabaklar, plastik gıda saklama kapları ve bebek biberonları gibi yiyecek ve içecek kaplarında, oyuncak, gözlük ve CD gibi birçok üründe yaygın olarak bulunmaktadır. Epoksi reçineleri, temel olarak metal ürünlere astar üretmek için de kullanılır. Diş dolgu macunları ve termal kâğıt üretiminde de bileşen olarak kullanılmaktadır.⁴⁷ BPA'nın kimyasal yapısı Şekil 2.5. de gösterilmiştir.⁴⁸



Şekil 2.5. BPA'nın kimyasal yapısı.

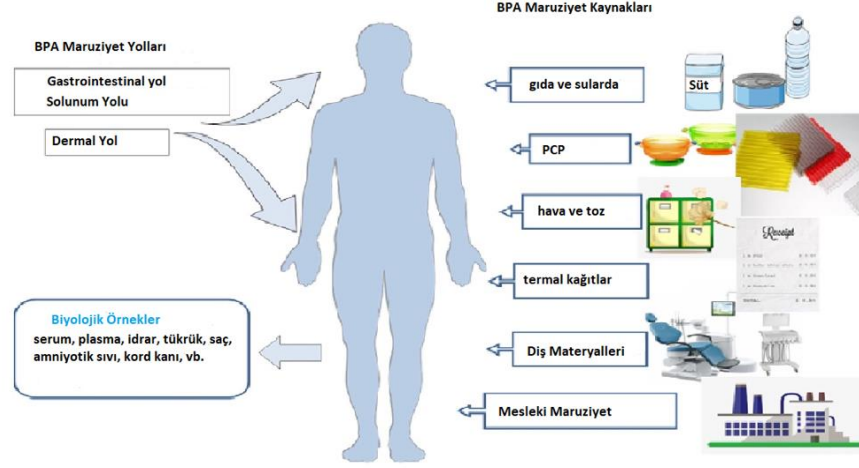
2.2.1. Bisfenol A'nın Vücuda Girişi ve Farmakokinetiği

BPA'nın organizmaya en önemli giriş yolu sindirim sistemidir. Bununla birlikte solunum ve deri yoluyla da organizmaya geçebilir. Genel popülasyonda BPA maruziyetinin en büyük nedeni; plastik kaplarda tutulan yiyecek ve içeceklerle bulaşık BPA'nın gıdalarla birlikte tüketilmesi sonucu sindirim sistemi üzerinden vücuda girişidir. BPA'nın etkin olarak vücuda giriş yollarından biri de solunum yoluyla alınan hava ve tozlarla olan maruziyetidir. Deri ve mukoza üzerinden termal kâğıt ve diş materyalleri ile maruziyetinin rolü küçüktür.



Şekil 2.6. BPA'nın bağırsakta ve karaciğerde dağılımı ve metabolizması. (A) İnce bağırsak mukoza hücrelerinde BPA'nın dağılımı ve metabolizması. (B) Hepatositlerde BPA'nın dağılımı ve metabolizması.

BPA'nın farmakokinetiği ile ilgili birçok çalışma, BPA'nın gastrointestinal sistemden aktif transport yoluyla hızla emildiğini ve daha sonra bağırsak ve karaciğerde UDP-glukuronik asit ile konjüge edilerek BPA-glukuronide (BPA-glukan) metabolize olduğunu gösterir. Konjugasyon reaksiyonuna, üridin difosfat-glukuronil transferaz (UGT) aracılık eder. Sonuç olarak, BPA ve metabolitleri (BPA sülfat, BPA glukan, konjüge olmayan BPA) idrar veya dışkı yoluyla atılır. BPA insan vücuduna girdikten sonra; kan, idrar, tükürük, saç dahil olmak üzere çeşitli biyolojik numunelerde tespit edilebilir.⁴⁷ Bu olay döngüsü Şekil 2.7'de gösterilmiştir.⁴⁷



Şekil 2.7. İnsanlarda BPA'ya maruz kalma yolları ve kaynakları, BPA tespiti için biyolojik örnekler.

2.2.2. Bisfenol A'nın Organizmaya Olan Etkileri

Yapılan çalışmalar ile BPA'nın sinir sistemi, bağışıklık sistemi ve üreme sistemi dahil olmak üzere farklı sistemler ve organlar üzerinde zararlı etkileri olabileceği belirlenmiştir.⁴⁷ Lipofilik özelliğinden dolayı kan-plasenta ve kan-beyin bariyerlerini kolaylıkla geçebilir. Birçok çalışma, BPA'nın endokrin sistemi ve beyin fonksiyonlarını kontrol eden nöronal ağların gelişimine müdahale edebileceğini göstermiştir.⁴⁹ Ayrıca; Xu ve ark. (2016)⁵⁰ da yapmış oldukları bir çalışmada bağışıklık sistemi ile ilgili hücrelerin ve fonksiyonların BPA maruziyetine bağlı olarak değiştiğini görmüşlerdir.

BPA antisteroidojenik etkiye sahiptir. BPA, etkisini Leydig hücrelerinde luteinize edici hormon (LH) reseptörüne adenilat siklazın bağlanmasını önleyerek gösterir. Bu etki cAMP oluşumunu inhibe ederek testislerde Testosteron sentezini engelleyen önemli mekanizmalardan biri olarak değerlendirilir.¹⁶ BPA hipofiz bezindeki östrojen reseptörlerine bağlanarak FSH salınımını inhibe etmektedir.⁵¹ BPA uygulanmış perinatal ratların F1 ve F2 erkek yavrularının testis fonksiyonları üzerine yapılan bir çalışmada serum FSH, LH ve Testosteron seviyelerinde bir azalma meydana geldiği tespit edilmiştir.¹³ Yine başka bir çalışmada ise BPA maruziyetine bağlı olarak FSH

miktarının azaldığı, LH miktarının ise arttığı bildirilmektedir. Söz konusu çalışmada bu durumun oluşmasına azalan testosteron ve inhibinin neden olduğu bildirilmektedir.⁵² Bunun yanında BPA maruziyeti sonucunda LH düzeylerinde önemli değişikliğin olmadığını ifade eden çalışmaların da olduğuna literatürde rastlanılmıştır.⁵³ Bu farklı bildirimler yapılan çalışmaların metodolojisi ile ilgili olarak değerlendirilmektedir.

BPA'nın erkek genital sistem üzerine olan zararlı etkileri deney hayvanları üzerinde yaygın olarak araştırılmıştır. Erkek fareler üzerinde yapılan bir çalışmada prenatal BPA maruziyetinin prepusyal bezlerin boyutlarında artmaya ve epididimis boyutunda ise azalmaya neden olduğu bildirilmiştir. Söz konusu çalışmada BPA'nın spermatogenezisi negatif yönde etkilediği ve BPA'ya maruz kalan ratlarda sperm sayısının önemli düzeyde azaldığı tespit edilmiştir.⁵⁴ BPA uygulaması serum testosteron seviyelerinde ciddi düzeyde azalmalara sebep olmaktadır. Testosteron sentezinde görevli olan steroidojenik proteinler BPA tarafından baskılanarak testosteron sentezinin engellendiği ifade edilmektedir. BPA uygulamasının, StAR proteininin ve 17-β-hidroksisteroid dehidrojenaz 3 enziminin (17β-HSD3) ekspresyonunu inhibe ettiği rapor edilmiştir.^{14, 15}

Redoks dengesinin düzenlenmesi hücre için hayati öneme sahiptir. Aslında hücre fizyolojik olarak reaktif oksijen türleri (ROS) üretir. ROS, sadece radikal ve radikal olmayan oksijen türevlerini değil aynı zamanda; reaktif nitrojen türlerini (RNS)'de kapsamaktadır. BPA, antioksidan enzimlerin seviyesinin azalması, ROS ve RNS mediyatörlerin artması yoluyla hücre içinde oksidatif hasara yol açmaktadır.⁵⁵

BPA, oksidatif strese ek olarak inflamasyonu da uyarmaktadır. Oksidatif stres ile inflamasyon arasında bir ilişki bulunmaktadır. ROS, Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NF-κB) üzerinden inflamasyonu indüklemektedir.⁵⁵

BPA'nın testiküler Leydig hücrelerinde p38 Mitogen activated protein kinase (p38-MAPK) ve p53 aktivasyonunu indükleyebildiği bildirilmiştir. BPA'nın bu uyarımının ise Leydig hücrelerinde, benzer şekilde Sertoli ve germ hücrelerinde apoptozu indüklediği bildirilmektedir.⁵⁶⁻⁵⁸

2.3. Serbest Radikaller, Oksidatif Stres

Serbest radikaller atomik orbitalde eşlenmemiş elektronlar (e-) taşıyan moleküller olarak tanımlanabilir.⁵⁹⁻⁶¹ Bu tanım hidrojen atomunu (eşleştirilmemiş e-), geçiş metallerini ve oksijen molekülünü içerir.⁶¹ Serbest radikallerin çoğu, eşleştirilmemiş elektronlar nedeniyle diğer moleküllere elektron verebileceği gibi onlardan elektron alabildiği için yüksek reaktiviteye sahiptirler.⁶² Bu nedenle, bir indirgeyici veya oksidan görevi görebilirler.⁵⁹⁻⁶¹ Serbest radikaller ilk olarak Gomberg tarafından 1900 yılında keşfedilmiştir. Bu moleküller vücutta sürekli olarak oluşur ve antioksidan savunma sistemi ile yok edilir. Bu dengenin serbest radikal yönünde bozulması, hücre hasarlarına yol açar. Bu durum oksidatif stres olarak tanımlanır. Oksidatif stres, yetersiz bir antioksidan savunma mekanizmasıyla veya çeşitli durumlarda artan serbest radikallerden kaynaklanır. Sonuç olarak hücrede; DNA, proteinler, karbonhidratlar, lipitler ve enzimler zarar görebilir.⁶³⁻⁶⁵

2.3.1. Serbest Radikallerin Tipleri

2.3.1.1. Süperoksit Radikali

Süperoksit radikali (O_2^-), hücrenin metabolik fonksiyonlarında veya patolojik bir durumda, bir elektron ($O_2 + e^- \rightarrow O_2^-$) alması ve oksijenin indirgenmesi sonucu oluşur. Moleküler oksijen ilk ara üründür. Alınan oksijenin yüzde 2'si vücutta süperoksit radikallerine dönüştürülür. Bu süperoksit radikalleri, oksidasyon reaksiyonları ve fagositik olaylar sırasında oluşur ve DNA'ya zarar verebilir.⁶⁶⁻⁶⁸

2.3.1.2. Hidrojen Peroksit

Hidrojen peroksit (H_2O_2), iki elektron alarak veya süperoksit radikalının dismutasyonu (kimyasal bir reaksiyon sonucu aynı maddeden 2 farklı ürün ortaya çıkmasına verilen bir addır) sırasında oksijen molekülünün indirgenmesiyle hücredeki birçok reaksiyon sırasında üretilir. Makrofaj aktiviteleri ve tiroid hormonu biyosentezi gibi birçok hücrel metabolik fonksiyonda rol oynayan hidrojen peroksit, özellikle mitokondride oksidatif elektron taşınması sırasında üretilir ve ayrıca hücrelerde çok az miktarda bulunur. Hidrojen peroksit, radikal olmasa da oksitleyici bir ajandır. Demir ve bakır gibi geçiş metallerinin varlığında Fenton reaksiyonu ile hidroksil radikali oluşumuna da neden olur. Hidrojen peroksit, katalaz ve peroksidaz ile suya dönüştürülerek detoksifiye edilir.⁶⁷⁻⁶⁹

2.3.1.3. Hidroksil Radikali

Hidroksil radikali ($OH\cdot$), oksijen radikalleri arasındaki en reaktif radikaldir. Yüzden fazla DNA modifikasyonuna neden olduğu düşünülmektedir.

Hidroksil radikali temel olarak üç farklı mekanizma tarafından üretilir:

- 1) Su ayrışmasına neden olan iyonlaştırıcı radyasyon,



- 2) Alkil hidroperoksitlerin fotolitik ayrışması

- 3) Fenton reaksiyonuna göre, metallerin katalizinde H_2O_2 'nin ayrışması sonucu oluşur.^{66, 67}

2.3.1.4. Peroksil Radikali

Peroksil radikali ($ROO\cdot$) hidroperoksil radikalının konjugat asitidir. Lipid peroksidasyonunu başlatır, proteinlerin modifikasyonuna neden olur. Süperoksit radikali ile sinerjistik bir etkiye neden olarak DNA'ya zarar verebilir.^{66, 70, 71}

2.3.1.5. Nitrik Oksit

Nitrik oksit (NO), organizmada yaygın olarak bulunan, birçok hücre ve dokuda doğal olarak sentezlenen, ömrü saniyelerle ifade edilen, eşleşmemiş bir elektron içeren serbest radikal bir gazdır.

Nitrik oksit sentaz enzimi tarafından, özellikle vasküler endotel hücrelerde üretilir. Nitrik oksit sentaz enzimi bilinen üç izoforma sahiptir, nöronal, endotel ve indüklenbilir. Nitrik oksit, oksidatif stres altında apoptozu, sitotoksiteyi, mutajenezi ve DNA hasarını artırır ve ayrıca lipit oksidasyonuna neden olur.^{69, 72}

2.3.2. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller, organizmadaki metabolik aktivitenin bir sonucu olarak veya çeşitli dış faktörlerle ortaya çıkan oksidasyon ve indirgeme reaksiyonları sırasında meydana gelir.^{73, 74}

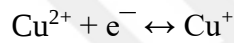
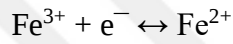
2.3.2.1. Endojen Serbest Radikal Kaynakları

Plazma membranları hem serbest radikal oluşumu hem de serbest radikalleri hedef alan zincir reaksiyonları ve ayrıca lipit peroksidasyonunun gerçekleştiği yer nedeniyle büyük öneme sahiptir. ROS, vücutta lipooksijenaz, siklooksijenaz, ksantin oksidaz, miyeloperoksidaz ve sitokrom p-450 gibi birçok enzimin aktivitesinin bir sonucu olarak üretilmektedir. Prostaglandin sentezinde, siklooksijenaz enzimleri tarafından katalize edilen araşidonik asidin oksidasyonu sırasında hidroksil radikalleri oluşur.⁷⁵

Enzimler, serbest radikallerin hem oluşumuna hem de detoksifiye edilmesine aracılık edebilirler.⁷⁶ Otooksidasyon reaksiyonları sırasında da yine süperoksit radikalleri oluşmaktadır.^{62, 73} Hem Proteinlerinin, serbest radikaller için bir kaynak olabileceği gösterilmiştir.^{77, 78} Mitokondriyal elektron taşınması sırasında da serbest radikaller oluşmaktadır.⁷⁹ Hücre içi oksidatif solunum zincirinde mitokondri tarafından oksijen

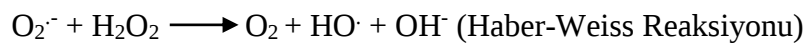
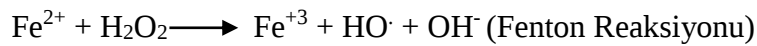
radikallerinin oluşumu mitokondriyal proteinlere, lipitlere ve DNA'ya zarar verir.^{80, 81} E. coli üzerinde yapılan çalışmalar, bazı sitozolik enzimlerin süperoksit radikali oluşturduğunu, ancak ana süperoksit radikali kaynağının elektron taşıma zinciri olduğunu göstermiştir.⁸² Peroksizomlar, hücrede bulunan hidrojen peroksitin önemli kaynaklarıdır, çünkü yüksek konsantrasyonlarda oksidaz içerirler ve hidrojen peroksitin öncüsü olan süperoksit radikallerini oluşturdıkları gösterilmiştir.⁸³

Geçiş metalleri, özellikle demir ve bakır, fizyolojik koşullarda çeşitli oksidasyon aşamalarında görev alırlar. Oksidasyon aşamaları sırasındaki elektron değişimi; oksidasyon ve indirgeme reaksiyonları ile meydana gelmektedir.



Geçiş metalleri bu özelliklerden dolayı serbest radikal reaksiyonlarını hızlandırır ve reaksiyonu katalize ederler. Geçiş metalleri Haber-Weiss ve Fenton reaksiyonları ile de hidrojen peroksit, süperoksit ve hidroksil radikalının sentezini katalize edebilirler.^{61,}

62, 74



2.3.2.2. Eksojen Serbest Radikal Kaynakları

Eksojen serbest radikal kaynakları arasında radyasyon, doğal gaz, sudaki klor ve ozon gibi çevresel kirleticiler, sigara dumanındaki nitrik oksit ve aldehitler ayrıca ilaçlar ve diğer ksenobiyotikler bulunur.^{71, 84}

2.3.3. Serbest Radikallerin Zararlı Etkileri

Serbest radikaller proteinlere, lipitlere, karbonhidratlara, nükleik asitlere ve DNA'ya zarar verme kapasitesine sahiptir. Hücre içi antioksidan savunma mekanizmaları, serbest radikallerin hücre içi konsantrasyonlarının aşırı yükselmesi

sonucunda yetersiz kalabilir. Hücre içi bileşenlerle reaksiyona girebilir, bununla birlikte metabolik ve hücre sel bozukluklara neden olabilirler. Oksidatif stres hücrenin tipine, strese ve maruziyetin şiddetine bağlıdır.^{73, 74, 85}

Nükleik Asitler ve DNA'ya Etkileri: Serbest radikallerin DNA üzerinde de zararlı etkileri vardır.⁸⁶ Özellikle iyonlaştırıcı radyasyona maruz bırakılarak oluşan serbest radikaller DNA'yı etkiler ve hücrelerde mutasyonlara ve ölümlere neden olur. Aktif nötrofillerden salınan hidrojen peroksit, zarlardan kolayca hücre çekirdeğine yayılarak DNA hasarına, hücre fonksiyon bozukluğuna ve sonunda hücre ölümüne neden olur. Hidroksil radikali yine deoksiriboz ve bazlar ile reaksiyona girerek hasara neden olmaktadır. Bu nedenle DNA, serbest radikaller tarafından kolayca zarar görebilen önemli bir hedeftir.^{87, 88}

Proteinler Üzerindeki Etkileri: Proteinlerin serbest radikal hasarına duyarlılığı, amino asit bileşimine, protein aktivasyonundan veya yapısal düzenlemekten sorumlu amino asitlerin konumuna ve hasarlı proteinin onarılabiliirliğine bağlıdır.⁸⁹ Reaktif oksijen türleri, peptit bağları veya amino asit yan zincirleri ile reaksiyona girer. Bu reaksiyonlar ayrıca demir ve bakır gibi katyonlardan da etkilenir. Oksidatif olarak hasara uğramış proteinler ya düşük molekül ağırlıklı ürünlere ayrılır veya çapraz bağlı yüksek molekül ağırlıklı ürünler oluşturur.⁹⁰ Doymamış ve kükürt içeren moleküller serbest radikallere karşı yüksek bir reaktiviteye sahip olduğundan, triptofan, tirozin, fenilalanin ve sistein gibi amino asitler içeren proteinler serbest radikallerden kolayca etkilenir. Özellikle, kükürt ve karbon merkezli radikaller oluşur. Bu reaksiyonların bir sonucu olarak, çok sayıda disülfür bağı içeren proteinlerin üç boyutlu yapıları bozulur. Bu nedenle, proteinler normal işlevlerini yerine getiremezler.^{91, 92}

Karbonhidratlar Üzerindeki Etkileri: Serbest radikallerin karbonhidratlar üzerinde de önemli etkileri vardır. Monosakkaritlerin oz-oksidadasyonunun sonucu olarak;

yapılarında H₂O₂, peroksitler ve oksoaldehit ürünleri oluşur. Diyabet, kanser ve sigara ile ilişkili kronik hastalıklar gibi patolojik süreçlerde önemli rol oynarlar. Oksoaldehitler DNA, RNA ve proteinlere bağlanma ve aralarında çapraz bağlantılar oluşturma yeteneklerinden dolayı antimitotik etkilere sahiptir. Bunun kanser ve yaşlanmada bir rol oynadığı düşünülmektedir.⁹³

Membran Lipidler Üzerindeki Etkileri: Biyolojik membranlar ve hücre içi organeller (mitokondri, endoplazmik retikulum), membran fosfolipitlerinde çoklu doymamış yağ asitlerinin varlığından dolayı oksidatif saldırılara açıktır. Bu nedenle, serbest radikallerin saldırılarının bir sonucu olarak lipid peroksidasyonu adı verilen bir dizi reaksiyon başlatılır. Lipid peroksidasyonu, membran lipitlerinin oksidatif hasarının bir sonucu olarak hücre zarı yapısının bozulmasıdır. Hücre zarlarının bütünlüğü ve akışkanlığı hücrenin devamlılığı için önemlidir.⁶²

2.3.4. Antioxidant Savunma Sistemi

Serbest radikallerin oluşum hızı ve çevreden uzaklaştırılma oranları, metabolizmada oksidatif denge adı verilen homeostatik mekanizmalarla sabit tutulmaktadır. Bu oksidatif denge kurulduğu sürece, organizma serbest radikallerden etkilenmez. Organizmada meydana gelen serbest radikal artışı veya serbest radikallerin ortamdan uzaklaştırılmasında meydana gelen aksaklıklar, bu oksidatif dengenin bozulmasına neden olacaktır. Buna 'oksidatif stres' denir. Oksidatif stres, serbest radikallerin oluşumu ve antioksidan savunma sistemi arasında bir dengesizlik ile sonuçlanır ve doku hasarına yol açar.⁹⁴ Metabolizmadaki doku hasarları ve serbest radikal reaksiyonları; kronik kalp hastalıkları, arterioskleroz, diyabet, inme, nörodejeneratif bozukluklar, alzheimer, katarakt, kanser gibi birçok hastalığa neden olur.^{95, 96} Serbest radikal türlerinin neden olduğu bu zararları önlemek için metabolizmada savunma mekanizmaları geliştirilmiştir. Bu mekanizmalara antioksidan

savunma sistemleri olarak adlandırılır. Antioksidan savunma sisteminde görev alan moleküllere de antioksidanlar denir.^{97, 98} Antioksidan savunma sistemleri organizmada üretilen serbest radikallerin dengede kalmasını sağlayarak bunların neden olduğu zararları ortadan kaldırılmasını sağlar ve oksidatif stresi yok etmeye çalışır.⁹⁹ Antioksidanlar, metabolizmadaki hücrelere zarar vermeden serbest radikal türlerini stabilize eden ve verebilecekleri hasarı en aza indiren moleküllerdir.⁹⁷

İyi bir antioksidan;

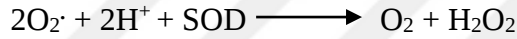
- özellikle serbest radikallerin etkinliğini ortadan kaldırabilmeli,
- redoks metalleri ile şelat oluşturabilmeli,
- doku ve vücut sıvılarında uygun seviyelerde bulunmalı,
- emilmesi kolay olmalı,
- hem sıvı ortamlarda hem de membranlarda kolayca çalışabilmelidir.⁹⁹

Çeşitli özelliklerde serbest radikaller için hidrofilik ve lipofilik antioksidanlara ihtiyaç vardır. Hidrofilik antioksidanlar sitosol ve hücre dışı sıvılarda bulunur ve lipofilikler ise membranlarda ve lipoproteinlerde bulunur.¹⁰⁰ Antioksidanların sınıflandırılması farklı şekillerde yapılabilir. Metabolizma ve işleyiş yerlerine göre, plazma antioksidanları (beta-karoten, askorbik asit, ürik asit, seruloplazmin, vb.), hücre zarında bulunan antioksidanlar (alfa-tokoferol,) ve hücre içi antioksidanlar (süperoksit dismutaz, katalaz, glutatyon peroksidaz vb.) veya yapılarına ve aktivitelerine göre enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olarak sınıflandırılabilirler. Enzimatik antioksidanlar glutatyon peroksidaz, katalaz, süperoksit dismutaz gibi enzimleri içerirken, enzimatik olmayan antioksidanlar karotenoidler, tokoferoller, askorbik asit, fenolik bileşikler gibi genel doğa kaynaklı besinler içerisinde bulunur. Fenolik bileşikler gibi metabolik kökenli antioksidanlar albümin, bilirubin ve seruloplazmin şeklinde sınıflandırılabilir.^{98, 101}

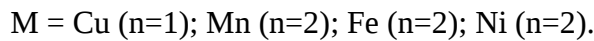
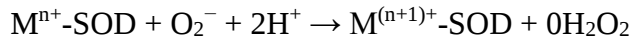
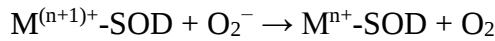
2.3.4.1. Enzimatik Antioksidanlar

2.3.4.1.1. Süperoksit Dismutaz (SOD)

SOD, oksijenin metabolize olduğu hücrelerde bulunan en önemli antioksidan enzimlerden biridir.¹⁰² 1939'da Mann ve Keilin, hemokuprein adı verilen sığır eritrositlerinden bakır içeren mavi bir protein izole ettiler, ancak bu kristalize proteinin enzimatik aktivitesi belirlenemedi. Daha sonra, hemokupreine benzer başka bir bakır içeren protein, insan eritrositlerinden katalize edildi ve eritrokuprein olarak adlandırıldı. Ancak bu molekülde de herhangi bir enzim aktivitesi tespit edilemedi. Daha sonra yapılan bir çalışmada görüldü ki hem hemokupreinde hem de eritrokupreinde enzimatik aktivite bulunmaktadır. Basit bir saflaştırma yöntemiyle SOD enziminin varlığı tespit edildi.¹⁰³ SOD, antioksidanların savunmasında ilk adım olan süperoksit anyonların hidrojen peroksit katalize edilmesini sağlamaktadır.^{104, 105}



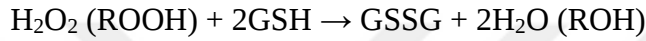
Enzimatik dismutasyon reaksiyonunda, süperoksit anyonlardan bir tanesi ilk önce enzimdeki guanido arginin grubuna bağlanır. Bu bağlanma sırasında, bir elektron vererek Cu^{+2} 'yi Cu^{+1} 'e dönüştürür. Süperoksit anyonu bu şekilde moleküler oksijene dönüşür. Diğer süperoksit anyonu, ortamdaki elektronları ve protonları alır ve hidrojen peroksit oluşumunu sağlar. Böylece, dismutasyon reaksiyonu tamamlanmıştır. Bu reaksiyonları aşağıdaki gibi genelleyebiliriz.



2.3.4.1.2. Glutasyon peroksidazı (GSH-Px)

GSH-Px enzimi ilk olarak 1957 yılında Mills tarafından hayvan dokusunda keşfedildi. Genellikle daha yüksek bitki ve bakterilerde bulunmasına rağmen, bazı alg ve mantarlarda da bulunduğu bildirilmiştir.^{62, 106}

Bu enzimin iki ana tipi tanımlanmıştır. Bu tiplerden biri, selenyuma bağımlı GSH-Px (Se-GSH-Px)'dir. Se-GSH-Px, H₂O₂'in oksidasyonu dahil olmak üzere çeşitli hidroperoksitleri katalize eder. Oksitlenmiş glutasyon (GSSG), GSH-Rd enzimi ile tekrar GSH'ye indirgenir.⁶²



GSH-Px 'in diğer türü ise, selenyuma bağımlı olmayan proteinlerden oluşur ve H₂O₂'ye karşı ihmal edilebilir aktivite gösterir. Bu enzim grubuna GST denir ve GSH'nin elektrofilik bileşiklerle konjugasyonunu katalize eden proteinler olarak tanımlanır.^{62, 107}

Se-GSH-Px, her birimin aktif bölgesinde bir atomik Se içeren dört protein alt biriminden oluşur. Molekül ağırlığı yaklaşık 85,000 dalton'dur. Sitosol ve mitokondride bulunur. Se, selenosistein formundadır ve normal sistein içindeki sülfür yerine Se bulunur (R-SH yerine R-SeH).

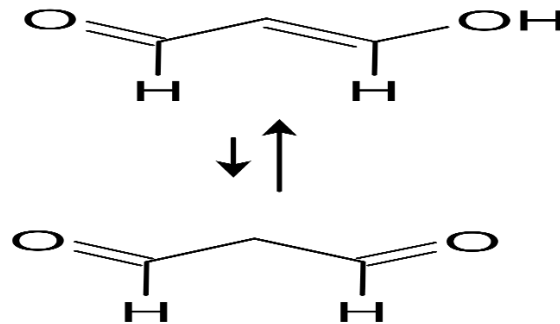
2.3.4.1.3. Malondialdehit (MDA)

Kontrolü yapılamayan oksidatif stresin sonuçlarından biri (prooksidan ve antioksidan seviyeleri arasında prooksidanlar lehine dengesizlik), oksidatif hasarın neden olduğu hücre, doku ve organ hasarındır. Endojen ROS üretiminin birincil kaynakları, enzimatik reaksiyonlar, katekolaminler ve hidrokinon gibi çeşitli bileşiklerin otooksidasyonu dahil olmak üzere çeşitli mekanizmalar yoluyla mitokondri, plazma zarı, endoplazmik retikulum ve peroksizomlardır. İyonlaştırıcı radyasyon, ultraviyole

ışınlar, tütün dumanı, patojen enfeksiyonlar, çevresel toksinler ve herbisit/böcek öldürücüler gibi farklı uyaranlar ise in vivo ROS üretiminin dışsal kaynaklarıdır. Yüksek düzeyde serbest radikallerin veya reaktif oksijen türlerinin (ROS), lipidlere doğrudan zarar verebileceği uzun zamandır bilinmektedir.¹⁰⁸

Lipid peroksidasyonu, genel olarak, serbest radikaller veya radikal olmayan türler gibi oksidanların, karbon-karbon çift bağları içeren lipitlere saldırması olarak tanımlanır. Lipitler ayrıca lipoksijenazlar, siklooksijenazlar ve sitokrom P450 gibi enzimler tarafından oksitlenebilir. Membran lipid peroksidasyonuna yanıt olarak ve spesifik hücresel metabolik koşullara ve onarım kapasitelerine göre hücreler, hücrenin hayatta kalmasını teşvik edebilir veya hücre ölümünü indükleyebilir. Fizyolojik veya düşük düzeyde lipid peroksidasyonu şekillendiğinde, hücreler, yapısal antioksidan savunma sistemleriyle veya antioksidan proteinlerinin artması yoluyla hayatta kalmaları sağlanır. Buna karşılık, orta veya yüksek lipid peroksidasyonu şekillendiğinde oksidatif hasarın boyutu onarım kapasitesini aşar ve hücrelerde apoptozu indüklenir.¹⁰⁸

Lipid peroksidasyonu, çok çeşitli oksidasyon ürünleri üretir. Lipid peroksidasyonunun başlıca birincil ürünleri lipid hidroperoksitleridir (LOOH). Lipid peroksidasyonu sırasında ikincil ürünler olarak oluşabilen maddelerden birisi ise MDA'dır. MDA'nın moleküler yapısı aşağıda gösterilmiştir.¹⁰⁸



Şekil 2.8. MDA'nın moleküler yapısı.

MDA, tiyobarbitürik asit (TBA) ile kolay reaksiyona girmesi nedeniyle omega-3 ve omega-6 yağ asitlerinin lipid peroksidasyonu için uygun bir biyobelirteç olarak uzun yıllardır yaygın olarak kullanılmaktadır. MDA, klinik durumlarda oksidatif stresi belirleyen en popüler ve en güvenilir belirteçlerden biri olduğu için ve MDA'nın yüksek reaktivitesi ve toksisitesi nedeniyle bu molekülün çalışma sıklığı oldukça fazladır.¹⁰⁸

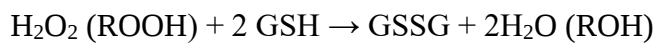
2.3.4.2. Enzimatik Olmayan Antioksidanlar

2.3.4.2.1. Glutasyon (GSH)

GSH, L-glutamik asit, L-sistein ve glisinden oluşan düşük molekül ağırlıklı bir tripeptittir. Hücrede çoğunlukla sitosol, mitokondri ve çekirdekte bulunur. Hücre içi glutasyonun çoğunluğu tiyol (azaltılmış glutasyon, GSH) şeklinde ve daha az sıklıkla disülfid (okside glutasyon, GSSG) şeklinde bulunur.⁶²

Güçlü bir nükleofilik özelliği olan GSH, detoksifikasyonu sağlamak için elektrofilik bileşiklerle konjugasyona girer. Bu reaksiyon, tioeter (merkapturik asit ve N-asetil-sistein türevleri) oluşumu ile sona erer ve ortaya çıkan ürünler de idrarla atılır. GSH'nin elektrofilik bileşik ile konjugasyonu, GST enzimi ile olmaktadır.⁶²

GSH, Se-GSH-Px ve dehidroaskorbat redüktaz enzimlerinin bir substratıdır. GSH çeşitli peroksitler ve serbest radikaller için bir indirgeyici maddedir. Serbest radikallerin hücre içinden temizlenmesi enzimatik olmayan bir şekilde gerçekleşirken, peroksitlerin temizlenmesi GSH-Px ile sağlanır. Hidroperoksitler ve H₂O₂'in GSH-Px ile metabolizması GSH'nin oksidasyonu ile ilgilidir. GSSG, GSH-Rd ile azaltılır ve GSH, NADPH varlığında yeniden oluşturulur.⁶²



GSH ile GSSG arasındaki denge, GSH-Rd ve GSH-Px enzimleri tarafından düzenlenir.

GSH ayrıca membran geçirgenliği, DNA sentezi, protein ve enzim aktivitesinin düzenlenmesi gibi görevlerle de ilgilidir.¹⁰⁹

2.3.4.2.2. Katalaz (KAT)

Katalaz Sumner ve Dounce tarafından 1937'de sığır karaciğ erinden elde edilmiştir. Molekül ağırlığı 240,000 g/mol civarındadır. KAT'lar dört protein alt biriminden oluşur. Her alt birim ayrıca enzimi, substrat H₂O₂'e karşı koruyan, molekülü indirgenmiş bir NADPH içerir. Doku veya hücrelerin depolanması, dondurularak kurutulması, asit ve alkalilerle maruziyeti KAT'ın alt birimlerinin ayrılmasına ve enzim aktivitesinin kaybolmasına yol açar. KAT hayvanlardaki tüm organlarda bulunur, ancak esas olarak karaciğer ve kırmızı kan hücrelerinde bulunur. Aynı zamanda hücre içindeki peroksizomlarda ve mitokondri ve endoplazmik retikulumda da bulunurlar.¹¹⁰



KAT, SOD'a benzer bir dismutasyon reaksiyon mekanizması ile H₂O₂'yi O₂ ve H₂O' ye ayırarak biyolojik sistemlere zararlı olan H₂O₂'ye karşı koruma sağlar.⁶²

KAT'ın ayrıca in vitro koşullar altında nitrit (NO₂⁻)'i nitrat (NO₃⁻)'a, elementer cıvayı da cıva II'ye (Hg²⁺) oksitleyebileceği ileri sürülmüştür.¹¹¹

2.4. İnflamasyon

2.4.1. İnterlökin 1β

İnterlökin-1 (IL-1), bağışıklık ve inflamasyon için oldukça önemlidir. IL-1 ailesinin, agonist aktiviteye sahip 7 ligand (IL-1 α ve IL-1 β, IL-18, IL-33, IL-36α, IL-36β, IL-36γ), 3 reseptör antagonisti (IL-1Ra, IL-36Ra, IL-38) ve 1 anti-enflamatuar sitokin (IL-37) olmak üzere 11 üyesi bulunmaktadır. IL-1α ve IL-1β, farklı genler tarafından kodlanmasına rağmen, aynı reseptöre (IL-1R1) bağlanır ve benzer biyolojik özelliklere sahiptir. Bununla birlikte, bağışıklık, inflamasyon ve kanser üzerine farklı etkilerinin bulunabileceği bildirilmiştir. IL-1α prekürsörü, tüm gastrointestinal sistem,

akciğer, karaciğer, böbrek, endotelial hücreler ve astrositlerin epitel katmanlarında yapısal olarak mevcuttur. Miyokardiyal enfarktüs, felç, akut böbrek yetmezliği ve tümör nekrozu gibi iskemik hastalıklarda meydana geldiği gibi nekroz yoluyla hücre ölümü sırasında, IL-1 α prekürsörü salınır. IL-1 β prekürsörünün aksine, IL-1 α prekürsörü tamamen aktiftir ve inflamasyon sırasında bir dizi inflamatuvar sitokin ve kemokin kaskadını hızlı bir şekilde başlatarak bir "alarm" olarak işlev görür.¹¹²

Buna karşılık IL-1 β , IL-1 ve diğer sitokinler (TNF- α gibi) tarafından tetiklenerek kan monositleri, doku makrofajları, deri dendritik hücreleri ve beyin mikrogliyası gibi hematopoietik hücrelerde üretilir. IL-1 α prekürsörünün aksine, IL-1 β prekürsörü aktif değildir. Ancak kaspaz-1 tarafından aktif sitokin haline dönüştürülür ve hücre dışı boşluğa salınır. Kaspaz-1 hematopoietik hücrelerde bol miktarda bulunmasına rağmen, prokaspaz-1'in ilk olarak inflammasom'dan ayrılması gerekmektedir. Bu inflammasom kompleksinin anahtar bileşeni, kriyopirin olarak da adlandırılan protein-nükleotid bağlama alanı ve lösin açısından zengin pirin içeren protein-3'tür (NLRP3). Kaspaz 1, kendisi bu kompleks yapıdan, önce ayrılır daha sonra aktifleşir. IL-1 β prekürsörü aktive edilmiş kaspaz 1 tarafından IL-1 β 'a dönüştürülür ve bu dönüşen IL-1 β 'lar hücre dışına salınır.¹¹² IL-1 β immun reaksiyonlar için amplifikatör olarak görev yapar. İnflamatuvar hastalıkların belirlenmesinde önemli rol oynamaktadır. IL-1 β eksik farelerde inflamasyonun azaldığı, inflamasyon şekillenen durumlarda ise miktarının arttığı gözlemlenmiştir.¹¹³

2.4.2. TNF-alfa

1975'te tümör nekroz faktörünün (TNF) tanımlanmasından ve 1984'teki izolasyonundan bu yana, bu molekülün 17 kDa olarak salgılanan formu, bir dizi farklı hücre tipinde sayısız fonksiyona sahip ve güçlü bir enflamatuvar sitokin olduğu tespit edilmiştir. TNF- α , esas olarak monositler/makrofajlar tarafından üretilir, ancak T ve B

lenfositleri, mast hücreleri, doğal öldürücü hücreler, nötrofiller, fibroblastlar ve osteoklastlar gibi hücrelerde daha küçük miktarlarda da olsa TNF- α salgılayabilir.

TNF- α ilk olarak hücre yüzeyinde eksprese edilebilen transmembran proteini (mTNF- α) olarak üretilir, burada ya kalmaya devam eder ya da TNF dönüştüren enzim tarafından aktif olarak bölünerek çözünür ve sTNF- α formuna dönüştürülür; sTNF- α daha sonra dolaşıma salınır ve kan plazmasında saptanabilir hale gelir. mTNF- α ve sTNF- α 'nın her ikisi de iki reseptöründen birinin aracılık ettiği hücresel işlevleri yerine getirir, tüm dokularda bulunabilen TNFR1'nin aksine; TNFR2 birincil olarak bağışıklık hücrelerinde, nöronlarda ve endotel hücrelerinde bulunmaktadır. mTNF- α , hücreden hücreye etkileşimleri ileten bir ligand olarak işlev görür ve TNFR2'ye (birincil biyolojik hedefi) bağlandığında, sTNF- α 'dan daha güçlü bir yanıtı indükleyebilir; ilginç bir şekilde, mTNF- α 'nın ayrıca hücrede dışarıdan içeriye sinyalizasyonu başlatarak bir reseptör olarak işlev gördüğü de gösterilmiştir. TNFR1 ve TNFR2'de, mTNF- α ve sTNF- α 'nın hücre dışındaki bağlanma bölgeleri birbirine benzerse, reseptörlerin hücre içinde kalan bölgeleri birbirinden farklıdır. TNFR1'in sitoplazmik kuyruğu bir ölüm alanı (DD) içerir ve bu TNFR1 ile ilişkili DD (TRADD) olarak isimlendirilirken, öte yandan TNFR2, bir hücre içi DD'ye sahip değildir. Hem TNFR1 hem de TNFR2 sinyal yolları NF- κ B aktivasyonuna ve bir hücrenin hayatta kalma tepkisinin uyarılmasına yol açabilse de TNFR1 aynı zamanda fizyolojik koşullara bağlı olarak bir hücre ölümü tepkisini de indükleyebilir; bununla birlikte, her iki TNFR'nin düzenlenmesi hücresel ortama bağlıdır. TNF- α bu yolak üzerinden hücrede inflamasyonun uyarılmasında görevli olup, hücre içinde inflamasyon şekillenip şekillenmediğinin belirlenmesinde biyobelirteç olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ¹¹⁴

2.4.3. Interlökin 6

IL-6; inflamasyon sırasında birçok hücre tipi tarafından salgılanabilen, 184 amino asitlik dört helikal sarmallı bir sitokindir. IL-6, Toll benzeri reseptörlerin (TLR'ler) lipopolisakaritler (LPS) ile bağlanmasından sonra monositler ve makrofajlar tarafından, IL-1 uyarımından sonra fibroblastlar, keratinositler, astrositler ve endotelial hücreler tarafından ve aktif B hücreleri ve T hücrelerinin alt kümeleri ve viral enfeksiyonlardan sonra mikrogial hücreler tarafından salgılanırlar. IL-6, hücre yüzeyinde bulunan IL-6R'ye bağlanarak hücre içinde glikoprotein 130'u aktiveleştirir ve hücre içi sinyalizasyon kaskadını başlatır ve sonuç olarak çekirdek üzerinden transkripsiyon başlatılmış olur. Genel olarak IL-6, immün hücre proliferasyonu ve farklılaşmasının yanı sıra metabolik fonksiyonları ve düzensiz aktiviteye bağlı proinflamatuvar eylemleri içeren homeostatik fonksiyonlarda görevi bulunmaktadır. Bu nedenle, ciddi uzun vadeli yan etkilerden kaçınmak için IL-6'nın homeostatik fonksiyonlarını korumak çok önemlidir. Aksine, IL-6'nın pro-enflamatuvar aktivitelerinin, sıklıkla artmış olduğu bazı hastalıklar için inhibe edilmesi gerekir.¹¹⁵

2.4.4. İnterlökin 10

IL-10, bağışıklık üzerinde hem doğrudan hem de dolaylı olarak geniş bir etki yelpazesine sahip güçlü bir anti-inflamatuvar bağışıklık bastırıcı sitokindir. İnflamatuvar tepkilerin azaltılmasında önemlidir. Birkaç hücre tipi IL-10 üretebilir ancak birçok enfeksiyon için en önemli in vivo kaynaklar; monositler ve makrofajlardır. Özellikle makrofajlar, enfeksiyon sırasında kontrolsüz inflamatuvar sitokin üretimini azaltmak için negatif ve pozitif bir geri besleme döngüsünde IL-10 üretir. IL-10 ekspresyonu, IFN- γ ve IL-10'un kendisi tarafından sıkı bir şekilde kontrol edilir. Ek olarak, IFN- γ , IL-10 üretim yoluna müdahale edebilir ve bunun üretimini fosfoinositid 3-kinaz (PI3K) yoluyla bloke edebilir.¹¹⁶

2.4.5. COX-2

Siklooksijenaz (COX) enzimleri, araşidonik asitten prostaglandin üretimini katalize eder. Prostaglandinler, vücuttaki inflamasyon araçları ve modölatörleri olarak işlev görür. COX enzimleri iki alt tiptedir, yani COX-1 ve COX-2. COX1, prostaglandin oluşumunu katalize eder ve dolayısıyla koruyucu görevleri bulunmaktadır. COX-2 enzimi, inflamasyona ve ağrıya neden olan prostaglandinleri üretir. COX-2 üretimi, interlökin-I, TNF- α , doku plazminojen aktivatörü (tPA) ve lipopolisakarit (LPS) gibi birkaç proinflamatuvar sitokin tarafından indüklenir.¹¹⁷

2.4.6. Nükleer Faktör-Kappa B

Nükleer Faktör-Kappa B (NF- κ B) proteinleri, transkripsiyon faktörler ailelerinden birisidir. İnflamasyon ve bağışıklıkta merkezi öneme sahiptir. NF- κ B transkripsiyon faktörleri ayrıca hücre büyümesini, farklılaşmasını, gelişimini ve apoptozu düzenlemede rol alan yüzlerce genin ekspresyonunu düzenler. NF- κ B proteinleri ailesi, 5 farklı üyeye sahiptir. Bu aile üyelerinin tümü, DNA'ya bağlanması ve dimerizasyonu için gerekli olan bir Rel-homoloji (RHD) bölgesine sahiptir. Ailenin üç Rel üyesi, RelA (p65 olarak da bilinir), RelB ve cRel, gen ekspresyonunu pozitif olarak düzenlemeye hizmet eden bir c-terminal transkripsiyon aktivasyon alanına sahiptir. Diğer iki memeli NF- κ B proteini (NF- κ B1, NF- κ B2) ise Rel proteinlerinden biri ile bir heterodimer olarak eşleştirilmedikçe genellikle transkripsiyonu aktive etmez. Bu çeşitlilik göz önüne alındığında, NF- κ B homo- ve hetero-dimerlerinin DNA bağlanma aktivitesini düzenlemek için çok çeşitli mekanizmaların ortaya çıkması şaşırtıcı değildir. Genel olarak, NF- κ B aktivitesi, genellikle DNA bağlanmasını inhibe eden İnhibitor of nuclear factor kappa B (I κ B) proteinleri tarafından düzenlenir. Bu proteinlerden üçü "tipik" I κ Bs'ler, yani I κ B α , I κ B β ve I κ B ϵ 'dur. Bu proteinler, NF- κ B proteinlerine bağlanır ve DNA bağlanma alanlarını maskeler. Ayrıca, güçlü nükleer

sinyallere sahiptirler ve genellikle NF- κ B proteinlerini çekirdekten çıkarırlar ve bu nedenle birçok yolla inhibe edicidirler. NF- κ B 'yi aktive etmenin birçok yolu olmasına rağmen, NF- κ B hedef genlerinin aktivasyonuna yol açan iki ana sinyal yolu tarif edilmiştir. Bunlara kanonik (veya klasik) ve kanonik olmayan (veya alternatif) yollar adı verilir. Kanonik NF- κ B yolu, çoğunlukla TNF Reseptör süper ailesi, TLR'ler ve İnterlökinler için sitokin reseptörleri gibi proinflamatuvar reseptörlerin uyarılmasıyla aktive edilir. Aynı zamanda genotoksik ajanlar tarafından da aktive edilir. Kanonik olmayan NF- κ B aktivasyonu, TRAF2 ve TRAF3'ün görevlendirilmesi yoluyla sinyal veren spesifik TNF reseptör ailesi üyeleri tarafından uyarılır. NF- κ B, tüm bu yollar üzerinden inflamasyonun şekillenmesinde merkezi bir rol oynar. Birçok çalışmada bu yolağın aktivasyonu yoluyla inflamasyonun şekillendiği veya baskılandığı görülmektedir.

2.5. Apoptozis

Apoptozis, hücre ölümünün programlanmış bir şeklidir ve memeli spermatogenezisi sırasında germ hücre farklılaşmasına yol açan olaylarda önemli bir rol oynar. Bazı içsel ve dışsal faktörler, apoptozun artmasına yol açar, bu da infertilite ile ilişkili sperm üretiminin azalmasına neden olur.

Apoptoz, birçok gen tarafından düzenlenen aktif ve programlanmış bir hücre ölüm sürecidir. Apoptoz, eksojen veya endojen sinyal molekülleri tarafından tetiklenir. Ekstrinsik yol, hücreye ölüm reseptörleri yoluyla iletilebilir. İntrinsik apoptotik yolda, mitokondri etkilenir, Bax (Bcl-2-associated X protein) ve Bcl-2 (B-cell lymphoma 2) aktifleştirilir, mitokondriyal membran geçirgenliğinde değişikliklere neden olunur ve kaspaz-9'u daha sonra kaspaz-3'ü aktive edilir. Kaspaz-3, en kritik apoptoz yürütme proteini olarak görev yapar.¹¹⁸

Bcl-2 ailesi, mitokondriyal apoptotik yolakta önemli bir rol oynar. Bcl-2, mitokondriden sitozole sitokrom c salınımını geciktiren Bcl-2 ailesinin antiapoptotik bir üyesidir, Bax ise Bcl-2 ailesinin proapoptotik üyesidir ve mitokondriden sitozole sitokrom salınımını uyarak Bcl-2'nin sitoprotektif etkisine karşı koyar.¹¹⁹

En önemli oksijensiz radikal olan hidroksil radikalının, guanin gibi DNA zincirinin nükleobazları ile etkileşimi 8-OHdG (8-hydroxy-2' -deoxyguanosine) oluşumuna yol açar. Oksijen radikalleri tarafından 8-OHdG oluşumu ilk olarak 1984 yılında Kasai ve Nishimura tarafından bildirilmiştir. 8-OHdG, en çok incelenen oksitlenmiş metabolitlerden biridir ve DNA'nın oksidatif hasarı için bir biyobelirteç olarak kabul edilir. 8-OHdG seviyeleri sigara, yaşlanma veya mesleki olarak fiziksel, kimyasal veya biyolojik maddelere maruz kalma nedeniyle artar.¹²⁰

Çoğu hücre dışı uyaran, mitojenle aktive olan protein kinaz (MAPK) sinyal yollarının aktivasyonu yoluyla spesifik hücresel tepkiler oluşturabilir. MAPK'lar, hem sitoplazmik hem de nükleer hedefleri fosforile edebilen serin/treonin protein kinazlardır.¹²¹

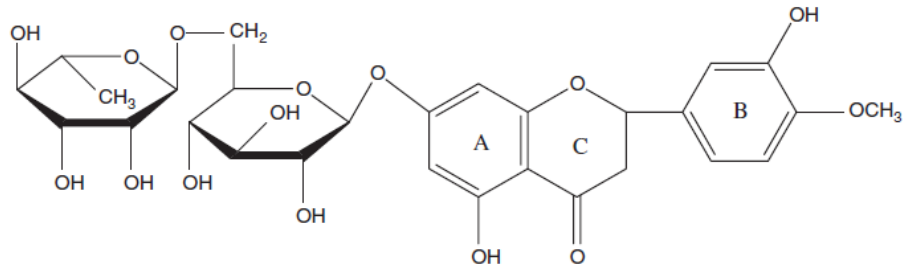
MAPK'ların üyelerinden birisi olan P38 MAPK'lar, inflamasyon tepkisinin düzenlenmesinde önemli rol oynayan IL-1 ve TNF- α gibi iltihaplanma öncesi sitokinler tarafından güçlü bir şekilde aktive edilir.¹²¹

Tümör baskılayıcılar doku homeostazını sürdürmek, yani bir organizma içindeki belirli bir dokudaki hücrelerin sayısını ve davranışını kontrol etmek için hareket eder. Bunu yapmak için, genellikle anormal çoğalmayı önleyen bir veya daha fazla süreci düzenlerler. p53, en kapsamlı olarak incelenen tümör baskılayıcıdır ve çeşitli hücre çoğalmasını önleyici süreçlere aracılık etmek için çeşitli hücresel stres formlarına yanıt olarak etki eder. Bu nedenle p53, hücre döngüsü kontrol noktalarını, DNA onarımını, hücre yaşlanmayı ve apoptozu teşvik etmek için DNA hasarı, hipoksi veya anormal

onkojen ekspresyonu ile aktive edilebilir. Sonuç olarak, p53 işlevinin bozulması, kontrol noktası kusurlarını, genomik istikrarsızlığı ve uygun olmayan hayatta kalmayı teşvik ederek hasarlı hücrelerin sürekli çoğalmasına ve evrimine izin verir.¹²²

2.6. Hesperidin

Polifenoller, patojenlere, radyasyona ve toksinlere karşı koruma sağlayan farklı bitki parçalarına renk ve lezzet veren biyolojik olarak aktif maddelerdir. Flavonoidler en yaygın polifenollerden biridir ve bu bileşikler serbest durumda veya glikozitler olarak faydalı etkileri açısından değerlendirilmişlerdir. Hesperidin, bir disakkarite bağlı flavon aglikon hesperetin içeren bir glikozittir.¹⁸ Hesperidin'in kimyasal yapısı Şekil 2.9. de gösterilmiştir.¹²³



Şekil 2.9. Hesperidin'in kimyasal yapısı.

Hesperidin (hesperetin-7-O-rutinosid) flavanon, hesperetin'in β -glikozit formudur ve neredeyse sadece narenciye meyvelerinde, özellikle portakalda bulunur.¹⁹ Tatlı portakal suyu 487-584 mg Hesperidin/L içerir.²⁰ Hesperidin ve aglikon hesperetin'in, kanser, kardiyovasküler hastalıklar, osteoporoz, obezite ve diyabet gibi birçok dejeneratif hastalıklara karşı faydalı etkilerinin olabildiği öne sürülmüştür.²¹⁻²³

2.6.1 Hesperidin'in Metabolizması

Oral alımdan sonra, hesperidin ve aglikon hesperetin, bağırsak ve karaciğer dokusunda yoğun bir şekilde metabolize edilir ve hesperetin, çoğunlukla sistemik dolaşımda konjuge formlarda bulunur.³¹⁻³⁴ Ağız yoluyla alınan hesperidin, ince

bağırsakta β -glukozidazlar ile hidrolize edilemezler, ancak kolon içine girdiklerinde kolondaki enterositlere absorbe edilmeden önce kolonik mikrobiyota tarafından hesperetin aglikonuna hidrolize edilir.³² Hesperetinin salımı, emilim için hız sınırlayıcı adımdır.³⁴ Hesperidinin aksine, hesperetin aglikonu pasif difüzyon ile doğrudan ince bağırsak enterositine alınabilir.³² Emilen hesperetin incebağırsak, kolon ve karaciğerde; UDP-glukuronosil transferazlar ve sülfotransferazlar tarafından metabolize edilir.³⁵ İnsan idrarında mono-konjüгат ve di-konjüгатlar dahil olmak üzere birçok hesperetin metaboliti tanımlanmıştır.^{31, 33, 36}

2.6.2. Hesperidinin Koruyucu Etkileri

Hesperidin dokularda meydana gelen oksidatif hasara ve inflamasyona karşı koruyucu etkilere sahiptir. Dokudaki inflamatuvar markırların miktarında azalma meydana getirir. Hesperidinin antiinflamatuvar etkisini pro-inflamatuvar sitokinleri ve inflamatuvar enzimleri baskılayarak gösterdiği ifade edilmektedir.¹⁸

Retenone ile indüklenen oksidatif stres ve apoptozis üzerine Hesperidinin etkisinin araştırıldığı bir çalışmada Hesperidin anti-apoptotik markırların seviyesini artırırken, pro-apoptotik markırların seviyelerinde azalma meydana getirdiği bildirilmiştir.³⁸ Hesperidinin aynı zamanda oksidatif DNA hasarını ve lipid peroksidasyonunu azalttığı ifade edilmektedir.³⁹

Yapılan literatür incelemelerinde, ratlarda BPA ile indüklenen testis toksikasyonunda oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis, DNA ve doku hasarı üzerine Hesperidinin etkileri ile alakalı araştırmaya rastlanılmamıştır. Bu çalışmada ratlarda BPA ile indüklenen testiküler toksikasyon sonucu, testis dokusunda oluşabilecek oksidatif stres, inflamasyon, apoptozis, DNA ve doku hasarı üzerine Hesperidinin etkilerinin araştırılması ve literatürdeki boşluğun giderilmesi amaçlanmaktadır.

3. MATERYAL VE METOT

Araştırmamız, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde gerçekleştirilmiştir. Bu çalışma Atatürk Üniversitesi Rektörlüğü Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu'nun 29.05.2020 tarih ve 36643897-000-E.2000125579 sayılı yazısında belirtilen 88 no'lu kararıyla onaylanmıştır.

3.1. Deneylerde Kullanılan Hayvanlar, Kimyasallar ve Yapılan Uygulamalar

Deneylerde kullanılan deney hayvanları Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezi'nden temin edilmiştir. Çalışmamızda 240-260 g ağırlığında 52 adet erkek erişkin (2,5- 3 aylık) Sprague-Dawley cinsi rat kullanılmıştır. Deney grupları Tablo 3.1.'deki gibi oluşturulmuştur. Deney gruplarındaki hayvanların günlük beslenme ve su ihtiyaçları ad-libitum olarak karşılanmıştır. Çalışma süresince deney hayvanlarının bulunduğu ortamın sıcaklığı 25°C, nemi %60 ± 10, ışık periyodu 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık olacak şekilde ayarlandı.

HESP (Cas No: 520-26-3), BPA (Cas No: 80-05-7) ve diğer tüm kimyasallar Sigma-Aldrich'ten (St. Louis, Missouri, ABD) satın alınmıştır. P450scc dışındaki tüm ELISA kitleri SunRedBio'dan satın alınmıştır. P450scc ELISA kiti MyBioSource'tan satın alınmıştır. Tüm antikorlar Santa Cruz'dan elde edildi.

Yapılan çalışmada Bisfenol A'nın zeytin yağında çözündürülmüş %2,5'luk çözeltisinden 100mg/kg'lık dozu, Hesperidin distile su içerisinde çözündürülmüş %1,25'lik çözeltisinden 50mg/kg'lık dozu kullanıldı. Oral gavaj yöntemiyle yapılacak olan kimyasal ve etken madde uygulamalarında gruplar arasında oluşacak muhtemel stres farkını elemine etmek amacıyla 1.Grup (Kontrol)'e Bisfenol A'nın çözücüsü olarak kullandığımız zeytin yağı 1ml verilmiştir. 2. Grup (Hesperidin)'ye %5'lik distile su'da çözündürülmüş 50 mg/kg Hesperidin uygulandı. 3. Grup (Bisfenol A)'e zeytin

yağında çözündürülmüş 100 mg/kg Bisfenol A uygulandı. 4. Grup (Bisfenol A+Hesperidin)’e 100 mg/kg Bisfenol A ve 50 mg/kg Hesperidin uygulaması birlikte yapıldı. Söz konusu uygulamalar 14 gün boyunca her sabah saat 09:00 ‘da gerçekleştirildi.

Tablo 3.1. Araştırmada uygulanan deney grupları, gruplardaki hayvan sayıları ve uygulama süreleri

Grup Sayısı	Gruplar	Hayvan sayısı	Uygulama süresi
1.Grup	Kontrol	13	14 gün
2.Grup	Hesperidin (50mg/kg)	13	14 gün
3.Grup	Bisfenol A (100mg/kg)	13	14 gün
4.Grup	Bisfenol A (100mg/kg) + Hesperidin (50mg/kg)	13	14 gün

Ratlar 14 günlük uygulamaların sonunda sevofluran ile inhalasyon anestezisi altına alındı. Anestezi altına alınan ratlardan intrakardiyak olarak 1-2 ml kan örneği toplandı. Anestezi altındaki ratlardan testis dokuları da alındıktan sonra hayvanlara yüksek dozda sevofluran verilerek ötenazi oluşturuldu.

3.2. Biyokimyasal Analizler

Deney sonunda ratlardan elde edilen testis dokularından; oksidan ve antioksidan parametreler spektrofotometrik yöntemle belirlendi. Testis dokusundan elde edilen süpernatantlarda TNF- α , NF- κ B, IL-6, IL-1 β , IL-10, COX-2 inflamasyon markırları da ELISA yöntem aracılığıyla analiz edildi. Bununla birlikte testis dokusu süpernatantlarında apoptozis ile ilgili olan p38-MAPK ve p53 düzeyleri ile steroidojenik enzimler olan StAR, P450scc ve 17 β -HSD ELISA yöntemiyle ölçüldü.

Ratlardan intrakardiyak olarak alınan kan örnekleri klot faktör bulunan jelli tüplere aktararak +4°C’de soğutmalı santrifüjde 3500-4000 rpm devirde 10 dakika santrifüj edildi. Elde edilen serum örnekleri aligotlanarak analizler yapılana kadar -

20°C'lik derin dondurucuda muhafaza edildi. Analizler ELISA yöntemi kullanılarak gerçekleştirildi. Serumda FSH, LH ve Testosteron düzeyleri ölçüldü.

3.3. ELISA Yöntemiyle İlgili Parametrelerin Ölçümü

3.3.1. Testis doku örneklerin Hazırlanması

-20°C derecede muhafaza edilen testis dokularından küçük bir kesit, bistüri yardımı ile kesilerek kalan kısım hızlı bir şekilde derin dondurucuya geri konuldu. Alınan parça MagNA lyser tüplerine konuldu ve üzerine 1,5ml pH 7.4 olan PBS ve çelik bilye eklendi. Daha sonra MagNA lyser cihazına yerleştirilen örnek 6000 devirde 40 sn boyunca homojenize edildi. Homojenizasyon işleminden sonra soğutmalı santrifüj cihazında 3000 devirde 20 dk boyunca santrifüj edildi. Elde edilen süpernatantlar ayrı bir tüpe aktarıldı. Daha sonra ticari olarak satın alınan ELISA kitinin protokolüne göre aşağıdaki adımlar izlendi.

3.3.2. Standart hazırlama

Tablo 3.2. Standart Hazırlama Tablosu.

Miktar	İsim	Yapılan işlem
80ng/ml	Standart No 5	120 µl Orijinal Standart + 120 µl Standart Dilüent
40ng/ml	Standart No 4	120 µl Orijinal Standart No 5 + 120 µl Standart Dilüent
20ng/ml	Standart No 3	120 µl Orijinal Standart No 4 + 120 µl Standart Dilüent
10ng/ml	Standart No 2	120 µl Orijinal Standart No 3 + 120 µl Standart Dilüent
5ng/ml	Standart No 1	120 µl Orijinal Standart No 2 + 120 µl Standart Dilüent

Tablo 3.2.'e göre ELISA kitlerinin içinden çıkan standart diluent solüsyonu 5 farklı tüpe 120 mikrolitre olarak eklendi. Daha sonra Standart No 5 isimli tüpe 120 mikrolitre elisa kitinde bulunan standartdan ekleme yapıldı. Bu solüsyon vortekslenip içerisinden 120 mikrolitre alınıp Standart No 4 tüpüne eklendi ve vortekslenip 120 mikrolitresi standart No 3 tüpüne eklendi bu işlem bu şekilde devam edildi ve en son olarak standart No 2 tüpünden 120 mikrolitre alındı ve Standart No 1 tüpüne ekleme

yapıldığı zaman işlem tamamlanmış oldu. Bu şekilde 5 farklı tüpte birbirinin yarısı kadar konsantrasyonda standart hazırlanmış oldu. Bunlar plate üzerinde 10 farklı kuyucuğa her standarttan 2 adet olmak üzere 50 mikrolitre olarak yüklendi. Daha sonra standart kuyucuklarına 50 mikrolitre Streptavidin-HRP eklendi. Standart kuyucuklarının dışında blank dediğimiz 1 adet boş kuyucuk ayrıldı. Blank kuyucukları üzerine de sadece kromojen solüsyonu A, B ve stop solüsyonu eklendi. Not: Yukarıda Tablo 3.2.' de verilen miktar kısmı kitlere göre değişmektedir. Örnek olarak verilmiştir.

3.3.3. Örneklerin Yüklmesi

Hazırlanan süpernatantlardan 40 mikrolitre ayarlanacak şekilde boş kuyucuklara yükleme yapıldı. Daha sonra bu kuyucuklara 10 mikrolitre antibody ve 50 mikrolitre streptavidin-HRP eklendi. Daha sonra plate'nin üzeri kit içerisinde çıkan bir membranase ile kapatıldı ve hafif şekilde kimyasalların karışması için çalkalandı ve 37°C de 1 saat inkübe edildi.

3.3.4. Yıkama Prosedürü

İnkübasyon periyodundan sonra plate üzerindeki sıvı kısım döküldü ve 5 kez PBS ile yıkama gerçekleştirildi.

3.3.5. Kromojen A ve B yüklenmesi

Yıkama işlemi tamamlandıktan sonra kromojen A 50 mikrolitre olarak tüm kuyucuklara eklendi. Daha sonra karanlık ortamda kromojen B 50 mikrolitre olarak tüm kuyucuklara eklendi, üzeri membran ile kapatıldıktan sonra 10 dk. 37°C de inkübe edildi. Mavi renk oluşumu görüldükten sonra 50 mikrolitre stop solüsyonundan eklendi ve mavi rengin sarı renge dönüştüğü görüldü.

3.3.6. Okutma Aşaması

Okuma aşamasına hazır hale getirilen playt Biotech 2 cihazına yerleştirildi. 450 nm dalgaboyunda ölçüm yapıldı ve daha sonra sonuçlar Excel üzerinden hesaplandı.

3.4. Histopatolojik İncelemeler

Ratlardan alınan doku örnekleri %10'luk formaldehit solüsyonunda tespit edildi. Fikzasyon sonrası dokular dereceli alkol ve ksilen serilerinden geçirilerek parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan 5 mikrometre kalınlığında kesitler alındı. Alınan kesitlere hemotoksilen eosin boyaması yapılarak histopatolojik değişiklikler değerlendirildi.

3.5. İmmunohistokimyasal (IHC) İncelemeler

İmmunperoksidaz inceleme amacıyla adhezivli (poly-L-Lysin) lamlara alınan tüm kesitler, ksilol ve alkol serilerinden geçirilerek, deparafinize ve dehidre edildi. Daha sonra distile suda 5 dk yıkandı. Fosfat buffer solüsyonu (PBS, pH 7.2) ile 5dk yıkanıp, %3'lük H₂O₂ de 10 dk tutularak, endojen peroksidaz inaktive edildi. PBS de 5-10 dk yıkandıktan sonra, nonspesifik zemin boyanmasını önlemek için tüm primer ve sekonder antikorlarla uyumlu olan protein blok ile 5 dk inkubasyona bırakıldı. İnkubasyon sonunda doku kesitleri üzerinde kalan blok solusyonunun fazlası döküldükten sonra yıkanma yapılmadan primer antikorlara (Kaspaz-3, 8 OHdG, Bax ve Bcl-2) ve kontrol grubunda PBS damlatıldı. Primer antikora uygun olarak 1 saat oda sıcaklığında ya da 1 gece +4°C'de bekletildi. PBS ile 2 kez 5'er dk yıkanıp, biotinize sekonder antikor ile oda sıcaklığında 10-30 dk. inkube edildi. PBS ile tekrar yıkanan kesitler, streptavidin-peroksidaz da 10-30 dk. bekletildikten sonra PBS ile aynı şekilde yıkandı. Yıkama işleminden sonra kesitlere 3-3' Diaminobenzidine (DAB) kromojen, damlatılarak kromojeni almasına göre 5-10 dk. bekletildi. Zemin boyanması için Mayer's hematoksilende 1-2 dk. tutulduktan sonra musluk suyunda yıkandı. Daha sonra alkol ve ksilol serilerinden geçirilerek lamelle kapatıldı ve ışık mikroskobu (Leica DM 1000) ile incelendi. Kesitler immun pozitifliklerine göre yok (-), hafif (+), orta (++) ve şiddetli (+++) olarak değerlendirildi.

3.6. Sperma Analizleri

Deney sonunda ötenazi edilen ratların testisleri alınarak yağ ve çevresel bağ dokularından temizlendikten sonra ağırlık tartımları yapıldı. Kauda epididimislerden rastgele seçilen bir tanesi alınarak 5 ml serum fizyolojik içeren petri kabı içerisinde bistüri yardımı ile trim yapılarak kauda epididimiste depo edilen spermatozoonların serum fizyolojiye göç etmesi için 5 dakika beklendi. Bu süre sonunda elde edilen sıvı, sperma örneği olarak kullanıldı.

Spermatozoonların motilite tayini ışık mikroskobunda gerçekleştirildi. Taze sperma örneğinden 1 damla alınarak lam üzerine damlatılıp lamelle kapatıldı. Hazırlanan preparat mikroskobun ısıtmalı tablası üzerine yerleştirildi. Spermatozoonların hareketleri ışık mikroskobu altında en az 2 farklı sahada gözlemlenerek hareketli spermatozoonların yüzde oranı tespit edilip bu 2 sahanın aritmetik ortalaması alınarak belirlendi.

Sperma yoğunluğu için 10 mikrolitre sperma örneği 990 mikrolitre serum fizyolojik içeren tüplere alınarak 1/100 oranında sulandırılması sağlandı. Daha sonra tüpler vortekslendikten sonra içerisinden 20 mikrolitre sperma örnek alınarak Thoma lamına aktarıldı ve Thoma lamındaki iki büyük karedeki spermatozoonların sayısının aritmetik ortalaması alınarak 1 ml'deki spermatozoon sayısı hesaplandı. Hesaplama yapılırken şu formül kullanıldı;

$$ESY = SSS (\text{aritmetik ortalama}) \times SO (500) \times TLD (10) \times K (1000)$$

- ESY: Epididimal Sperm Yoğunluğu
- SSS: Sayılan Spermatozoon Sayısı
- SO: Sulandırma Oranı
- TLD: Thoma Lamının Derinliği
- K: 0,1 mm³'ü 1 ml'e çevirme değeri

Spermatozoonların ölü/canlı ve morfolojik muayenesinin yapılması için 1 damla eosin 1 damla nigrosin boyası ve 1 damla sperma örneği lam üzerine damlatılarak sürme

froti çekilerek ısı kaynağı önünde (55-60 °C) hızlı kuruması sağlandı. Daha sonra froti mikroskop altında x100'lük büyütme ile incelenerek 200 adet spermatozoon ölü/canlı ve morfolojik açıdan incelenerek spermatozoonların baş kısmının boya alma durumuna göre ölü/canlı oranı (%) ve anormal spermatozoon yapılarının oranı (%) hesaplandı.

3.7. İstatistiksel Analiz:

Çalışmalar sonunda elde edilen kantitatif değerler SPSS 20.00 istatistik veri programında ikiden fazla bağımsız grupların istatistiksel analizinde kullanılan one-way ANOVA sonrası Tukey testi uygulanarak değerlendirildi.

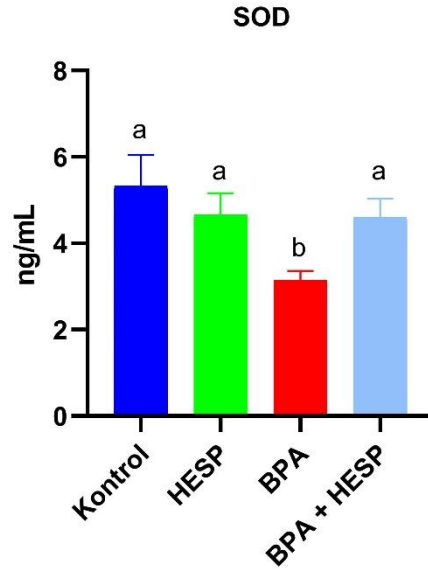


4. BULGULAR

Ratlarda Bisfenol A ile deneysel olarak oluşturulan testis toksikasyonunda hesperidin uygulamasının etkileri ile ilgili olarak elde ettiğimiz bulgular aşağıda sunulmuştur. Çalışmamızda Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP şeklinde 4 deney grubu oluşturulmuştur. Söz konusu deney gruplarında oksidatif stres parametrelerinin (SOD, GSH, GPx, KAT, MDA), inflamatuvar markırların (IL-1B, IL-6, IL-10, TNF- α , NF- κ B, COX-2), apoptozis parametrelerinin (p53, p38 MAPK), hormon (FSH, LH, Testosteron) düzeylerinin, steroidojenik enzimlerin (StAR, p450scc, 17 β -HSD3), testis dokusu ağırlıklarının, sperm muayenelerinin (motilite, yoğunluk, anormal sperm ve ölü sperm), histopatolojik ve immunohistokimyasal parametrelerin (Bcl-2, Bax, Kaspaz-3, 8-OHdG) analizleri gerçekleştirildi. Elde edilen veriler deney grupları arasındaki farklılıkları göstermek amacıyla istatistiksel değerlendirmeleri ile beraber grafik, tablo ve şekil halinde verildi.

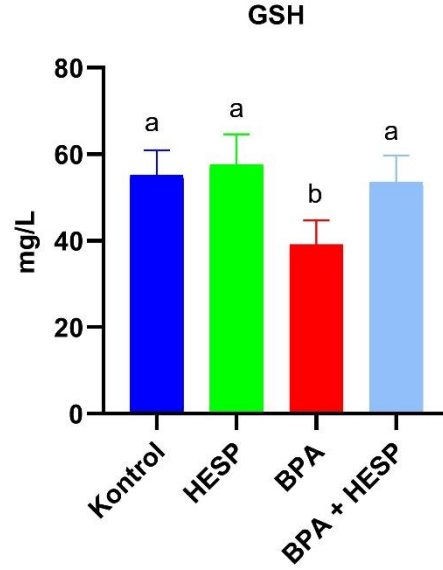
4.1. Deney Gruplarında Testis Dokusu Oksidatif Stres Parametreleri

Yaptığımız çalışmada testis dokusundan elde edilen oksidatif stres parametreleri (SOD, GSH, GPx, KAT ve MDA) sırasıyla Şekil 4.1, Şekil 4.2, Şekil 4.3, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5’de gösterilmiştir.



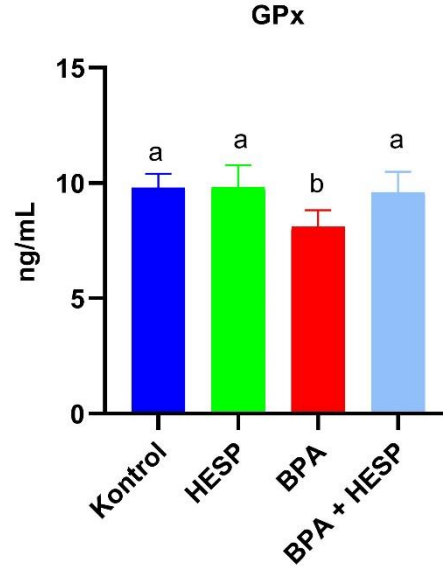
Şekil 4.1. Testis Dokusunda SOD Enzimi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de SOD Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}p<0.01; n=13)

Testis dokusunda oksidatif stresin belirteçlerinden birisi olan SOD enziminin düzeyi, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında benzerdi. Söz konusu gruplarda farkın anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$). BPA grubunda ise elde edilen değerlerin Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre belirgin bir şekilde daha düşük olduğu ve bu gruplarla arasında farkın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).



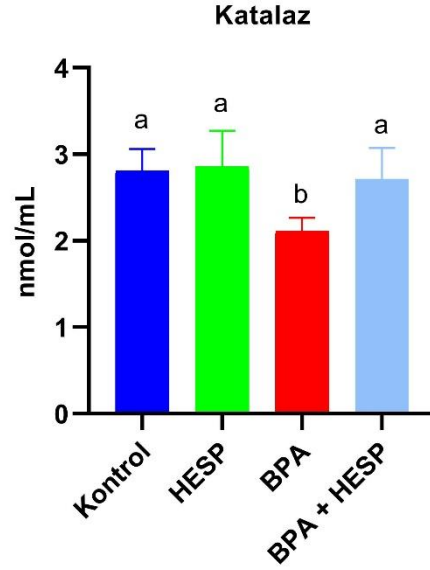
Şekil 4.2. Testis Dokusunda GSH Enzimi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de GSH Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$; $n=13$)

GSH enziminin, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen değerleri birbirine yakındı ve bu gruplar arasında farkın istatistiksel anlamda anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). BPA grubunda ise bu değerler Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre ciddi bir şekilde daha düşük olduğu ve bu gruplarla arasında farkın anlamda anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$).



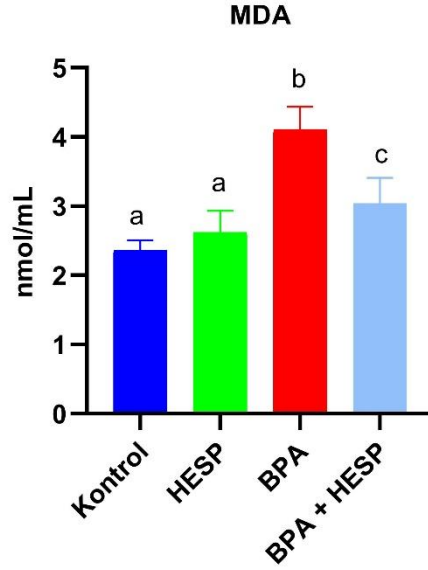
Şekil 4.3. Testis Dokusunda GPx Enzimi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de GPx Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}p<0.01; n=13)

GPx enzim seviyesinin, Kontrol, HESP ve BPA+HESP grupları arasında elde edilen değerleri birbirine yakındı ve bu gruplar arasında farkın istatistiksel anlamda anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). BPA grubunda GPx seviyesinin Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre ciddi bir biçimde azaldığı ve bu gruplarla arasında farkın anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$).



Şekil 4.4. Testis Dokusunda Katalaz Enzim Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Katalaz Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$; $n=13$)

Katalaz enzim seviyelerinin Kontrol, HESP ve BPA+HESP grupları arasında elde edilen değerleri birbirine yakındı ve bu gruplar arasında farkın istatistiksel anlamda anlamlı olmadığı görüldü ($p>0.05$). BPA grubunda ise katalaz seviyesinin Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre ciddi bir şekilde azaldığı ve bu gruplarla arasında farkın anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$).

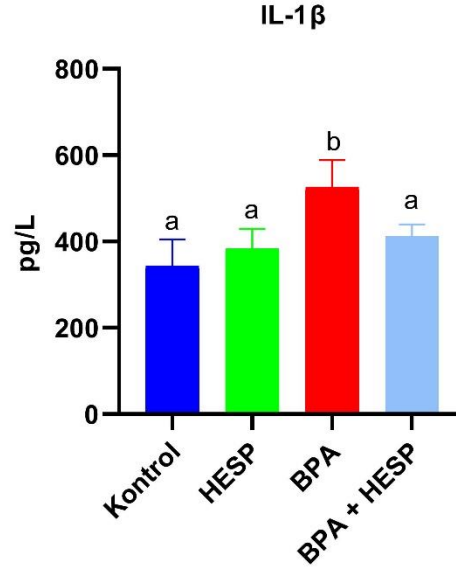


Şekil 4.5. Testis Dokusunda MDA Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de MDA Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b, a-c, b-c} $p<0.01$; $n=13$)

Lipit peroksidasyonunun göstergesi olan MDA düzeyleri Kontrol ve HESP gruplarında benzer sonuçlar verdi ve elde edilen sonuçlar bu iki grup arasında karşılaştırıldığında farkın istatistiksel anlamda anlamlı olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Kontrol ve HESP gruplarından elde edilen değerlere göre BPA grubundan elde edilen değerler oldukça yüksek bulundu ve bu gruplar arasında farkın istatistiksel anlamda anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.01$). Kontrol ve HESP gruplarından elde edilen değerler BPA+HESP grubundan elde edilen veriler ile karşılaştırıldığı zaman BPA+HESP grubundaki verilerin yüksek olduğu, bu farklılığın ise istatistiksel anlamda anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.01$). BPA grubundan elde edilen değerlerin ise BPA+HESP grubundan elde edilenlere göre yüksek olduğu ve gruplar arasında farkın anlamda anlamlı düzeyde olduğu belirlendi ($p<0.01$).

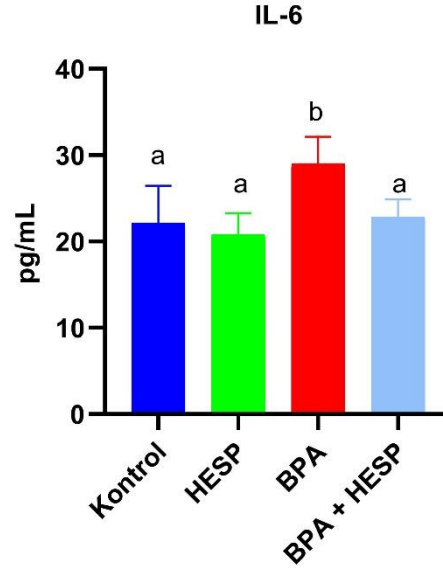
4.2. Deney Gruplarında Testis Dokusu İnflamasyon Parametreleri

Yapmış olduğumuz deneysel çalışma sonunda testis dokusunda inflamasyonun belirlemek amacıyla IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α , NF- κ B ve COX-2 düzeyleri belirlendi ve elde ettiğimiz bulgular sırasıyla Şekil 4.6, Şekil 4.7, Şekil 4.8, Şekil 4.9, Şekil 4.10 ve Şekil 4.11.'de sunuldu.



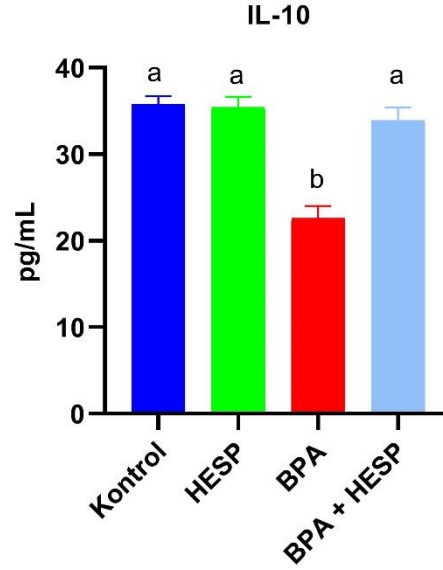
Şekil 4.6. Testis Dokusunda IL-1 β Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de IL-1 β Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p < 0.01$; $n = 13$)

Yaptığımız çalışmada IL-1 β sonuçlarının Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında benzer sonuçlar gösterdiği ve bu gruplar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede farkın anlamlı düzeyde bulunmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$). BPA grubunda ise IL-1 β verileri Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre belirgin bir şekilde yüksekti ve bu gruplarla BPA grup verileri arasında farkın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p < 0.01$).



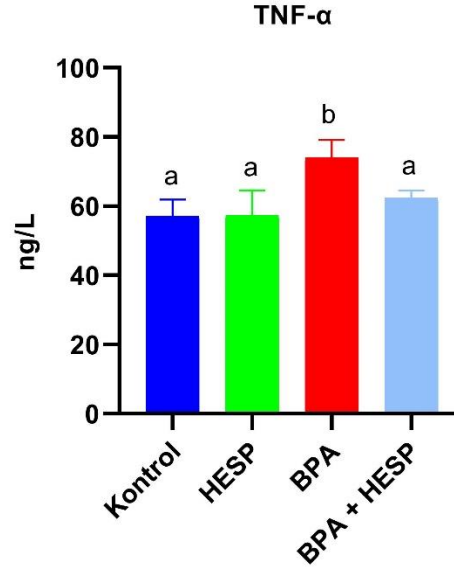
Şekil 4.7. Testis Dokusunda IL-6 Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de IL-6 Enzim Düzeyi. Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p < 0.01$; $n = 13$)

IL-6 enzim düzeyleri, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında birbirlerine yakındı ve bu gruplardan elde edilen sonuçlarda istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde fark belirlenmedi ($p > 0.05$). BPA grubunda ise elde edilen IL-6 enzim düzeyleri ile Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen IL-6 enzim düzeyleri karşılaştırıldığında farkın aralarında anlamlı düzeyde olduğu gözlemlendi ($p < 0.01$).



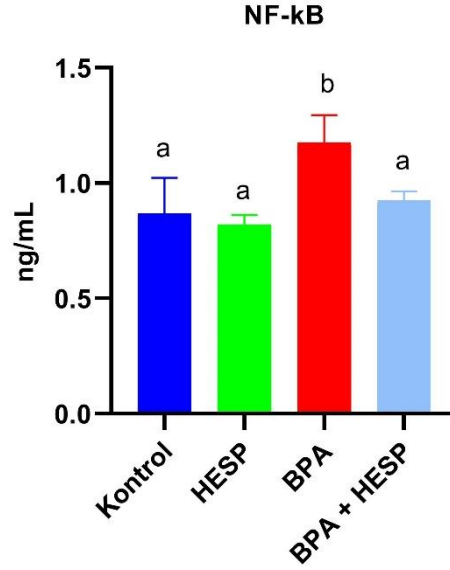
Şekil 4.8. Testis Dokusunda IL-10 Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de IL10 Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$; $n=13$)

Bir anti-inflamatuar olan IL-10’nun, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen sonuçları birbirine çok yakındı ve istatistiksel olarak anlamlı bir farkın gruplar arasında anlamlı düzeyde bulunmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). BPA grubunda ise IL-10 enzim düzeyi belirgin bir şekilde daha düşük olduğu ve Kontrol, HESP ve BPA+HESP grupları ile aralarında farkın anlamda anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).



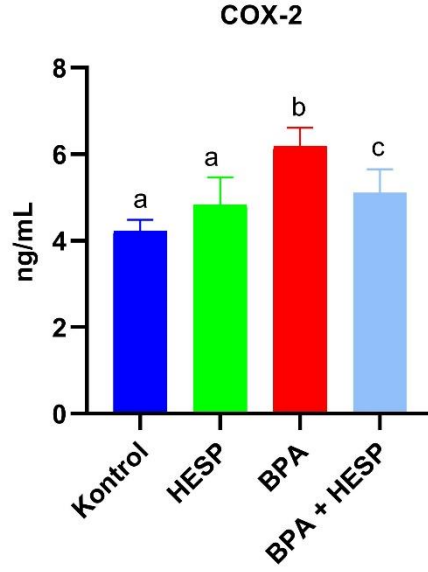
Şekil 4.9. Testis Dokusunda TNF- α Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Hesp’de TNF- α Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$; n=13)

TNF- α enzim düzeyinin, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen sonuçları birbirleriyle karşılaştırıldı ve farkın istatistiksel anlamda anlamlı bir düzeyde olmadığı belirlendi ($p>0.05$). BPA grubunda ise TNF- α düzeyinin belirgin bir şekilde Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre arttığı ve bu gruplar ile BPA grubu arasında farkın anlamda anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).



Şekil 4.10. Testis Dokusunda NF-κB Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de NF-κB Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$; $n=13$)

NF-κB enzim düzeyinin, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarındaki sonuçlarının benzer olduğu ve bu değerlerin istatistiksel olarak fark oluşturmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). BPA grubunda ise NF-κB enzim düzeyinin belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu ve Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen NF-κB enzim düzeyleri ile BPA grubundan elde edilen değerler karşılaştırıldığında farkın anlamda anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.01$).

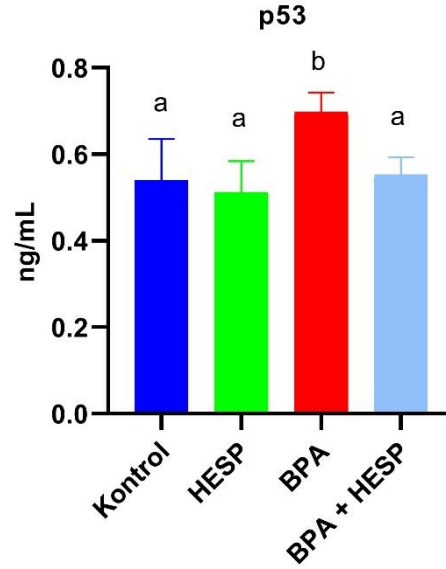


Şekil 4.11. Testis Dokusunda COX-2 Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de COX-2 Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b, a-c, b-c} $p<0.01$; $n=13$)

COX-2 enzim düzeyinin, Kontrol ve HESP gruplarından elde edilen verileri değerlendirildiğinde, değerlerin birbirine yakın olduğu ve farkın istatistiksel anlamda anlamlı bulunmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). BPA grubundaki COX-2 değerleri ile Kontrol ve HESP gruplarındaki COX-2 değerleri karşılaştırıldığında BPA grubundaki değerlerin daha yüksek olduğu ve aralarında olarak fark meydana geldiği görüldü ($p<0.01$). BPA grubu ile BPA+HESP grubu arasında COX-2 enzim düzeyi karşılaştırıldığında BPA+HESP grubunun daha düşük olduğu ve istatistiksel olarak farkın anlamlı düzeyde meydana geldiği görüldü ($p<0.01$). Kontrol ve HESP gruplarından elde edilen COX-2 değerlerinin, BPA+HESP grubundan elde edilen COX-2 değerlerine göre daha düşük olduğu ve birbirleri arasında farkın anlamlı düzeyde olduğu tespit edildi ($p<0.01$).

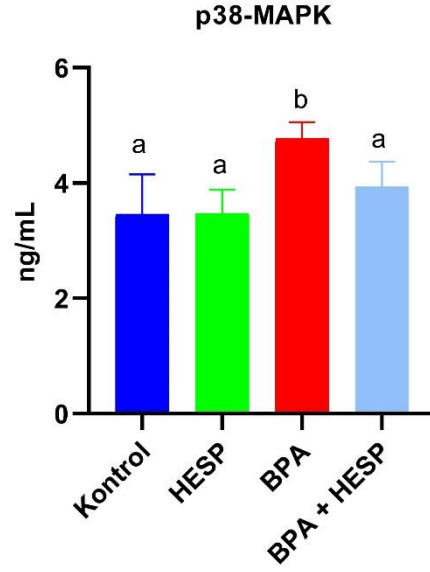
4.3. Deney Gruplarında Testis Dokusu Apoptozis Parametreleri

Yapmış olduğumuz deneysel çalışma sonunda elde ettiğimiz testis dokularında apoptozis parametreleri olan p38MAPK ve p53 düzeyi ELISA yöntemi kullanılarak belirlendi ve Şekil 4.12 ve Şekil 4.13 de gösterildi.



Şekil 4.12. Testis Dokusunda p53 Düzeyi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de p53 Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p < 0.01$; $n = 13$)

Çalışmamızda p53 enzim düzeylerinin, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen sonuçlarının birbirine yakın olduğu ve bu verilerin aralarında farkın bulunmadığı tespit edildi ($p > 0.05$). BPA grubunda ise elde edilen değerlerin diğer tüm gruplarda elde edilen değerlere göre daha yüksek olduğu ve bu gruplar ile BPA grubu arasında elde edilen veriler açısından farkın anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.01$).

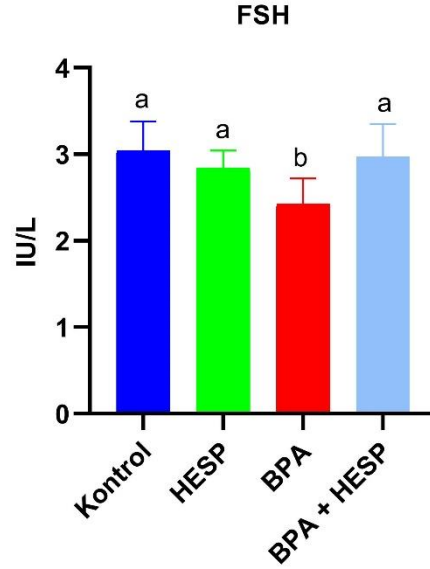


Şekil 4.13. Testis Dokusunda Apoptozis Parametreleri. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de p38 MAPK Enzim Düzeyi. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$; $n=13$)

Diğer bir apoptozis parametresi olan p-38MAPK’nın Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen değerleri birbirine yakındı ve aralarında farkın anlamda önemli olmadığı bulundu ($p>0.05$). BPA grubundan elde edilen p-38MAPK değerlerinin Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen p-38MAPK değerlerinden yüksek olduğu ve BPA grubu ile diğer gruplar arasında elde edilen değerler açısından farkın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).

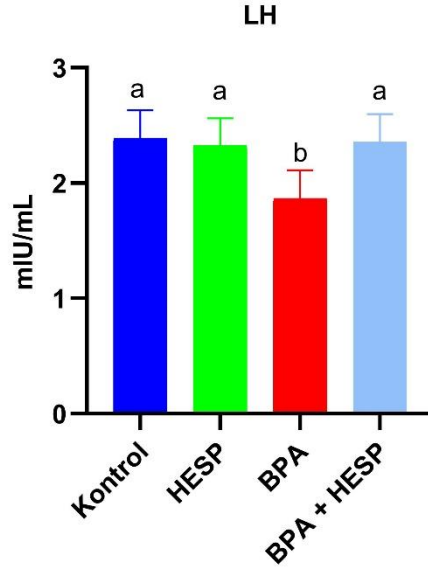
4.4. Deney Gruplarında Serumda FSH, LH ve Testosteron Parametreleri

Deneysel aşamanın sonunda ratlardan alınan kan örneklerinden elde edilen serumlarda FSH, LH ve Testosteron düzeyleri belirlendi ve elde edilen sonuçlar Şekil 4.14, Şekil 4.15 ve Şekil 4.16 da gösterildi.



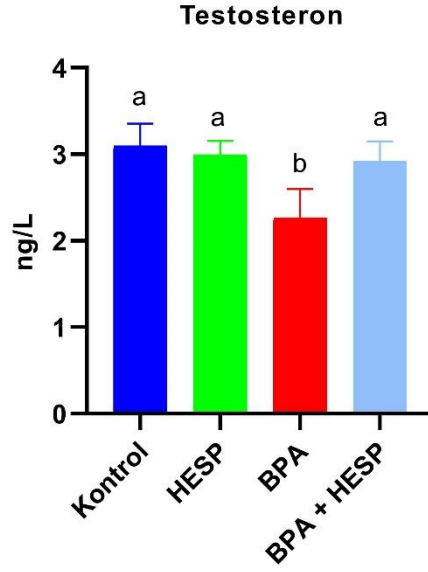
Şekil 4.14. Serumda FSH Düzeyleri Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de serum FSH Enzim Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}p<0.01; n=13)

Serum FSH düzeyleri, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında birbirlerine yakındı ve elde edilen sonuçlar arasında yapılan değerlendirmede anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). BPA grubunda ise elde edilen sonuçlar Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elden edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında BPA grubundaki değerlerin daha düşük olduğu ve BPA grubu ile diğer gruplar arasında farkın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).



Şekil 4.15. Serumda LH Düzeyleri Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Serum LH Enzim Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p < 0.01$; $n = 13$)

Serum LH düzeylerinde, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında benzer sonuçlar verdiği ve bu verilerin birbiri arasında fark oluşturmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$). BPA grubunda ise LH düzeyinin diğer 3 gruba göre belirgin bir şekilde daha düşük olduğu ve Kontrol, HESP ve BPA+HESP grupları ile BPA grubu arasında farkın anlamlı olduğu görüldü ($p < 0.01$).

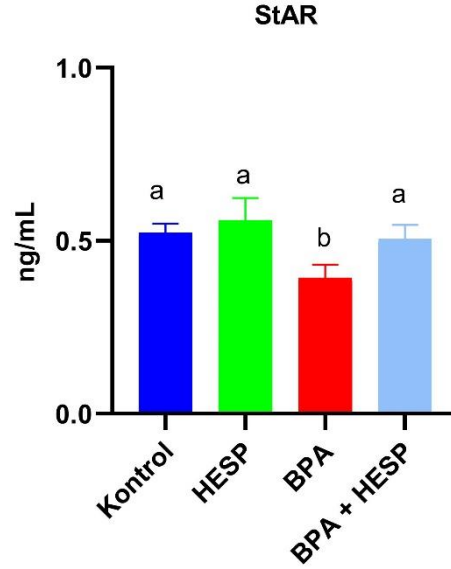


Şekil 4.16. Serumda Testosteron Düzeyleri. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Serum Testosteron Enzim Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p < 0.01$; $n=13$)

Serum Testosteron düzeylerinde ise Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen sonuçlar birbirlerine yakındı ve bu veriler söz konusu gruplar arasında yapılan analizlerde bir farklılık göstermedi ($p > 0.05$). BPA grubunda ise Testosteron düzeyinin belirgin bir şekilde Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre daha düşük olduğu ve bu gruplar ile BPA grubu arasında farkın anlamda anlamlı olduğu gözlemlendi ($p < 0.01$).

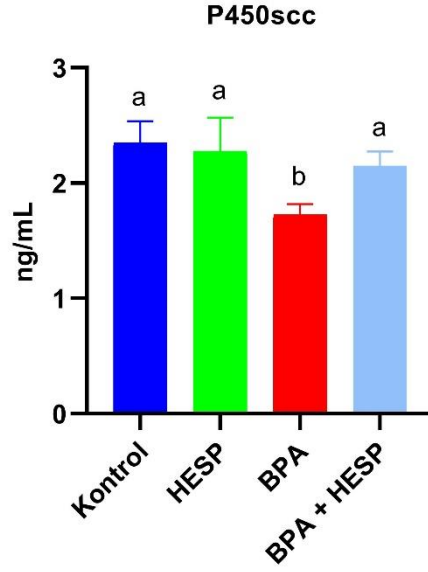
4.5. Deney Gruplarında Testis Dokusu Steroidojenik Enzimler

Deneyisel sürecin tamamlanmasından sonra ratlardan alınan testis dokusunda bazı steroidojenik enzimlerin düzeyleri ELISA yöntemiyle belirlendi ve Şekil 4.17, Şekil 4.18 ve Şekil 4.19 da gösterildi.



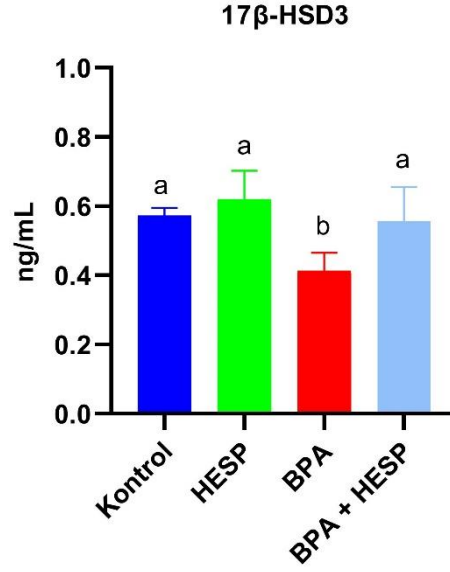
Şekil 4.17. Testis Dokusunda StAR Düzeyleri. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de StAR Enzim Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}, $p < 0.01$; $n = 13$)

StAR enzim düzeyleri, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında birbirlerine yakın değerler olarak belirlendi ve söz konusu gruplar arasında farkın anlamlı olmadığı gözlemlendi ($p > 0.05$). BPA grubunda ise StAR enzim düzeyinin belirgin bir şekilde daha düşük olduğu ve Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen StAR enzim düzeyleri ile BPA grubundan elde edilen değerler karşılaştırıldığında farkın anlamlı olduğu gözlemlendi ($p < 0.01$).



Şekil 4.18. Testis Dokusunda p450scc Düzeyleri. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de p450scc Enzim Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}, $p<0.01$; $n=13$)

p450scc enzim düzeylerinde, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen veriler birbirleriyle karşılaştırıldı ve gruplar arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ($p>0.05$). BPA grubunda ise P450scc düzeyinin belirgin bir şekilde Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarına göre azaldığı ve bu gruplar ile BPA grubu arasında farkın anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.01$).



Şekil 4.19. Testis Dokusunda 17β-HSD3 Düzeyleri. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de 17β-HSD3 Enzim Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}, $p<0.01$;n=13)

17β-HSD3 enzim düzeylerinde, Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen bulguların birbirine yakın olduğu ve bu verilerin aralarında anlamlı bir farkın bulunmadığı tespit edildi ($p>0.05$). BPA grubundan elde edilen değerlerin diğer tüm gruplardan elde edilen değerlere göre daha düşük olduğu ve bu gruplar ile BPA grubu arasında yapılan karşılaştırmada farkın anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$).

4.6. Deney Gruplarında Ortalama Testis ve Vücut Ağırlıkları

BPA uygulanan ratların ortalama testis ve vücut ağırlıkları tartılmış ve elde edilen sonuçlar Tablo 4.1. de gösterilmiştir.

Tablo 4.1. Deneyin başlangıcında ve sonunda ratların canlı ağırlıkları ve deney sonundaki testis ağırlıkları.

	Kontrol	HESP	BPA	BPA+HESP
Başlangıç Vücut Ağırlığı (g)	251,43±5,56 ^a	250,29±6,07 ^a	252,00±5,00 ^a	253,86±4,88 ^a
Final Vücut Ağırlığı (g)	280,57±28,18 ^a	293,14±30,71 ^a	273,57±17,96 ^a	274,86±12,32 ^a
Ortalama Testis Ağırlığı (g)	1,58±0,13 ^a	1,62±0,17 ^a	1,54±0,12 ^a	1,57±0,05 ^a

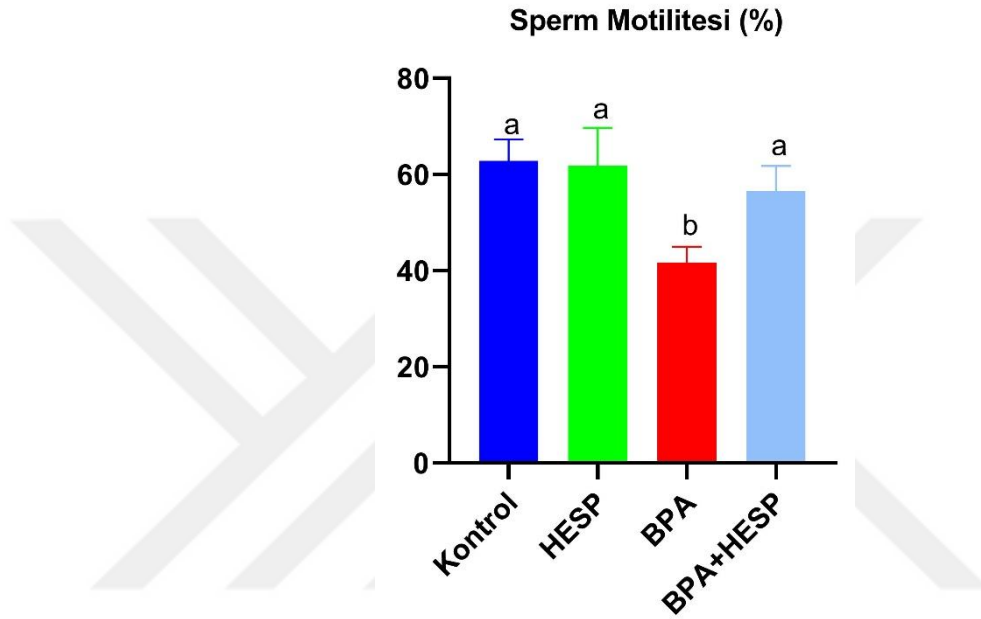
^a Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de ortalama testis ve vücut ağırlığı (Aynı satırdaki gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. n=13)

Ortalama testis ağırlıklarında Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP gruplarından elde edilen veriler arasında belirgin bir farklılık tespit edilemedi. İstatistiksel olarak yapılan analizlerde de söz konusu gruplar arasında anlamlı bir farklılığın oluşmadığı gözlemlendi ($p>0.05$).

Deneylere başlamadan önce deney grupları oluşturulurken kullanılan deney hayvanlarının ortalama vücut ağırlıkları bütün deney gruplarında birbirlerine denk olacak şekilde ayarlandı. Denemeler sürecinde hiçbir grupta, deney hayvanlarından ölen olmadı. Denemelerin devam ettiği süre içerisinde hayvanların canlı ağırlık artışları deney grupları arasında bir farklılık göstermedi. Denemeler sonucunda deney gruplarındaki hayvanların ortalama vücut ağırlıklarının gruplar arasında farkın anlamda olmadığı görüldü ($p>0.05$).

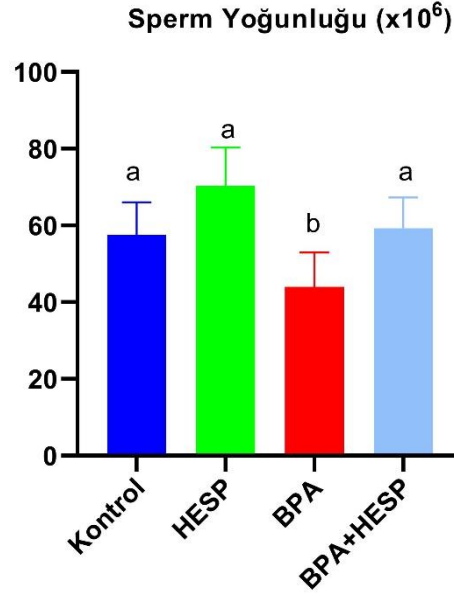
4.7. Sperm Parametreleri

Deney sonunda ratların cauda epididimislerinden alınan sperm örneklerinde tüm grupların, sperm motilitesi, sperm yoğunluğu, ölü ve anormal sperm yönünden analizleri yapıp değerlendirmeleri Şekil 4.20, Şekil 4.21, Şekil 4.22 ve Şekil 4.23. de sunulmuştur.



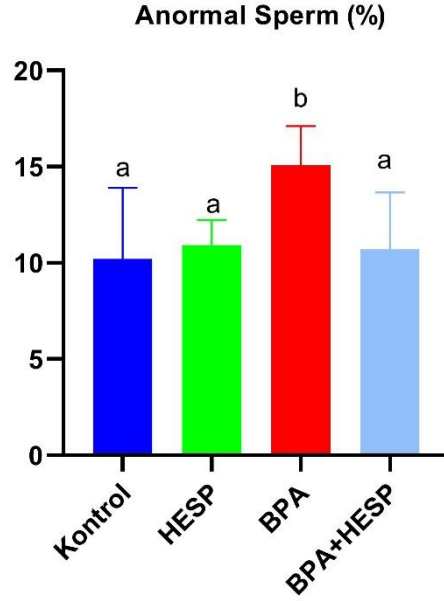
Şekil 4.20. Sperm Motilitesi. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Sperm Motilite Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}p<0.01;n=13)

Sperm hareketliliği olarak da bilinen motilite değerleri; Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında birbirlerine yakındı ve elde edilen sonuçlar arasında yapılan istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir farklılık tespit edilmedi ($p>0.05$). BPA grubunda ise elde edilen sonuçlar Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elden edilen sonuçlar ile karşılaştırıldığında BPA grubunda değerlerin daha düşük olduğu ve BPA grubu ile diğer gruplar arasında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu gözlemlendi ($p<0.01$).



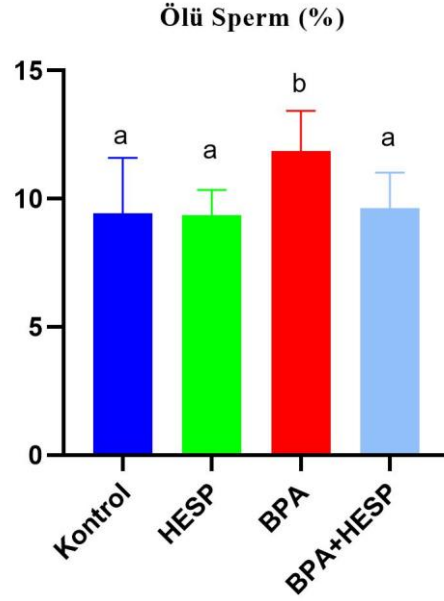
Şekil 4.21. Sperm Yoğunluğu. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Sperm Yoğunluğu Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b}p<0.01;n=13)

Sperm yoğunluğu 1 ml spermadaki sperm sayısı olarak değerlendirildi ve sperm yoğunluklarının Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen değerlerinin birbirlerine yakın olduğu ve bu verilerin söz konusu gruplar arasında yapılan istatistiksel analizlerde anlamlı bir farklılık göstermediği gözlemlendi ($p>0.05$). BPA grubunda ise sperm yoğunluğunun belirgin bir şekilde Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarındaki değerlere göre daha düşük olduğu ve bu gruplar ile BPA grubu arasında farkın istatistiksel analizde anlamlı olduğu görüldü ($p<0.01$).



Şekil 4.22. Anormal Sperm. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Anormal Sperm Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$;n=13)

Anormal Sperm yüzdesi; Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarında birbirine yakın sonuçlar elde edildi ve bu verilerin birbiri arasında farkın istatistiksel anlamda anlamlı bir fark meydana getirmediği gözlemlendi ($p>0.05$). BPA grubunda ise anormal sperm düzeyinin diğer üç gruba göre belirgin bir şekilde arttığı ve Kontrol, HESP ve BPA+HESP grupları ile BPA grubu arasında farkın istatistiksel anlamda önemli olduğu görüldü ($p<0.01$).



Şekil 4.23. Ölü Sperm. Kontrol, HESP, BPA ve BPA+HESP’de Ölü Sperm Düzeyleri. (Gruplar arasında farklı harflerle gösterilen değerler arasında istatistiksel olarak farklılıklar bulunmaktadır. ^{a-b} $p<0.01$;n=13)

Alınan sperma örneğinde ölü sperm yüzdesinin Kontrol, HESP ve BPA+HESP gruplarından elde edilen değerlerin birbirine yakın olduğu bu verilerin birbiri arasında istatistiksel anlamda anlamlı oluşturmadığı gözlemlendi ($p>0.05$). Ölü sperm düzeyinin BPA grubunda, diğer üç gruba göre belirgin bir şekilde daha yüksek olduğu ve Kontrol, HESP ve BPA+HESP grupları ile BPA grubu arasında farkın istatistiksel anlamda farklı olduğu görüldü ($p<0.01$).

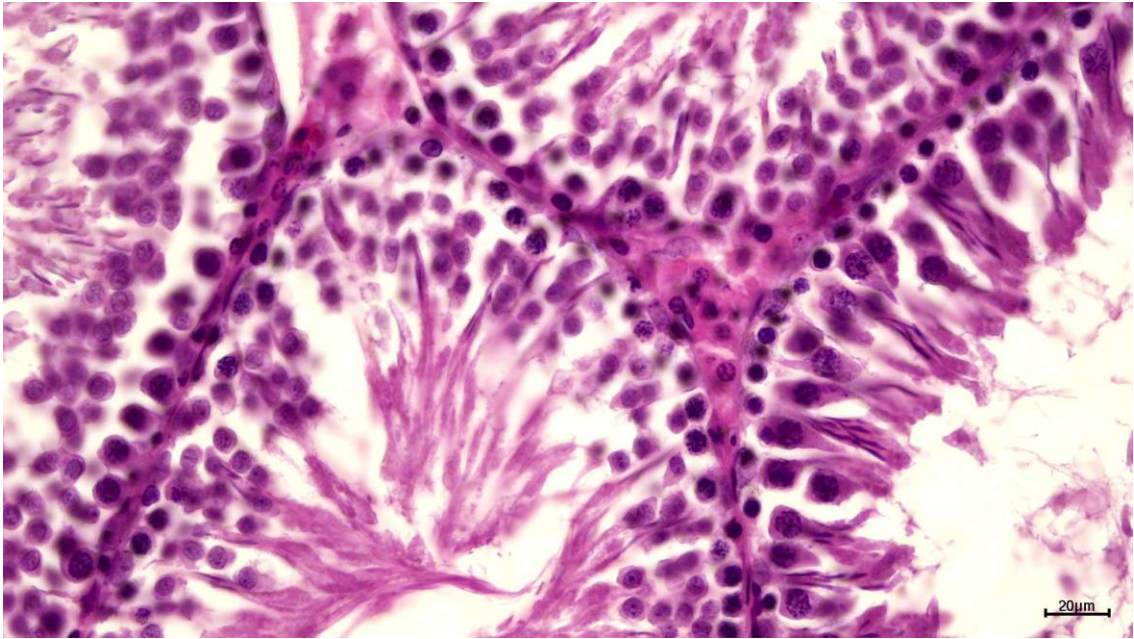
4.8. Histopatolojik Bulgular

Kontrol grup: Testis dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde, normal histolojik görünümde olduğu gözlemlendi (Şekil 4.24).

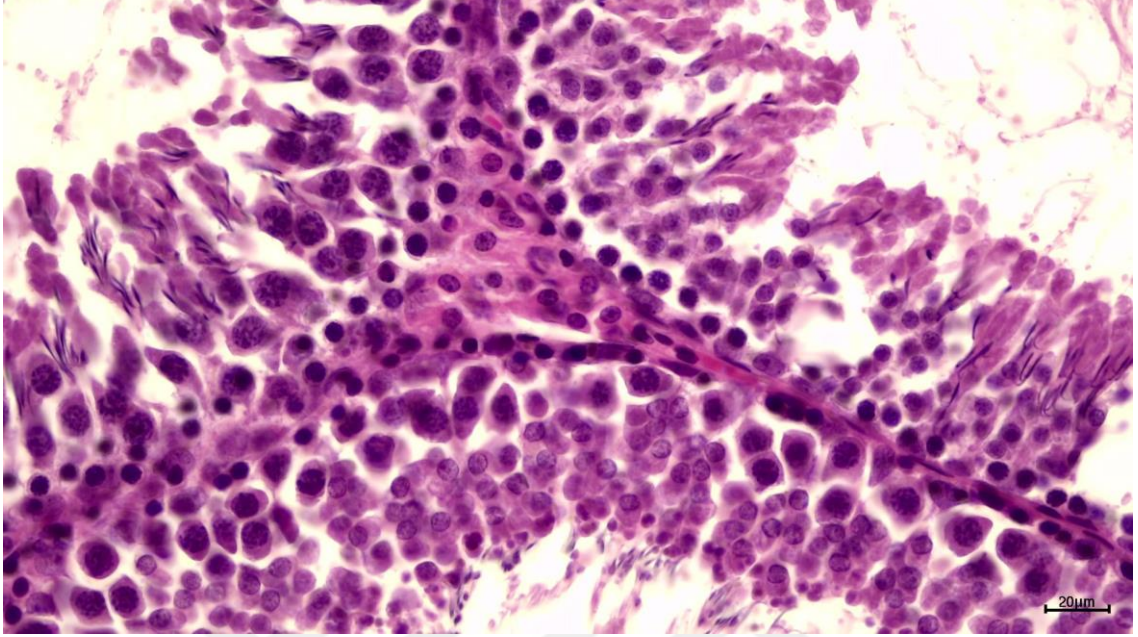
HESP grup: Testis dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde, paransim ve seroza kısımlarının normal histolojik yapıda olduğu belirlendi (Şekil 4.25).

BPA grup: Testis dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde, interstisyel aralıklarda şiddetli düzeyde ödem, interstisyel damarlarda şiddetli düzeyde hiperemi, spermatositlerde şiddetli düzeyde dejenerasyon ve nekroza bağlı olarak tubulus duvarında şiddetli düzeyde bir incelme olduğu gözlemlendi (Şekil 4.26).

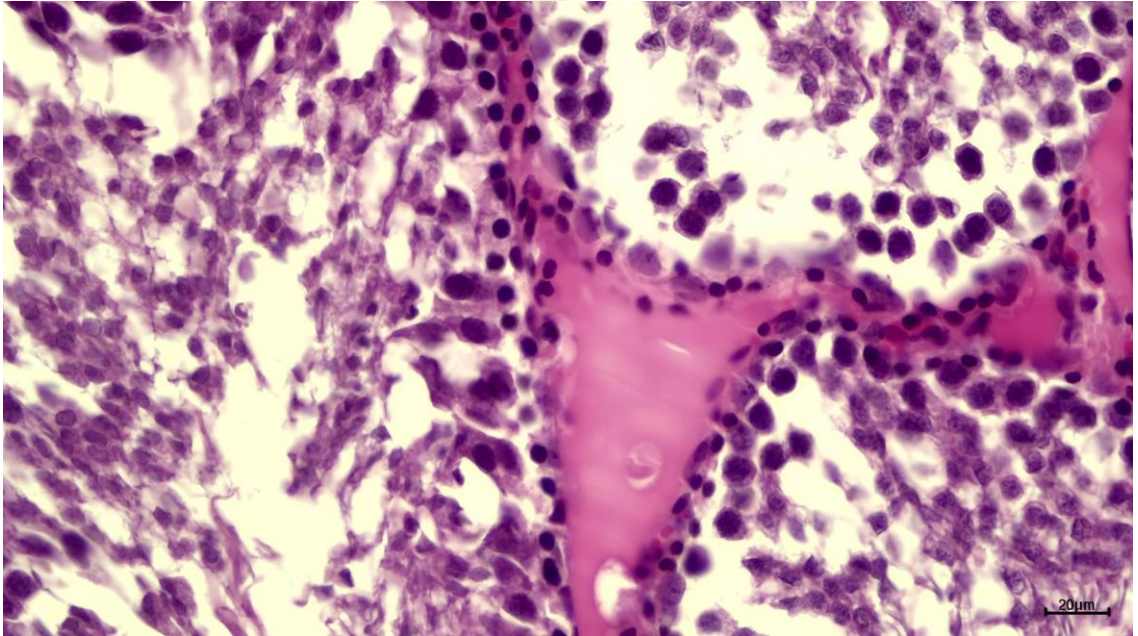
BPA+HESP grup: Testis dokularının histopatolojik olarak incelenmesinde, intertubuler aralıklarda hafif düzeyde ödem ve damarlarda orta düzeyde hiperemi, spermatositlerde hafif düzeyde dejenerasyon olduğu tespit edildi (Şekil 4.27). Histopatolojik bulgular BPA grubuyla kıyaslandığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). Histopatolojik bulgular Tablo 4.2’de özetlendi.



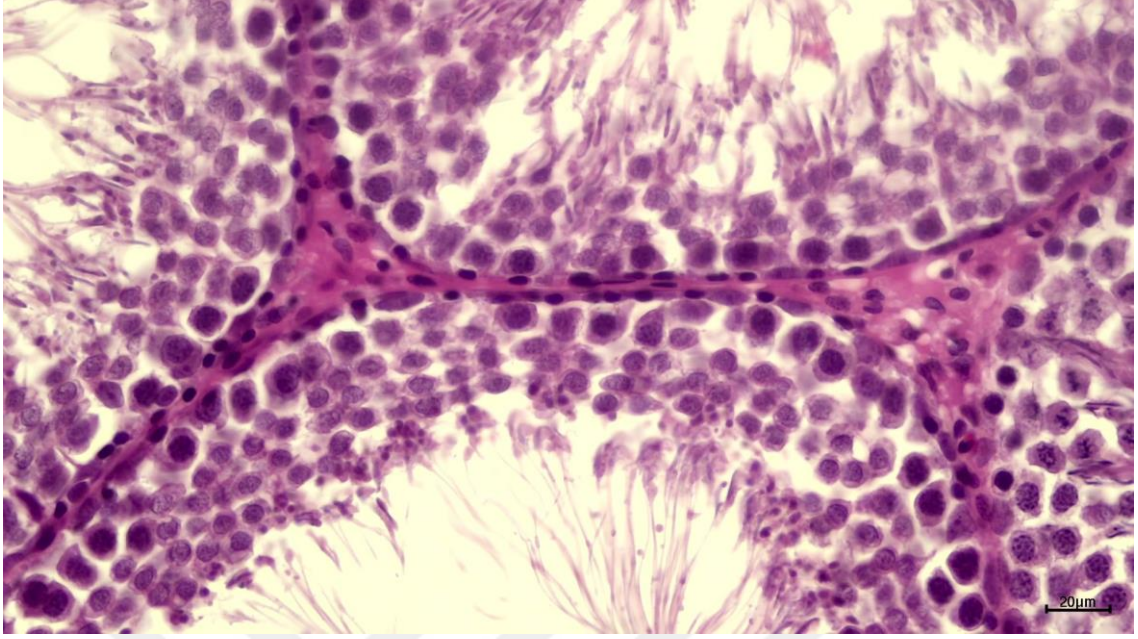
Şekil 4.24. Kontrol grup: testis dokusu, histolojik görünüm (normal), H&E, Bar:20 μ m.



Şekil 4.25. HESP grup: testis dokusu, histolojik görünüm (normal), H&E, Bar:20 µm.



Şekil 4.26. BPA grup: testis dokusu, intertubuler aralıklarda şiddetli ödem, spermatositlerde şiddetli dejenerasyon ve nekroz, tubulus duvarında incelme, H&E, Bar:20 µm.



Şekil 4.27. BPA+HESP grup: testis dokusu, intertubuler aralıklarda hafif düzeyde ödem, spermatositlerde hafif düzeyde dejenerasyon, H&E, Bar:20 µm.

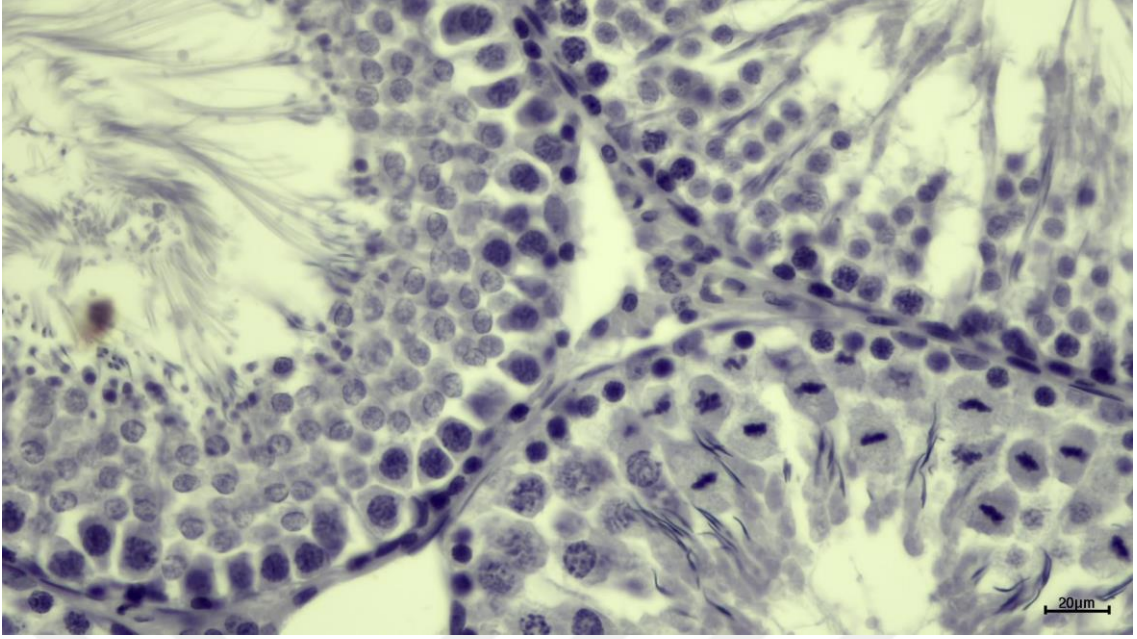
4.9. İmmunohistokimyasal Bulgular

Kontrol grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, 8 OHdG ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.28).

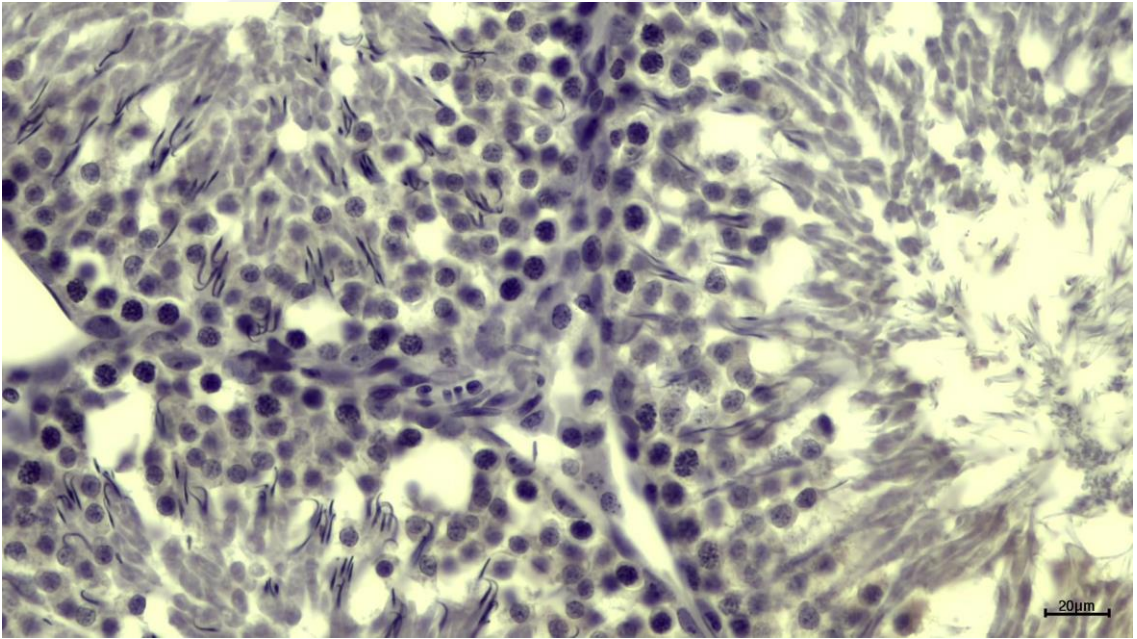
HESP grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, 8 OHdG ekspresyonu negatif olarak kabul edildi (Şekil 4.29).

BPA grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, spermatositlerde şiddetli düzeyde sitoplazmik 8 OHdG ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.30).

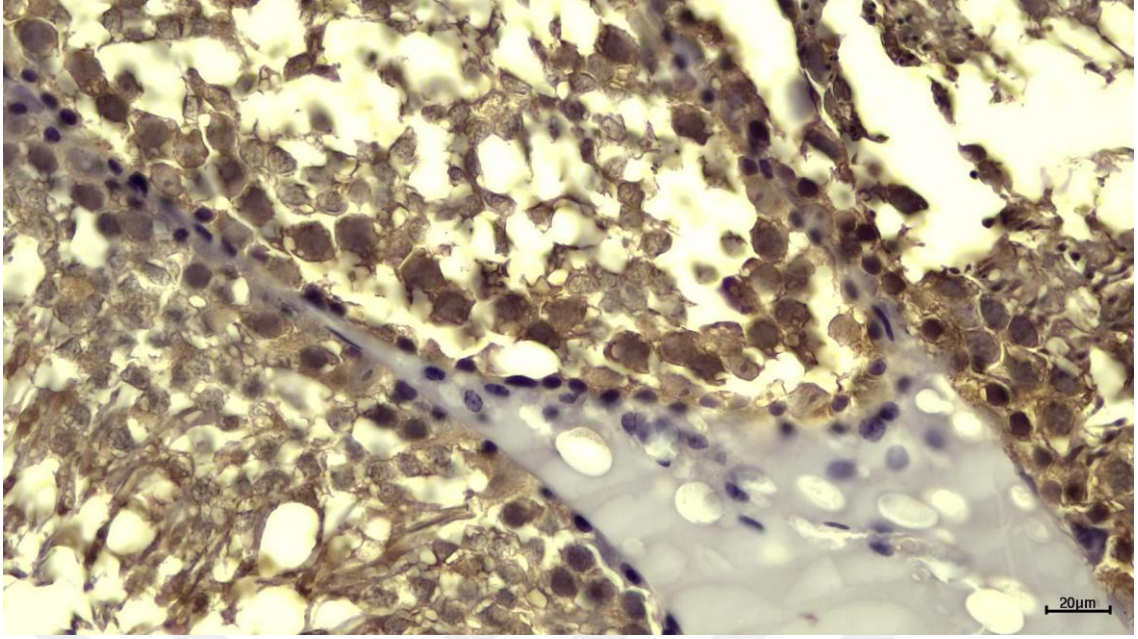
BPA+HESP grup: Testis dokuları histopatolojik olarak incelendiğinde, seminifer tubuluslarda ve spermatositlerde hafif düzeyde sitoplazmik 8 OHdG ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.31). İmmunohistokimyasal bulgular BPA grubuyla kıyaslandığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu görüldü ($p<0,05$). İmmunohistokimyasal bulgular Tablo 4.2’de özetlendi.



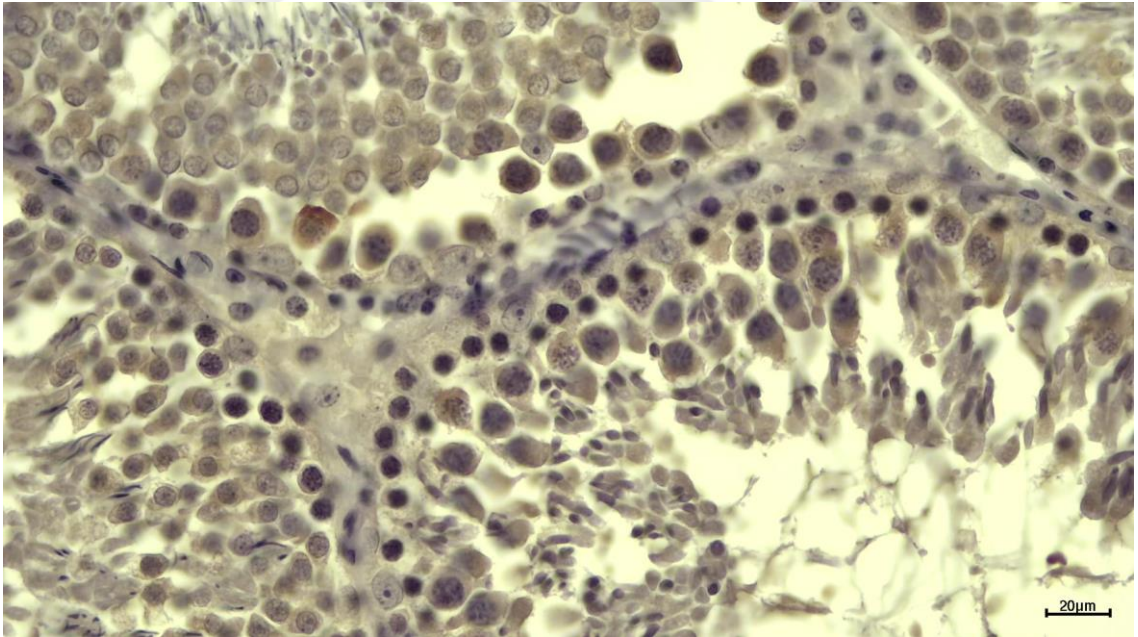
Şekil 4.28. Kontrol grup: testis dokusu, 8 OHdG ekspresyonu (negatif), IHC-P, Bar:20 μ m.



Şekil 4.29. HESP grup: testis dokusu, 8 OHdG ekspresyonu (negatif), IHC-P, Bar:20 μ m.



Şekil 4.30. BPA grup: testis dokusu, seminifer tubulus duvarlarında spermatositlerde şiddetli düzeyde 8 OHdG ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.



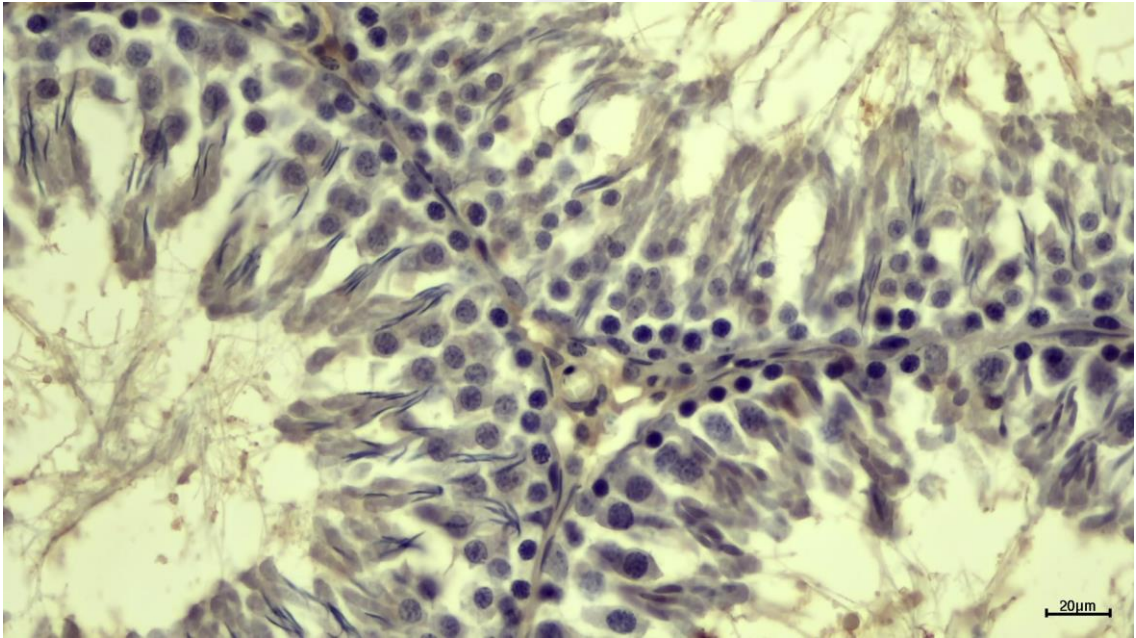
Şekil 4.31. BPA+HESP grup: testis dokusu, spermatositlerde hafif düzeyde sitoplazmik 8 OHdG ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.

Kontrol grup: Testis dokuları Bax ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.32).

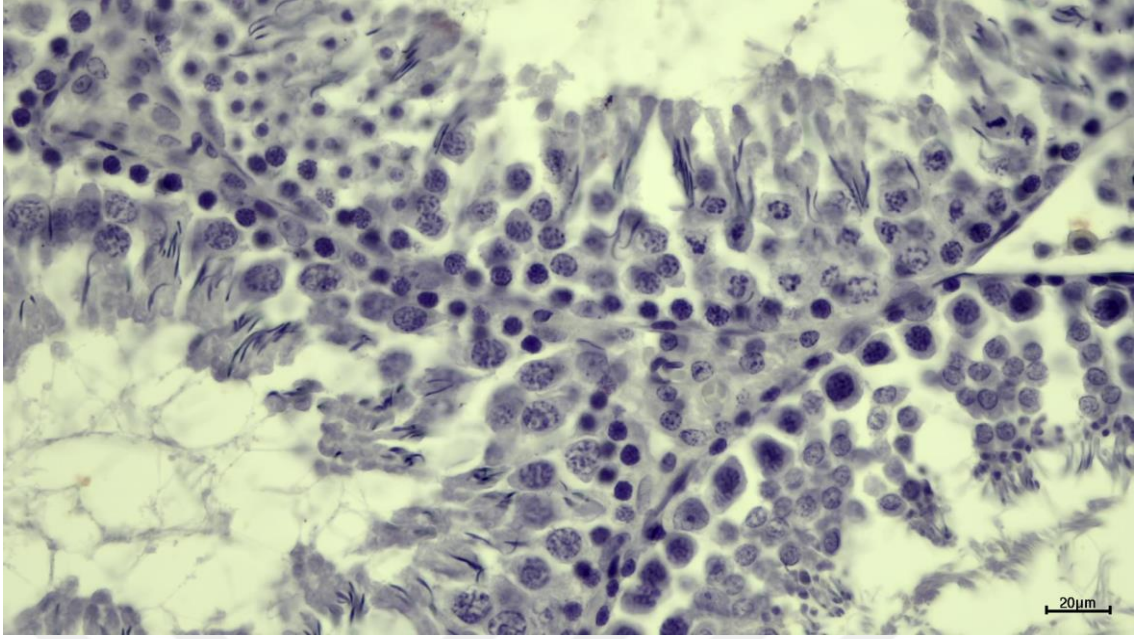
HESP grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, Bax ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.33).

BPA grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, seminifer tubuluslarda ve spermatositlerde şiddetli düzeyde sitoplazmik Bax ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.34).

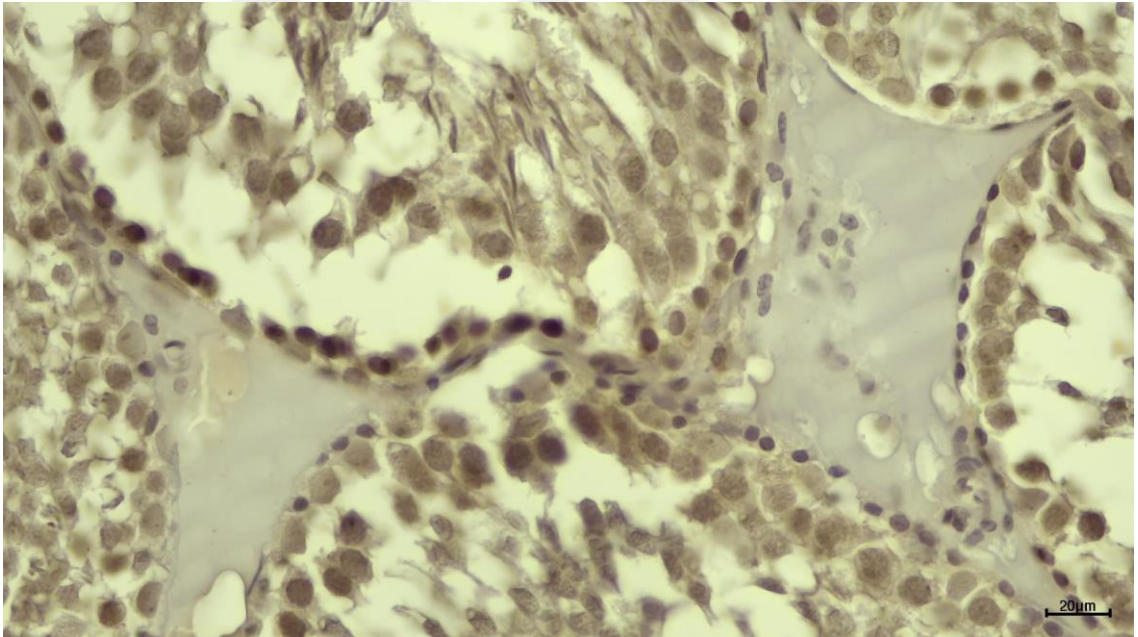
BPA+HESP grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, spermatositlerde hafif düzeyde sitoplazmik Bax ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.35). Bu grupta bulunan rat testis dokularındaki immunohistokimyasal bulgular BPA grubuyla kıyaslandığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0,05$). İmmunohistokimyasal bulgular Tablo 4.2’de özetlendi.



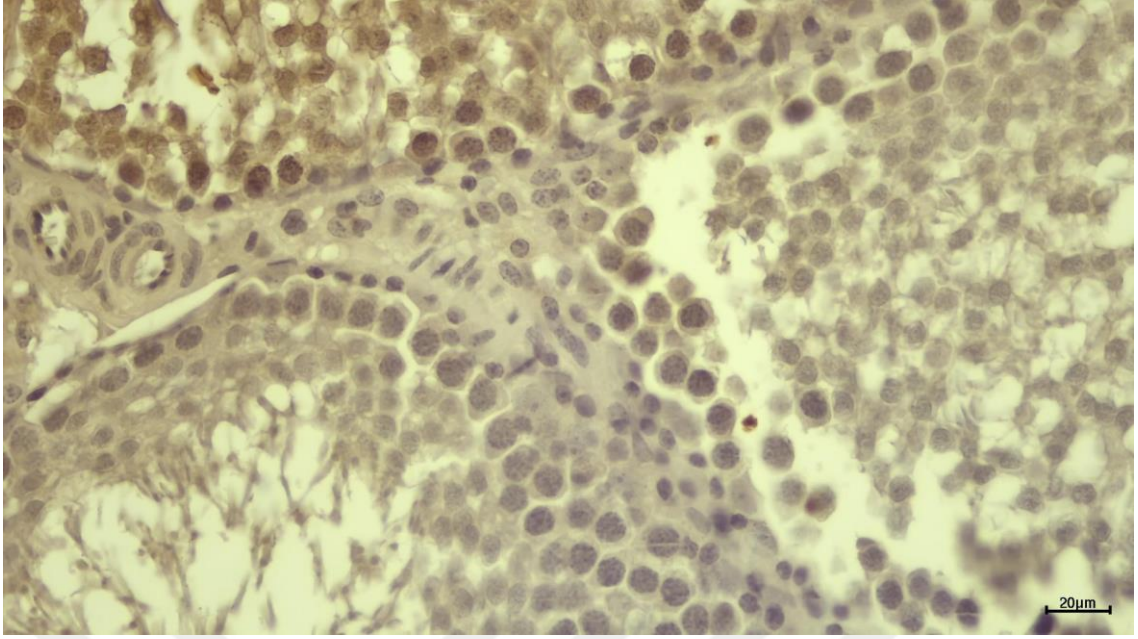
Şekil 4.32. Kontrol grup: testis dokusu, Bax ekspresyonu (negatif), IHC-P, Bar:20 µm.



Şekil 4.33. HESP grup: testis dokusu, Bax ekspresyonu (negatif), IHC-P, Bar:20 µm.



Şekil 4.34. BPA grup: testis dokusu, seminifer tubulus duvarlarında ve spermatositlerde şiddetli düzeyde Bax ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.



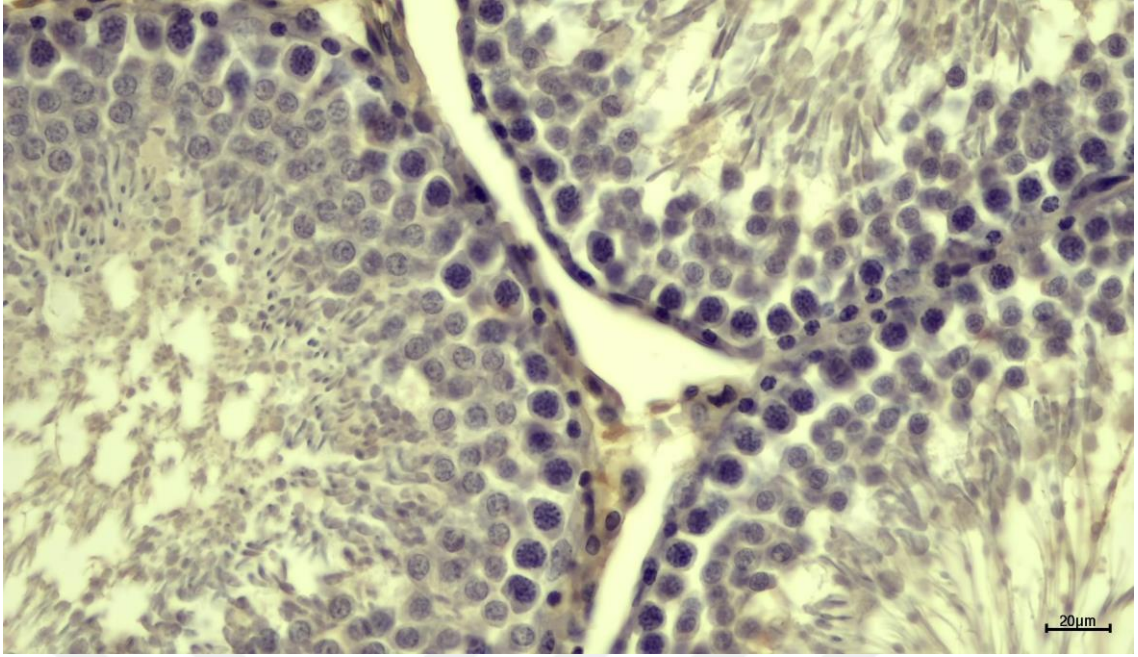
Şekil 4.35. BPA+HESP grup: testis dokusu, Spermatositlerde hafif düzeyde stoplazmik Bax ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 μ m.

Kontrol grup: Testis dokularındaki Bcl-2 ekspresyonları immunohistokimyasal olarak analiz edildiğinde, negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.36).

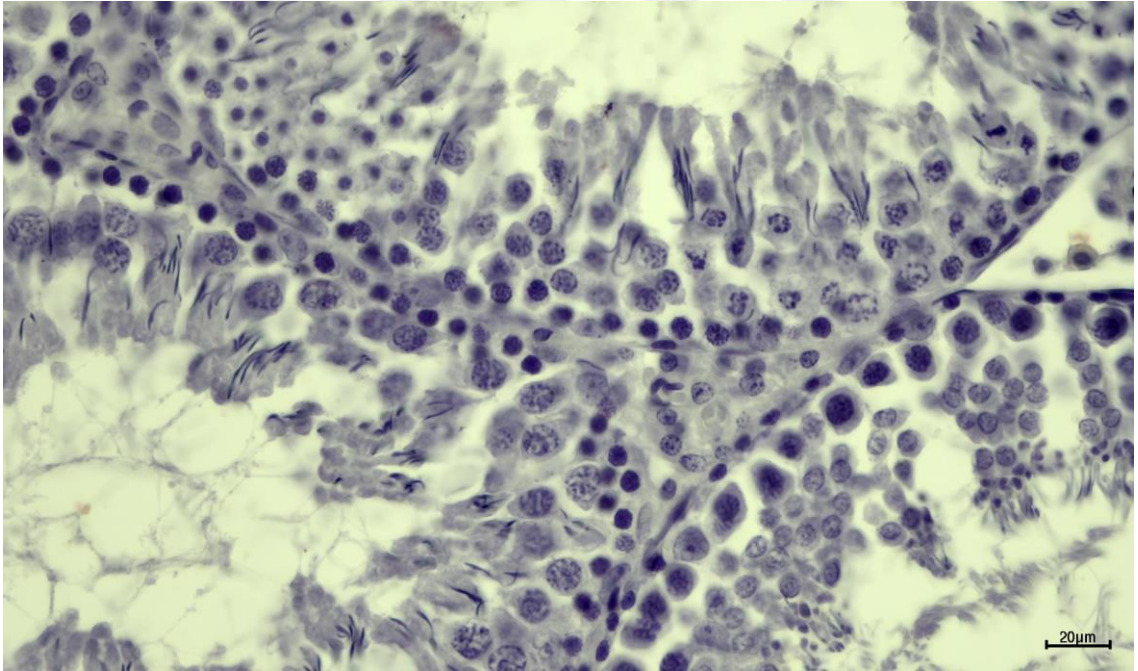
HESP grup: Testis dokularındaki Bcl-2 ekspresyonları immunohistokimyasal olarak analiz edildiğinde, negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.37).

BPA grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, seminifer tubuluslarda ve spermatositlerde hafif düzeyde sitoplazmik Bcl-2 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.38).

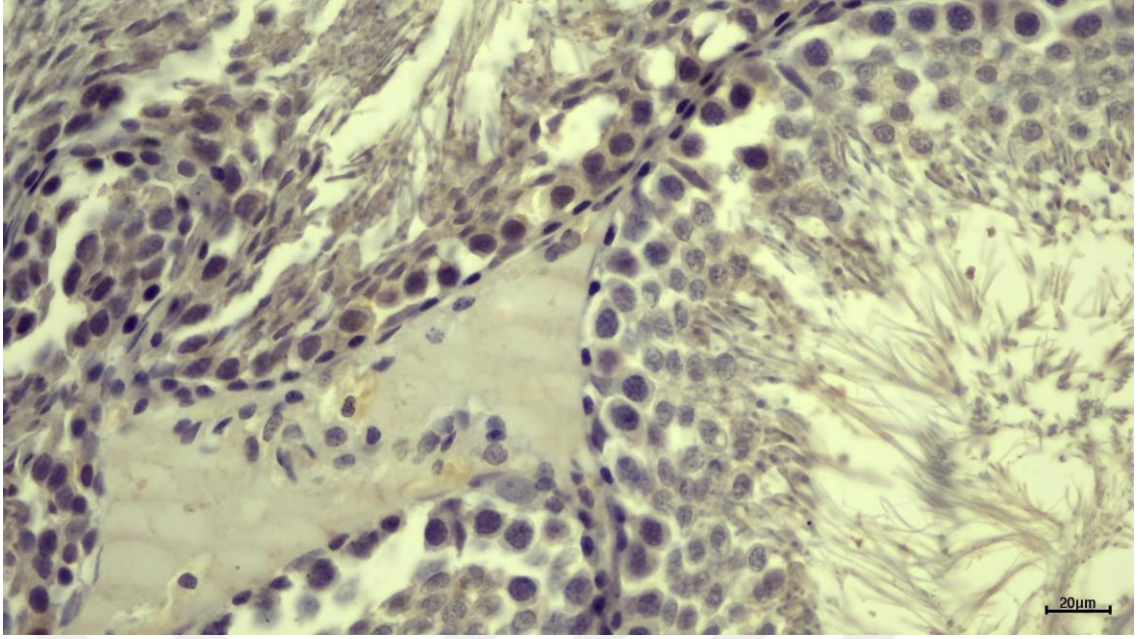
BPA+HESP grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, spermatositlerde şiddetli düzeyde Bcl-2 ekspresyonu belirlendi (Şekil 4.39). Testis dokularındaki immunohistokimyasal bulgular BPA grubuyla kıyaslandığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,05$). İmmunohistokimyasal bulgular Tablo 4.2’de özetlendi.



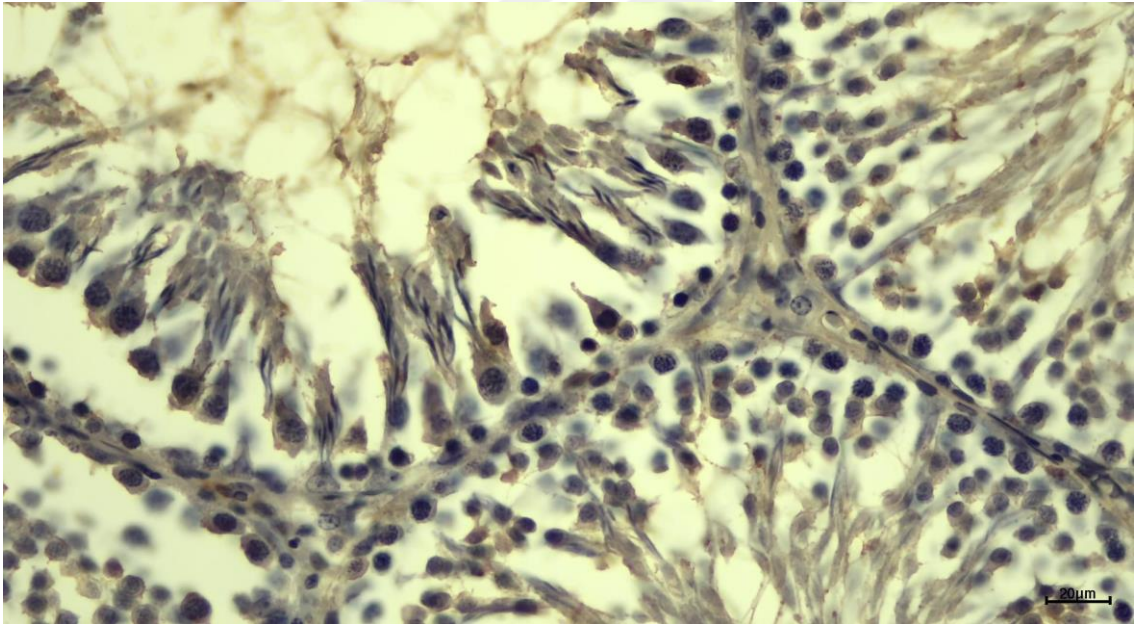
Şekil 4.36. Kontrol grup: testis dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.



Şekil 4.37. HESP grup: testis dokusu, negatif Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.



Şekil 4.38. BPA grup: testis dokusu, spermatositlerde hafif düzeyde Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.



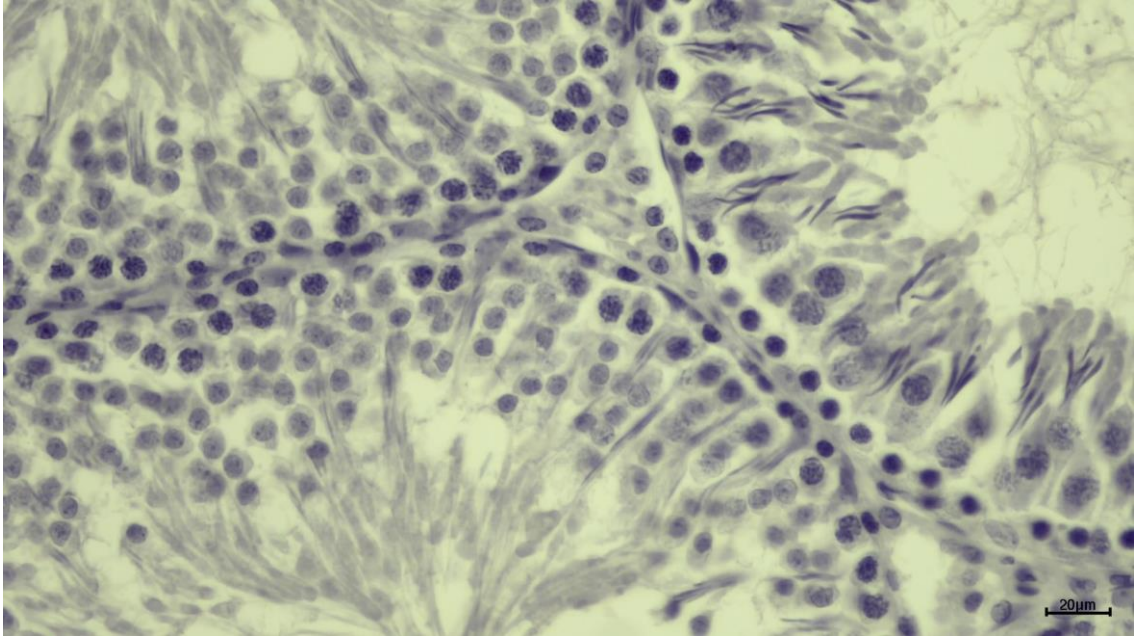
Şekil 4.39. BPA+HESP grup: testis dokusu, spermatositlerde şiddetli düzeyde sitoplazmik Bcl-2 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.

Kontrol grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak analiz edildiğinde, Kaspaz 3 ekspresyonları negatif olarak değerlendirildi (Şekil 4.40).

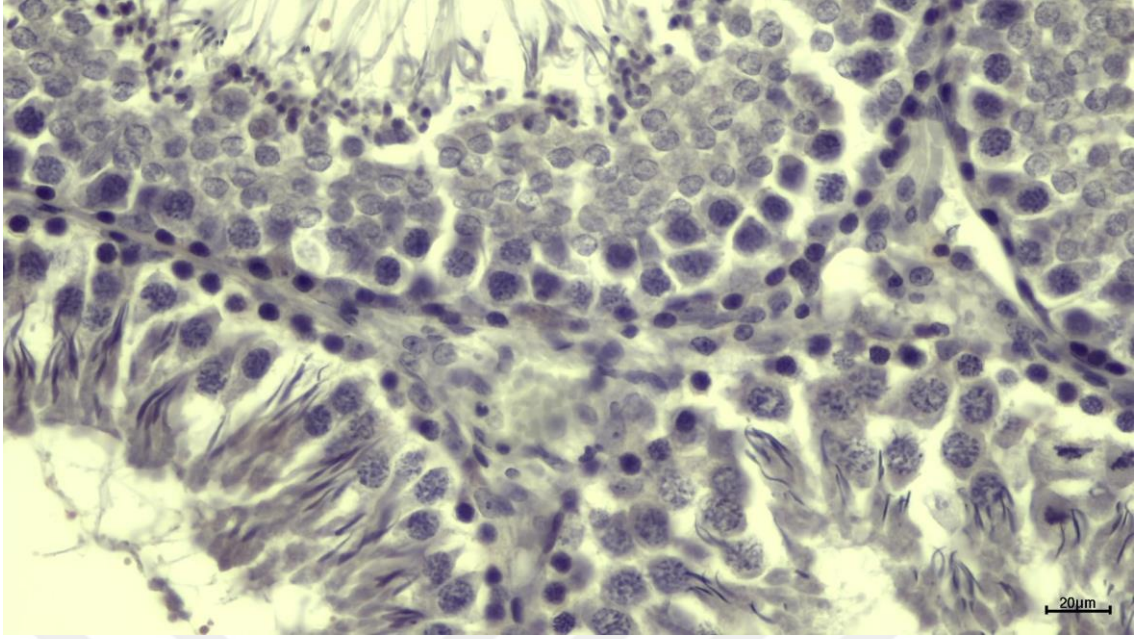
HES grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, negatif Kaspaz 3 ekspresyonları belirlendi (Şekil 4.41).

BPA grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, spermatositlerde şiddetli düzeyde sitoplazmik Kaspaz 3 ekspresyonu gözlemlendi (Şekil 4.42).

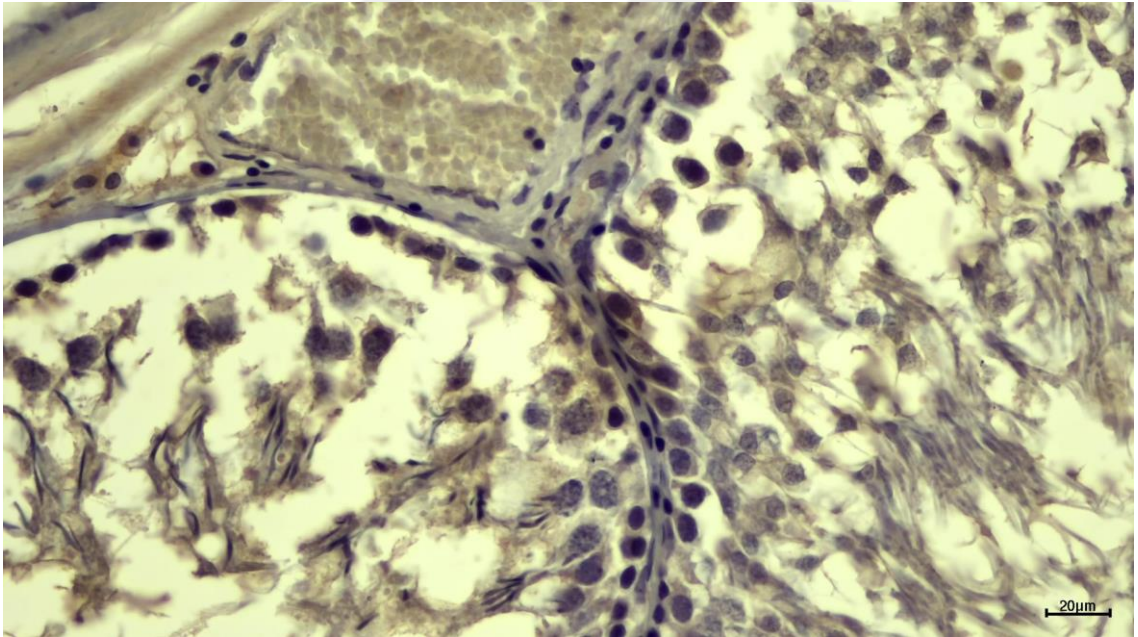
BPA+HES grup: Testis dokuları immunohistokimyasal olarak incelendiğinde, seminifer tubüllerde spermatositlerde hafif düzeyde sitoplazmik Kaspaz 3 ekspresyonları belirlendi (Şekil 4.43). Bu grupta bulunan rat testis dokularındaki immunohistokimyasal bulgular BPA grubuyla kıyaslandığında farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu tespit edildi ($p<0,05$). İmmunohistokimyasal bulgular Tablo 4.2’de özetlendi.



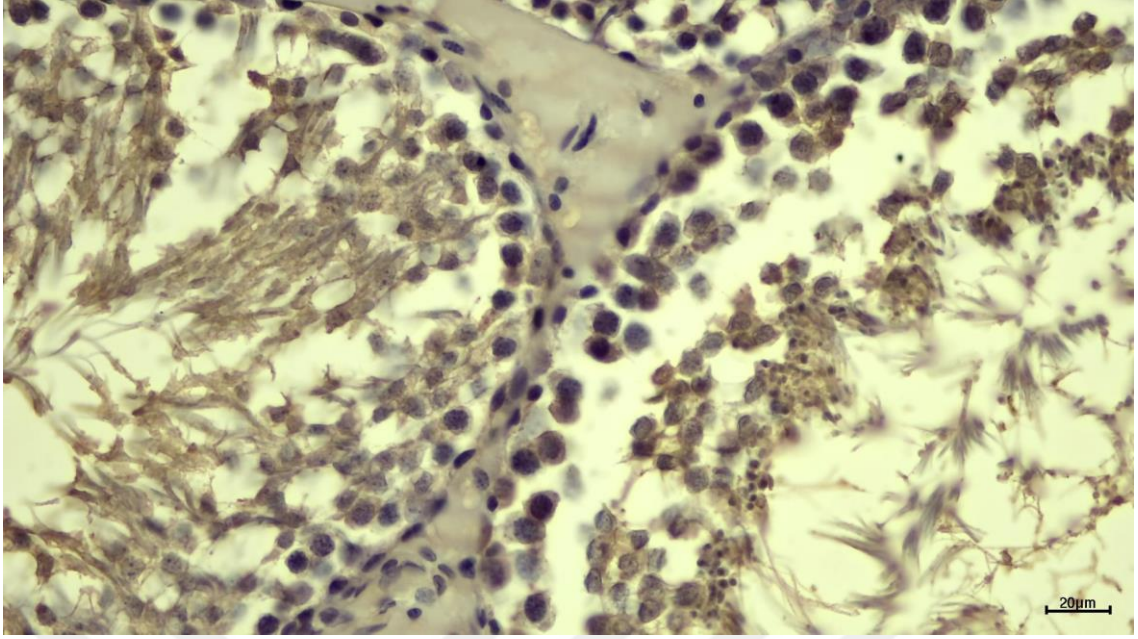
Şekil 4.40. Kontrol grup: testis dokusu, Kaspaz-3 ekspresyonu (negatif), IHC-P, Bar:20 μ m.



Şekil 4.41. HESP grup: testis dokusu, negatif Kaspaz 3 ekspresyonu (negatif), IHC-P, Bar:20 µm.



Şekil 4.42. BPA grup: testis dokusu, spermatositlerde şiddetli düzeyde Kaspaz 3 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.



Şekil 4.43. BPA+HESP grup: testis dokusu, seminifer tubulus duvarlarında spermatositlerde hafif düzeyde sitoplazmik Kaspaz 3 ekspresyonu, IHC-P, Bar:20 µm.

Tablo 4.2. Testis dokularında histopatolojik ve immunohistokimyasal bulguların skorlanması.

	Kontrol	HESP	BPA	BPA+HESP
Spermatositlerde dejenerasyon ve nekroz	-	-	+++	+
Seminifer tubulus duvarında incelme	-	-	+++	+
İntertubuler aralıklarda ödem	-	-	+++	+
Damarlarda hiperemi	-	-	+++	++
8-OHdG ekspresyonu	-	-	+++	+
Bax ekspresyonu	-	-	+	+++
Bcl-2 ekspresyonu	-	-	+++	+
Kaspaz 3 ekspresyonu	-	-	+++	+

Yok (-), Hafif (+), Orta (++), Şiddetli (+++)

5. TARTIŞMA

Bisfenol A polikarbonat plastiklerde, dış dolgu macunlarında ve günlük hayatımızda kullandığımız daha pekçok ürünün içerisinde bulunan sentetik bir kimyasaldır.¹²⁴ Tüm tüketim ürünlerinde yaygın olarak bulunması BPA'ya olan maruziyeti kolaylaştırmaktadır. BPA maruziyeti ile ilgili Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan bir çalışmada, çalışmaya katılan kişilerin idrar örneklerinde BPA konsantrasyonu araştırılmış ve elde edilen bulgular belirlenen limitlerin üzerinde olduğu görülmüştür.¹²⁵⁻¹²⁷ BPA potansiyel olarak endokrin sistem bozucu niteliğinden dolayı giderek daha büyük endişe kaynağı olmaya başlamıştır. Yapılan in vitro çalışmalar, konjuge olmamış BPA'nın östrojen reseptörleri α ve β 'ya bağlanarak zayıf östrojenik aktiviteye neden olduğunu göstermiştir.^{128, 129}

Birçok çalışma BPA maruziyeti ile endokrin sistem bozucu aktiviteler arasında bağlantı olduğunu göstermiştir. Bu bağlamda Wistar ratlarında yapılan bir çalışmada BPA maruziyetinin spermatozoaların canlılığında ve motilitesinde bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir.¹³⁰ Sarwat ve ark. (2015)¹³¹ yaptığı bir çalışmada ise BPA'nın spermatogonia, primer spermatosit, sekonder spermatosit ve spermatit sayılarında bir azalmaya neden olduğunu göstermiştir. Karnam ve ark. (2015)¹³² yaptıkları bir çalışmada doza bağımlı olarak BPA uygulamasının total sperm sayısında ve motilitesinde belirgin bir azalmaya neden olduğu, ölü sperm, kafa ve kuyruk anomalisine sahip sperm sayısında belirgin bir artış meydana geldiğini rapor etmişlerdir. Bizim çalışmamızda ise Şekil 4.7. de gösterildiği gibi yalnızca BPA uygulanan gruplarda spermilerin hem motilitesinde hemde belirgin bir düşüş olduğu görüldü. Aynı zamanda BPA uygulamasının Şekil 4.7. de gösterildiği gibi ölü ve anormal sperm sayısında artışa neden olduğu belirlendi. Bu durum özellikle BPA'nın spermilerin hem üretim aşamasını olumsuz yönde etkilediğini hemde spermelerde anomalilere neden

olduğunu gösterdi. BPA+Hesp uygulanan gruplarda ise ratların spermlerinin yoğunluklarında, motilitesinde, ölü ve anormal sperm sayılarında kontrol grubundaki ratlardan elde edilen değerlere benzer veriler elde edilmiştir.

Yapılan araştırmalarda BPA'nın hem erkeklerde hem de dişilerde reproduktif hasara neden olduğu ifade edilmektedir. BPA'nın neden olduğu reproduktif hasarla ilgili mekanizmaların tam anlaşılabilmesi için günümüzde araştırmalar devam etmektedir. BPA'nın hücre düzeyinde hasarlara neden olduğu ve hücrenin antioksidan ve oksidan mekanizmalarını bozduğunu ve bunu hücre içerisinde reaktif oksijen türlerinin üretimini artırarak yaptığı bildirilmektedir. Artan ROS miktarının gen ekspresyonlarının değişimine neden olduğu ve gamatogenezisi bozduğu Quan ve ark. (2017)¹³³ tarafından bildirildi. ROS, normalde vücutta sınırlı miktarda üretilir ve denge halinde tutulmaya çalışılır. ROS, hücre homeostazının, sinyal iletiminin, gen ekspresyonunun ve reseptörlerin aktivasyonu gibi fonksiyonların korunmasını içeren süreçlerin düzenlenmesinde yer alan önemli bileşiklerdir.¹³⁴ ROS'un hücrede normal değerlerinin üzerine çıkması durumunda, doku hücrelerinde antioksidan savunma sistemi devreye girmekte ve hücre homeostazisi sağlanmaya çalışılmaktadır. Testislerin normal fizyolojik fonksiyonlarını yerine getirmesinde pro-oksidan ve antioksidanların dengesinin rolü büyüktür. ROS üretimi ise antioksidanlar tarafından dengelemektedir. Bazı çevresel faktörler antioksidan savunma sisteminin bozulmasına ve ROS üretiminin artışına neden olmaktadır. Bu durum testislerde normal fonksiyonların yerine getirilmesini engellemektedir.¹³⁵ Khalaf ve ark. (2019)¹³⁶ yaptıkları bir çalışmada BPA uygulamasının testislerde oksidatif hasara neden olduğunu göstermiştir. BPA uygulanan ratlarda katalaz ve GSH aktivitesinde bir azalmaya neden olduğunu, bir lipid peroksidasyonunu göstergesi olan MDA düzeyinde ise artmaya neden olduğunu rapor etmişlerdir. Yine Sohelia ve ark. (2019)¹³⁷ yaptığı bir çalışmada 30 gün boyunca 50

mg/kg dozunda BPA uygulaması yapılmış ve Naringinin farklı dozlarının BPA uygulanan ratların testislerdeki etkileri araştırılmıştır. Bu çalışmada BPA'nın SOD, katalaz, GSH ve GPx seviyesinde bir azalmaya neden olduğunu, BPA ile birlikte Naringin uygulamasının söz konusu antioksidan seviyelerini sağlıklı kontrol grubundaki ratların antioksidan seviyelerine getirdiğini gözlemlediler. BPA testislerde total antioksidan seviyesinde bir azalmaya neden olurken, MDA düzeyinde bir artmaya neden olmaktadır. Özay ve ark. (2019)¹³⁸ yaptıkları bir çalışmada ise BPA uygulamasına bağlı olarak MDA düzeyinde bir artma olduğunu gözlemlediler. Bizim çalışmamızda ise BPA uygulamasına bağlı olarak Şekil 4.1. de görüldüğü gibi güçlü antioksidanlardan olan GSH, Katalaz, GPx ve SOD düzeyleri belirgin bir azalma görülürken, MDA düzeyinde belirgin bir artış belirlendi. Güçlü bir antioksidan aktiviteye sahip olan Hesperidinin farklı organ ve dokularda hasara neden olan maddelere karşı koruyucu etkilerinin olduğu bilinmektedir. Ansar ve ark. (2018)¹³⁹ çinko oksit nanopartikülleriyle oluşturduğu karaciğer hasarında Hesperidinin koruyucu etkilerini araştırdılar. Elde edilen sonuçlarda çinko oksit nanopartikülleri SOD aktivitesinde azalmaya neden olurken, MDA seviyesinde belirgin bir artışa neden olmuştur. Çinko oksit nanopartikülleri uygulanan ratlarda meydana gelen SOD aktivitesindeki azalmalar ve artan MDA seviyeleri hesperidin ile birlikte çinko nanopartikülleri uygulanan ratlarda gözlemlenmemiş ve söz konusu değerler kontrol grubundan elde edilen değerlere benzer değerler olduğu ifade edilmiştir. Hazayen ve ark. (2012)¹⁴⁰ yaptığı bir çalışmada doksorubusin ile oluşturulan testis hasarında Hesperidinin koruyucu etkilerinin olduğunu rapor etmiştir. Kaya ve ark. (2015)¹⁴¹ yaptıkları çalışmada 7mg/kg dozunda tek doz i.p sisplatin uygulamasının neden olduğu testis hasarına karşı 50 mg/kg dozunda 14 gün boyunca hesperidinin koruyucu etkilerini araştırdılar. Bu araştırmada GSH, Katalaz, GPx, GSH aktiviteleri ve sperm

parametreleri değerlendirilmiş ve elde edilen sonuçlarda Hesperidinin bu parametreler üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu tespit edilmiştir. Bizim çalışmamızda ise BPA uygulamasına karşın Hesperidinin 50mg/kg dozunda 14 gün boyunca gerçekleştirilen uygulaması sonucu antioksidan savunma sisteminin güçlendiği ve antioksidanların miktarında belirgin bir artışın meydana geldiği görülmüştür. BPA uygulamasına bağlı olarak azalan GSH, GPx, Katalaz ve SOD aktivitelerinde Hesperidinin koruyucu rol üstlendiği ve GSH, GPx, Katalaz ve SOD değerlerini koruduğu belirlenmiştir. Şekil 4.1. de görüldüğü gibi BPA uygulamasına bağlı olarak MDA düzeyinde artış gözlenmiştir. BPA ile birlikte Hesperidin uygulanan grupta ise MDA düzeyinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında normal değerlerde kaldığı görülmüştür.

Hücrelerde ve dokularda ROS'un aşırı üretimi ve antioksidan savunma sisteminin yeterince çalışamaması oksidatif hasara neden olmaktadır. Bununla birlikte reaktif nitrojen türleri de (RNS) hücre içinde reaktiflerin yoğun olarak oluşmasına neden olmaktadır. Hücrelerin koruyucu mekanizmalarının yeterince çalışamaması durumunda hücre içindeki DNA, protein ve lipitler hasara uğramaktadır. Oksidatif metabolizma sürecinde üretilen aşırı ROS/RNS ve bazı doğal veya yapay kimyasallar gibi çeşitli inflamatuvar uyaranların, inflamatuvar süreci başlatarak proinflamatuvar sitokinlerin sentezi ve salgılanmasına neden olduğu bilinmektedir. İnflamasyon patojenlere karşı doğal bir savunma sistemidir. İnflamasyon mikrobiyal ve viral enfeksiyonlar, alerjenlere maruz kalma, radyasyon ve toksik kimyasallar, otoimmün ve kronik hastalıklar, obezite, alkol tüketimi, tütün kullanımı ve yüksek kalorili diyet gibi birçok patojenik hastalık ile ilişkilidir.¹⁴²

Transkripsiyon faktörü NF- κ B, doğuştan gelen ve adaptif immün fonksiyonların birçok yönünü düzenler ve inflamatuvar yanıtların önemli bir aracısı olarak hizmet eder. NF- κ B, sitokinleri ve kemokinleri kodlayanlar da dahil olmak üzere çeşitli pro-

inflatuar genlerin ekspresyonunu indükler ve ayrıca inflamatuvar regülasyona katılır. Ek olarak, NF- κ B, doğuştan gelen bağışıklık hücrelerinin ve enflamatuvar T hücrelerinin hayatta kalmasını, aktivasyonunu ve farklılaşmasını düzenlemede kritik bir rol oynar.¹⁴³ Meng ve ark. (2018)¹⁴⁴ yaptıkları bir çalışmada BPA uygulamasına bağlı olarak NF- κ B düzeyinde belirgin bir artışın olduğunu ifade etmektedirler. Noha ve ark. (2020)¹⁴⁵ yaptıkları bir çalışmada valproik asit verilen ratlarda şekillenen karaciğer hasarında NF- κ B miktarının arttığı ifade edilmektedir. Yine başka bir çalışmada kurşun maruziyetine tabi tutulan ratlarda meydana gelen testis hasarında NF- κ B düzeyinin arttığı gösterilmiştir.¹⁴⁶ Bizim çalışmamızda Şekil 4.2. de görüldüğü gibi testis dokularında analiz edilen NF- κ B düzeylerinde, kontrol grubuna göre BPA uygulanan grupta ciddi düzeyde artış belirlendi. Hany ve ark. (2016)¹⁴⁷ yaptığı bir çalışmada sisplatin ile uyarılan karaciğer hasarında NF- κ B düzeyinde bir artış olduğu, Hesperidin uygulamasının ise NF- κ B değerlerinin fizyolojik seviyelerde kalmasını sağladığını göstermişlerdir. Bizim çalışmamızda da BPA uygulamasına bağlı olarak artan NF- κ B düzeyi, BPA ile birlikte Hesperidin uygulanan ratlarda kontrol gruplarındaki gibi normal fizyolojik değerlerinde kalmıştır.

TNF- α ; inflamasyon olaylarında, hücre proliferasyonu ve farklılaşmasında ve apoptoz sırasında bağışıklık sisteminde önemli rol oynayan güçlü bir proinflamatuvar sitokindir.¹⁴⁸ Makrofajlar ve T hücrelerinin TNF- α 'nın ana üreticileri olduğu düşünülse de örneğin; B hücreleri, NK hücreleri, nötrofiller, mast hücreleri, endotelial hücreler, düz kas hücreleri, kardiyomiyositler, fibroblastlar, osteoklastlar, osteoblastlar, astrositler, dendritik hücreler, mikrogial hücreler, keratinositler, adipositler, adrenokortikal hücreler ve glomerüler mezanjial hücreler gibi diğer hücreler de bu sitokini üretebilmektedirler.¹⁴⁹⁻¹⁵¹

TNF- α biyolojik etkilerini iki farklı reseptöre bağlanarak gösterir: TNFR1 (CD120a, p55) ve TNFR2 (CD120b, p75).¹⁵²⁻¹⁵⁵ TNFR1'in ligand kaynaklı aktivasyonu, iki temel yolakla sağlanır, (a) hücre sağkalımının uyarılması ve proinflamatuvar genlerin ekspresyonu veya (b) apoptoz ve hücre ölümü.¹⁵⁶ TNFR2 stimülasyonu tarafından başlatılan sinyal yolları, TNFR1'inkinden daha az araştırılmıştır. TNFR1 stimülasyonunun inflamatuvar veya apoptotik tepkilere yol açabileceği gibi, TNFR2'nin özellikle hücre aktivasyonunu, göçünü ve çoğalmasını desteklediği bildirilmektedir.¹⁴⁹

TNF- α yukarıda belirtilen yollar üzerinden inflamasyonu uyarmaktadır. Robert ve ark. (2013)¹⁵⁷ yaptıkları bir çalışmada karbon tetraklorür ile oluşturulan karaciğer hasarında inflamasyonun şekillendiği ve TNF- α düzeyinin arttığı gösterilmiştir. Yapılan başka bir çalışmada da bakır nanopartiküllerinin ratlara uygulanması sonucu testislerde hasar olduğu ve TNF- α düzeyinin ciddi bir biçimde arttığı görüldüğü ifade edilmektedir.¹⁵⁸ Bizim çalışmamızda da Şekil 4.2. görüldüğü gibi BPA uygulamasının TNF- α düzeyini artırdığı tespit edilmiştir. Hesperidinin inflamasyon belirteci olan TNF- α düzeyleri üzerine etkileri olduğu ifade edilmektedir. Bu konuda Belhan ve ark. (2017)¹⁵⁹ yaptıkları araştırmada metotreksat ile oluşturulan testis hasarında TNF- α düzeyinde belirgin bir artışın meydana geldiği ve Hesperidin uygulamasının metotreksat ile uyarılan testis hasarında TNF- α düzeylerinin normal fizyolojik sınırlar içerisinde kalmasını sağladığını rapor etmişlerdir. Çalışmamızda BPA uygulaması sonucu TNF- α düzeylerinde ciddi artış meydana gelmiştir. BPA ile birlikte Hesperidin uygulanması TNF- α 'nın kontrol grubunda olduğu gibi fizyolojik düzeylerde kalmasını sağlamıştır.

IL-1 β , normal organizmada beslenme, uyku ve sıcaklığın düzenlenmesi gibi önemli homeostatik fonksiyonlara sahiptir. IL-1 β , keratinositler, fibroblastlar, sinoviyositler, endotel hücreleri, nöronlar, makrofajlar ve mast hücreleri, Schwann hücreleri, mikroglia ve astrositlerden salgılanabilir. Bununla birlikte, IL-1 β 'nın aşırı

üretimine, romatoid artrit, nöropatik ağrı, inflamatuvar bağırsak hastalığı, osteoartrit, vasküler hastalık, multiple skleroz ve Alzheimer hastalığı gibi hastalık durumlarında meydana gelen patofizyolojik değişiklikler neden olur.¹⁶⁰ Köllükçü ve ark. (2021)¹⁶¹ yaptıkları bir çalışmada iskemi reperfüzyon yöntemiyle oluşturulan testis hasarında IL-1 β düzeylerinin yükseldiğini bildirmektedirler. Bizim çalışmamızda Şekil 4.2. de görüldüğü gibi BPA uygulanan ratlarda IL-1 β düzeyinin arttığı belirlenmiştir. Daha önce yapılan bir çalışmada da metotreksat ile oluşturulan testis hasarında IL-1 β düzeyinin belirgin bir şekilde arttığı bildirilmiştir. Aynı çalışmada Metotreksat ve Hesperidinin birlikte uygulamasının IL-1 β düzeyinin kontrol gruplarında olduğu gibi fizyolojik sınırlar içerisinde kaldığı gösterilmiştir.¹⁵⁹ Yaptığımız çalışmada BPA ile birlikte uygulanan Hesperidin maruziyetinin sonucunda IL-1 β düzeylerinin kontrol grubunda olduğu gibi fizyolojik sınırlar içerisinde kaldığı görülmüştür.

IL-6, inflamasyon, immün yanıt ve hematopoez üzerinde pleiotropik etkiye sahip çözünür bir mediatördür. IL-6, inflamasyonun ilk aşamasında lokal bir lezyonda sentezlendikten sonra, kan dolaşımı yoluyla karaciğere hareket eder, ardından C-reaktif protein (CRP), serum amiloid A (SAA), fibrinojen, haptoglobin ve 1-antikimotripsin gibi çok çeşitli akut faz proteinlerinin hızla indüklenmesini sağlar. IL-6, organizmada meydana gelen bazı akut olayların ilgili sistemlere bildirilmesinde bir arabulucu olarak işlev görür. IL-6, dejeneratif lezyonlarda ve doku hasarı durumunda üretilir ve tüm vücuda bir uyarı sinyali gönderir.¹⁶² Amr ve ark. (2020)¹⁶³ tarafından yapılan bir çalışmada kadmiyum ile indüklenen testiküler toksisitede inflamasyon şekillendiği ve bununla ilişkili olarak IL-6 düzeylerinde bir artışın olduğu ifade edilmiştir. Yine başka bir çalışmada ise farelerin içme sularına belirli dozlarda sodyum florid katılması yoluyla testis toksikasyonu oluşturulmuş ve testislerde inflamasyonla ilişkili olarak IL-6 düzeyinin yüksek olduğu tespit edilmiştir.¹⁶⁴ Bizim çalışmamızda ise BPA uygulaması

sonucu bu çalışmalara benzer bir şekilde IL-6 düzeyinin yüksek olduğu görüldü. Erdinç ve ark. (2018)¹⁶⁵ yaptıkları bir çalışmada sodyum arsenit verilen ratlarda karaciğer ve böbrek hasarı olduğu ve IL-6 düzeylerinin arttığı ifade edilmektedir. Aynı çalışmada Hesperidin uygulamasının IL-6 düzeyini azalttığı ve inflamasyonu düzenlediği bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda da BPA uygulaması sonucu oluşturulan testis dokusu hasarında IL-6 düzeyleri yüksek bulunmuştur. BPA ile beraber Hesperidin uygulanan gruplarda ise IL-6 düzeyinin kontrol grubuyla karşılaştırıldığında normal sınırlar içerisinde olduğu görülmüştür.

IL-10 anti-inflamatuvar özelliklere sahip bir sitokindir. IL-10 dokuda meydana gelen inflamasyonun ve otoimmün cevabın kontrol altına alınmasında görevi bulunmaktadır.¹⁶⁶ Mohammad ve ark. (2017)¹⁶⁷ yaptıkları bir çalışmada ratlara yapılan kurşun uygulaması sonucunda oluşan böbrek ve testis hasarında IL-10 düzeyinin azaldığını, aynı çalışmada kurşun maruziyeti ile beraber VitD uygulamasının sonucunda ise IL-10 düzeyinin değişmediğini ve kontrole yakın değerler elde edildiğini ifade etmektedirler. Wen ve ark. (2020)¹⁶⁸ yaptıkları bir çalışmada ise kadmiyum ile oluşturulan testis hasarında IL-10 düzeyinin azaldığı görülmüştür. Oluwatobi ve ark. (2020)¹⁶⁹ tarafından yapılan bir çalışmada etilen glikol monometil eter kullanılarak meydana getirilen testiküler toksikasyonunda doza bağımlı olarak IL-10 değerlerinde azalma gözlemlenmiştir. Yapmış olduğumuz çalışmada, BPA uygulaması ile oluşturulan testis doku hasarında IL-10 düzeylerinin azaldığı görülmüştür. Riham ve ark. (2020)¹⁷⁰ tarafından yapılan bir çalışmada iyonize radyasyon verilerek oluşturulan testis hasarında IL-10 düzeyinin azaldığını göstermişlerdir. İyonize radyasyon ile birlikte Hesperidin uygulamasının IL-10 düzeylerinde kontrol gruplarına göre bir değişiklik yaratmadığı ifade edilmiştir. Çalışmamızda Hesperidin yukarıda bahsi geçen çalışmalardaki gibi IL-10 düzeyleri üzerinde koruyucu etkilerinin olduğu

belirlenmiştir.

Prostaglandinlerin üretiminde hız sınırlayıcı enzim olan siklooksijenaz, COX-1 ve COX-2 olmak üzere iki izoformda bulunur. COX-1, homeostatik işlevlerde yer alırken, COX-2, inflamasyon ve kanser gibi çeşitli patolojik süreçlerde rol oynar.¹⁷¹ NF- κ B , COX-2 gibi proinflamatuvar mediatörlerin düzenleyicisidir; bu nedenle; NF- κ B aracılı COX-2 ekspresyonu, inflamasyon sürecinde önemli bir mekanizma olarak düşünülebilir.¹⁷² Zhang ve ark. (2013)¹⁷³ tarafından yapılan bir çalışmada ratlarda flor ile oluşturulan testis hasarında doza bağımlı olarak COX-2 düzeyinin arttığı gözlemlenmiştir. İleritürk ve ark. (2021)¹⁷⁴ yaptıkları bir çalışmada ise kurşun asetat verilen ratlarda testis hasarı oluşturulmuş ve bu ratlarda COX-2 düzeylerinin arttığı tespit edilmiştir. Çalışmamızda BPA maruziyeti ile oluşturulan testis toksikasyonunda COX-2 düzeylerinin kontrol grubu hayvanlarına göre daha yüksek olduğu görülmüştür. Shima ve ark. (2018)¹⁷⁵ yaptıkları bir çalışmada soğuk stres yöntemiyle diyabetik ratlarda gastrik ülser oluşturmuş ve bu ratlardan elde edilen mide dokusu örneklerinde COX-2 düzeylerinin yükseldiği görülmüştür. Aynı çalışmada Hesperidinin gastrik ülser oluşturulmuş ratlarda COX-2 düzeylerinin normal değerlerde kalmasını sağladığı görülmüştür. Bizim çalışmamızda ise BPA+HESP grubunda COX-2 düzeyinin kontrol gruplarıyla benzerlik gösterdiği, BPA uygulanan grupta ise COX-2 düzeyinin kontrol grubu değerlerine göre yükseldiği gözlemlenmiştir.

Mitojenle aktive olan protein kinazlar (MAPK'ler), hücre farklılaşması, çoğalması ve hücrenin hayatta kalması dahil olmak üzere çeşitli hücresel süreçlerde yer alan bir serin/treonin protein kinaz ailesidir. Hücre dışı uyarılarla aktivasyonun ardından, MAPK'ler, hücre zarından çekirdeğe sinyallerin iletilmesinden sorumludur. Genel olarak MAPK'nın üç alt grubu tarif edilmiştir: 1) c-Jun NH2-terminal kinazı (JNK), 2) hücre dışı sinyalle düzenlenen kinaz (ERK) ve 3) p38 MAPK. p38 MAPK,

protein kinazlar, fosfatazlar, hücre döngüsü düzenleyicileri ve transkripsiyon faktörleri dahil olmak üzere çeşitli hedeflere etki yapma özelliğine sahiptir. p38 MAPK hücre içinde oluşan stres ve inflamasyonun dışında, hücre içindeki düzenlenmiş hücre ölümlerinde de görev almaktadır.¹⁷⁶ p38 MAPK'nın bu rolünü değerlendirmek amacıyla Iman ve ark. (2014)¹⁷⁷ sisplatin ile oluşturulan testis toksikasyonunda p38 MAPK düzeylerini ölçmüşler ve kontrol gruplarına göre daha yüksek değerler tespit etmişlerdir. Yine benzer bir şekilde Xiaoman ve ark. (2019)¹⁷⁸ yaptıkları çalışmada polistiren mikroplastikleri verilen farelerde testis hasarı oluşturmuşlar ve yapılan doku analizlerinde p38 MAPK düzeylerinin yükseldiğini belirlemişlerdir. BPA ile oluşturduğumuz testis hasarında yukarıda belirtilen çalışmalarla uyumlu olarak p38 MAPK düzeyinin kontrol grubuna göre yüksek olduğunu müşahade ettik. Afzal ve ark. (2020)¹⁷⁹ yaptıkları bir çalışmada ise N,N-dimetilhidrazin verilen ratlarda oluşturulan kolon hasarında p38 MAPK düzeyinin yüksek olduğunu tespit etmişler ve Hesperidinin ise p38 MAPK düzeyi üzerine koruyucu etkilerinin olduğunu gözlenmişlerdir. Çalışmamızda BPA ile oluşturduğumuz testis hasarlı ratların p38 MAPK düzeylerinde literatürle uyumlu bir şekilde artış belirlenmiştir. BPA+Hesp uygulanan grupta p38 MAPK düzeyinin kontrol grubundaki p38 MAPK düzeyleriyle benzer olduğu bulunmuştur (Şekil 4.3).

p53 hücrede apoptozisin uyarılmasında kilit rol oynamaktadır. p53 hücrede, BIM, PUMA ve NOXA üzerine etki yaparak apoptozisin uyarılmasına neden olur. Aynı zamanda p53, antiapoptotik etkileri bulunan BCL-XL, MCL-1, BCL-2, BAX ve BAK üzerine baskılayıcı etkiye sahiptir. Bu baskılamayı takiben mitokondride sitokrom c salınımı meydana gelir ve bu da hücre içinde apoptozisin başlamasına neden olur. p53 düzeyi hücre içinde apoptozisin şekillenip şekillenmediği hakkında bilgi vermektedir.¹⁸⁰ Bu bilgiler ışığında Albeer ve ark. (2020)¹⁸¹ yaptıkları bir çalışmada sipermetrin verilen

ratlarda oluşan testis hasarında p53 düzeyinin arttığını gözlemlemişlerdir. Asgharzadeh ve ark. (2021)¹⁸² yaptıkları çalışmada morfin ile in vivo ve in vitro olarak oluşturdukları testis hasarında p53 düzeyinin arttığını gözlemlemişler. Bizde alışmamızda BPA'nın testislerde oluşturduğu hasarı göstermek amacıyla bir apoptotik markır olan p53 düzeyini araştırdık ve kontrol grubuna göre yapılan analizlerde p53 düzeyinin yüksek olduğunu belirledik. ağlayan ve ark. (2021)¹⁸³ yaptıkları çalışmada ise sodyum florid verilen ratlarda oluşturulan böbrek ve karaciğer hasarında p53 düzeyinin arttığını gözlemlemişlerdir. Aynı çalışmada sodyum florid ile oluşturulan böbrek ve karaciğer hasarında hesperidinin koruyucu etkilerinin olduğunun ve p53 düzeyinin hesperidin uygulanan grupta normal değerlere yakın olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız alışmada BPA ile oluşturulan testis hasarında p53 değerleri yükselmiştir. BPA+Hesp grubunda ise p53 değerleri kontrol grubunun p53 değerleri ile uyumlu bulunmuştur.

Üreme faaliyeti, hipotalamik-hipofiz-gonadal (HPG) ekseninde işlevsel olan hormonlar tarafından kontrol edilir. Erkek, LH ve FSH testiküler testosteron üretiminin ve spermatogenezin sürdürölmesi ile ilgilidir. LH'nın testis hedef hücreleri, interstisyel boşlukta bulunan Leydig hücreleridir ve FSH'ninkiler ise seminifer tüböllerde bulunan Sertoli hücreleridir. LH, Leydig hücrelerinde Testosteron üretimini uyarırken FSH, Sertoli hücrelerinde spermatogenezin sürdürölmesi için gerekli düzenleyici moleköllerin ve besleyici materyallerin üretimini uyarır.¹⁸⁴ Bu düzenleyici hormonların düzeylerinde testislerde meydana gelen hasarlara bağlı olarak değişiklikler meydana gelmektedir. Uzun ve ark. (2009)¹⁸⁵ yaptıkları çalışmada malatyon ile uyarılan testis dokusu hasarında FSH düzeyinin azaldığını gözlemlemişlerdir. Yine başka bir çalışmada ise Ayinde ve ark. (2012)¹⁸⁶ kurşun verilen albino ratlarda oluşturulan testis hasarında FSH düzeyinin azaldığını tespit etmişlerdir. Çalışmamızda BPA ile oluşturulan testis dokusu hasarında serum FSH düzeylerinin azaldığı tespit edilmiştir.

Tousson ve ark. (2014)¹⁸⁷ yaptığı bir çalışmada ise sisplatin uygulanarak ratlarda oluşturulan testis hasarında serum LH düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yaptığımız çalışmamızda BPA ile oluşturulan testis hasarlı ratların serum LH düzeylerinin azaldığı belirlenmiştir. Bununla beraber Fattahi ve ark. (2009)¹⁸⁸ yaptıkları çalışmada farelerde diazinon ile oluşturdukları testis doku hasarında serum LH değerlerinde bir artışın meydana geldiğini göstermişlerdir. İlgili çalışmada azalan spermatogenezis ve Sertoli hücrelerindeki hasara bağlı olarak düşen testosteron düzeyinin, serum LH düzeyindeki artışa sebep olduğu düşünülmektedir. Chandra ve ark. (2010)¹⁸⁹ yaptıkları bir çalışmada vanadium uygulamasına bağlı olarak oluşan testis toksikasyonunda serum testosteron düzeylerinin azaldığı gözlemlenmiştir. Çalışmamızda BPA uygulanarak oluşturulan testis hasarında serum testosteron düzeyinin azaldığı tespit edilmiştir. Testis fonksiyonlarının düzenlenmesinde doğal bir flavanoid olan Hesperidinin rolünün olduğu ifade edilmektedir.¹⁹⁰ Çalışmamızda BPA ile birlikte hesperidin uygulanan grupta serum FSH, LH ve Testosteron düzeylerinin kontrol gruplarındaki verilerle benzerlik gösterdiğini tespit ettik.

Steroidogenez, kolesterolü nihai steroid hormon ürünlerine dönüştüren çok adımlı bir süreçtir. Leydig hücresinin testosteron üretimi, LH'nin hipofiz bezi tarafından periferik dolaşıma pulsatil salgılanmasına bağlıdır. LH, Leydig hücre steroidogenezinde iki temel rol oynar: (1) steroidojenik enzimlerin optimal seviyelerinin korunması ve (2) kolesterolün mobilizasyonu ve iç mitokondriyal membrana taşınması. LH, G proteinine bağlı reseptörlere bağlanır ve bunları aktive eder, bu da adenilat siklazın aktivasyonu yoluyla hücre içi cAMP oluşumunun artmasını ve protein kinaz A (PKA) yoluyla proteinlerin cAMP'ye bağlı fosforilasyonunu gerçekleştirir. Bu fosforilasyon sonucunda aktive edilen StAR, sitoplazmadan mitokondriye kolesterol transferini gerçekleştirir. Mitokondri içine taşınan kolesterol, sitokrom P450 enzimi (CYP11A1) tarafından

pregnenolon'a dönüştürülür. Pregnenolon daha sonra düz endoplazmik retikulumda 3 β -hidroksisteroid dehidrojenaz (3 β -HSD; HSD3 β), p450scc ve 17 β -HSD3 tarafından testosterona metabolize edilir.¹⁹¹ Cao ve ark. (2017)¹⁹² yaptıkları bir çalışmada aflatoksin B1 uygulaması yapılmış farelerde ve oluşan testis hasarında testosteron sentezinde görevli olan; StAR, p450scc ve 17 β -HSD3 enzimlerinin düzeylerinin azaldığını tespit etmişlerdir. Yine Abdelhamid ve ark. (2020)¹⁹³ yaptıkları bir çalışmada kurşun asetat verilerek testis hasarı oluşturulmuş ratlarda, hasara bağlı olarak StAR, p450scc ve 17 β -HSD3 enzimlerinin düzeylerinin azaldığını gözlemlemişlerdir. Çalışmamızda ise bu sonuçlara benzer bir şekilde ratlarda BPA ile oluşturulan testis doku hasarında StAR, p450scc ve 17 β -HSD3 enzimlerinin azaldığı belirlenmiştir. BPA ile birlikte Hesperidin uygulanan grupta Testosteron düzeylerinin kontrol grubundaki testosteron seviyesine yakın olduğu aynı zamanda leydig hücrelerinde testosteron sentezinde görevli olan StAR, p450scc ve 17 β -HSD3 enzimlerinin düzeylerinin normal fizyolojik değerlerini koruduğu belirlenmiştir.

BPA uyguladığımız ratların testislerinde yapılan histopatolojik muayenelerde intersitisyel aralıklarda şiddetli düzeyde ödem ve hiperemi gözlemlendi. Ayrıca spermatositlerde şiddetli düzeyde bir dejenerasyon şekillendiği ve nekroza bağlı olarak tubulus duvarlarında bir incelme olduğu belirlendi. Ceylan ve ark. (2020)¹⁹⁴ yaptıkları bir çalışmada tek doz sisplatin verdikleri ratlarda testis hasarı oluştuğunu ve spermatogenik hücre serilerini bozduğunu, bazal membranlarda kayıplara neden olduğunu belirlemişlerdir. Bizim çalışmamıza benzer bir şekilde Gules ve ark. (2019)¹³⁰ yaptıkları bir çalışmada BPA uygulanan ratlarda testis hasarının olduğu gözlenmiştir. Bu çalışmada testislerde vakuolasyon ve hücre sel lezyonların belirgin olduğu gözlemlendi. BPA uygulanan grupta tunika albuginea'nın kalınlığında ve seminifer tubul çapında bir azalma olduğu gözlenirken, intersitisyel aralıkta bir artma olduğu gözlemlendi.

Çalışmamızda BPA ile birlikte uygulanan hesperidinin intertubuler aralıklardaki ödemi ve damarlarda meydana gelen hiperemiye azalttığı belirlendi. Spermatositlerde meydana gelen dejenerasyonun ise BPA uygulanan gruba göre daha düşük düzeyde olduğu görüldü.

Hücre içinde DNA hasarının göstergesi olan 8-OHdG ekspresyonu BPA uygulanan grupta yapılan IHC analizlerinde şiddetli düzeyde olduğu gözlemlendi. Sahu ve ark. (2020)¹⁹⁵ yaptıkları bir çalışmada bizim çalışmamızla uyumlu olarak BPA uygulamasına bağlı testikular 8-OHdG düzeyinin kontrole göre belirgin bir şekilde yüksek olduğu gözlemlendi. Ancak BPA uygulanan çinko yetersiz ratlarda bu düzeyin daha yüksek olduğu gözlemlendi. Bizim çalışmamızda ise BPA uygulamasıyla beraber hesperidin uygulamasının, seminifer tubüllerde ve spermatositlerde sitoplazmik 8-OHdG düzeyinde kontrole yakın değerler elde edilmesine yardım ettiği belirlendi.

Anti-apoptotik Bcl-2 ve pro-apoptotik Bax hücrelerde apoptozisin şekillenip şekillenmediği hakkında bize bilgi vermektedir. Çalışmamızda BPA uygulamasına bağlı olarak Bax düzeyinin belirgin bir şekilde kontrole göre daha yüksek olduğu gözlemlendi. Anti-apoptotik özelliğe sahip olan Bcl-2 düzeyinin BPA uygulamasına bağlı olarak azaldığı görüldü. Geng ve ark. (2015)¹⁹⁶ yaptıkları bir çalışmada malatyon verdikleri ratlarda testis hasarının oluştuğunu ve buna bağlı olarak anti-apoptotik Bcl-2 düzeyinin azaldığı, proapoptotik Bax düzeyinin ise arttığını gözlemlediler. BPA ile birlikte hesperidin uygulanan ratlarda ise Bax ve Bcl-2 düzeyinin kontrole yakın düzeylerde kaldığı ve kontrol ile aralarında istatistiksel olarak fark bulunmadığı yapılan IHC analizlerinde belirlendi.

Kaspazlar, apoptozun önemli araçlarıdır. Bunlar, pro-enzimler olarak sentezlenir ve iç/dış uyaranlar tarafından aktive edilir.¹⁹⁷ Kaspaz -3, kaspazların en kritik efektörleridir ve apoptozun ayırt edici bir işaretleri olarak kabul edilir.^{198, 199} Bu

yaptığımız çalışmada BPA ile oluşturulan testis hasarında kaspaz-3 aktivitesinin arttığı ve bu yolla hücrelerde apoptozun indüklendiği belirlendi. Akhigbe ve ark. (2020)²⁰⁰ yaptıkları bir çalışmada 6 hafta boyunca kodein verdikleri tavşanların testis dokularında apoptozun uyarıldığını ve kaspaz-3 seviyesinin kontrole göre daha yüksek olduğu gözlemlendiler. Çalışmamızda ise BPA ile artan testisküler kaspaz-3 seviyesinin hesperidin uygulanan grupta kontrole yakın seyrettiği ve apoptozu engellendiği görüldü.



6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Ratlarda Bisfenol A ile indüklenen testis hasarında hesperidinin koruyucu etkileri, testis ve serumda analizini yaptığımız enzimlerle, IHC ve histopatolojik bulgularla ve sperm üzerine yaptığımız analizlerle belirlenmiştir.

Bisfenol A uygulanan ratların epididimlerinden alınan sperm örneklerinde; motilite ve yoğunluk değerlerinin azaldığı, ölü ve anormal sperm miktarının ise yükseldiği görüldü. Bisfenol A ile birlikte Hesperidin uygulanan ratlarda bahsi geçen sperm parametrelerinin fizyolojik değerlerde kaldığı ve kontrole yakın sonuçlar elde edildiği görüldü.

Bisfenol A uygulanan ratların testis dokularında yapılan ELISA analizlerinde MDA düzeyinin kontrole göre yüksek olduğu, SOD, Katalaz, GSH ve GPx düzeylerinin kontrole göre daha düşük olduğu gözlemlendi. Bisfenol A ile birlikte Hesperidin uygulanan ratlarda ise bu düzeylerin kontrol seviyesine yakın seyrettiği ve Hesperidinin oksidatif stres ile ilgili bu parametreler üzerine koruyucu etkilerinin olduğunu belirlendi.

Bisfenol A uygulanan ratların testislerinde inflamasyon ile ilişkili olarak IL-1 β , TNF- α , IL-6 ve COX-2 düzeylerinin yüksek olduğu, anti-inflamatuar olan IL-10 düzeyinin ise düşük olduğu görüldü. BPA ile birlikte Hesperidin uygulanan ratlarda bu düzeylerin kontrol seviyesinde kaldığı ve hesperidinin bu düzeyler üzerine koruyucu etkilerinin olduğu gözlemlendi.

Bisfenol A uygulanan ratların testislerinde apoptozis ile ilgili olarak p38 MAPK ve p53 düzeylerinin kontrole göre yüksek olduğunu tespit edildi. BPA ile birlikte Hesperidin uygulanan ratlarda apoptotik bu parametrelerin düzeylerinin kontrol seviyesinde kaldığı ve hesperidinin anti-apoptotik etkisinin olduğu belirlendi.

Bisfenol A uygulanan ratların serumlarında FSH, LH ve Testosteron seviyelerinde azalma olduğu, testislerindeki Leydig hücrelerinde ise Testosteron

sentezinde görevi bulunan StAR, P450_{scc} ve 17 β -HSD3 enzimlerin seviyesinin kontrole göre düşük olduğu görüldü. Yine BPA ile birlikte Hesperidin uygulanan ratlarda, bu seviyeler üzerine koruyucu etki gösterip ilgili parametrelerin fizyolojik düzeylerde kalmasına yardımcı olduğu gözlemlendi.

Bisfenol A uygulanan ratların testislerinde apoptozis ile ilgili olarak kaspaz-3 ve Bax düzeyinin yüksek, Bcl-2 düzeyinin ise düşük olduğu ve DNA hasarının göstergesi olan 8-OHdG düzeyinin BPA uygulanan grupta kontrol seviyesinin üzerinde olduğu yapılan IHC analizleriyle belirlendi. BPA ile birlikte Hesperidin uygulanan gruplarda ise bu seviyelerin kontrole yakın olduğu ve Hesperidin'in anti-apoptotik özelliğe sahip olduğu gözlemlendi.

Bu araştırmadan elde edilen sonuçlar bu alanda yapılan çalışmalara ve bundan sonra yapılacak olan daha ileri araştırmalara ışık tutacağı umudunu taşımaktayız. Ayrıca BPA ile oluşturulan testis hasarında endoplazmik retikulum ve mitokondrial stres oluşup oluşmadığı ve Hesperidin'in ise bu düzeyde bir etkisinin olup olmadığı daha derin analiz ve yöntemlerle belirlenebilir.

KAYNAKLAR

1. Michałowicz J. Bisphenol A—sources, toxicity and biotransformation. *Environmental toxicology and pharmacology*, 2014, 37: 738-758.
2. Flint S, Markle T, Thompson S, Wallace E. Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. *Journal of environmental management*, 2012, 104: 19-34.
3. Huang Y, Wong C, Zheng J, Bouwman H, Barra R, Wahlström B, Neretin L, Wong MH. Bisphenol A (BPA) in China: a review of sources, environmental levels, and potential human health impacts. *Environment international*, 2012, 42: 91-99.
4. Ma Y, Liu H, Wu J, Yuan L, Wang Y, Du X, Wang R, Marwa PW, Petlulu P, Chen X. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environmental research*, 2019: 108575.
5. Authority E. Scientific opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal*, 2015, 13.
6. Acaroz U, Ince S, Arslan-Acaroz D, Gurler Z, Demirel HH, Kucukkurt I, Eryavuz A, Kara R, Varol N, Zhu K. Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: protective role of boron. *Toxicology research*, 2019, 8: 262-269.
7. Dekant W, Völkel W. Human exposure to bisphenol A by biomonitoring: methods, results and assessment of environmental exposures. *Toxicology and applied pharmacology*, 2008, 228: 114-134.
8. Völkel W, Colnot T, Csanády GA, Filser JG, Dekant W. Metabolism and kinetics of bisphenol A in humans at low doses following oral administration. *Chemical Research in Toxicology*, 2002, 15: 1281-1287.

9. Ziv-Gal A, Craig ZR, Wang W, Flaws JA. Bisphenol A inhibits cultured mouse ovarian follicle growth partially via the aryl hydrocarbon receptor signaling pathway. *Reproductive Toxicology*, 2013, 42: 58-67.
10. Moon MK, Kim MJ, Jung IK, Koo YD, Ann HY, Lee KJ, Kim SH, Yoon YC, Cho B-J, Park KS. Bisphenol A impairs mitochondrial function in the liver at doses below the no observed adverse effect level. *Journal of Korean Medical Science*, 2012, 27: 644-652.
11. Palmer MV, Thacker TC, Waters W, Gortázar C, Corner LA. *Mycobacterium bovis*: a model pathogen at the interface of livestock, wildlife, and humans. *Veterinary Medicine International*, 2012, 2012.
12. Teppala S, Madhavan S, Shankar A. Bisphenol A and metabolic syndrome: results from Nhanes. *International Journal of Endocrinology*, 2012, 2012.
13. Salian S, Doshi T, Vanage G. Perinatal exposure of rats to bisphenol A affects fertility of male offspring—an overview. *Reproductive Toxicology*, 2011, 31: 359-362.
14. Horstman KA, Naciff JM, Overmann GJ, Foertsch LM, Richardson BD, Daston GP. Effects of Transplacental 17- α -Ethinyl Estradiol or Bisphenol A on the Developmental Profile of Steroidogenic Acute Regulatory Protein in the Rat Testis. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*, 2012, 95: 318-325.
15. Nanjappa MK, Simon L, Akingbemi BT. The industrial chemical bisphenol A (BPA) interferes with proliferative activity and development of steroidogenic capacity in rat Leydig cells. *Biology of reproduction*, 2012, 86: 135, 131-112.

16. Nikula H, Talonpoika T, Kaleva M, Toppari J. Inhibition of hCG-stimulated steroidogenesis in cultured mouse Leydig tumor cells by bisphenol A and octylphenols. *Toxicology and applied pharmacology*, 1999, 157: 166-173.
17. Nakamura D, Yanagiba Y, Duan Z, Ito Y, Okamura A, Asaeda N, Tagawa Y, Li C, Taya K, Zhang S-Y. Bisphenol A may cause testosterone reduction by adversely affecting both testis and pituitary systems similar to estradiol. *Toxicology Letters*, 2010, 194: 16-25.
18. Tejada S, Pinya S, Martorell M, Capó X, Tur JA, Pons A, Sureda A. Potential anti-inflammatory effects of hesperidin from the genus Citrus. *Current medicinal chemistry*, 2018, 25: 4929-4945.
19. Pereira-Caro G, Borges G, Van Der Hooft J, Clifford MN, Del Rio D, Lean ME, Roberts SA, Kellerhals MB, Crozier A. Orange juice (poly) phenols are highly bioavailable in humans. *The American journal of clinical nutrition*, 2014, 100: 1378-1384.
20. Tomás-Barberán FA, Clifford MN. Flavanones, chalcones and dihydrochalcones—nature, occurrence and dietary burden. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 2000, 80: 1073-1080.
21. Roohbakhsh A, Parhiz H, Soltani F, Rezaee R, Iranshahi M. Molecular mechanisms behind the biological effects of hesperidin and hesperetin for the prevention of cancer and cardiovascular diseases. *Life sciences*, 2015, 124: 64-74.
22. Chiba H, Kim H, Matsumoto A, Akiyama S, Ishimi Y, Suzuki K, Uehara M. Hesperidin prevents androgen deficiency-induced bone loss in male mice. *Phytotherapy Research*, 2014, 28: 289-295.
23. Kawser Hossain M, Abdal Dayem A, Han J, Yin Y, Kim K, Kumar Saha S, Yang G-M, Choi HY, Cho S-G. Molecular mechanisms of the anti-obesity and anti-

- diabetic properties of flavonoids. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, 17: 569.
24. Smina T, Mohan A, Ayyappa K, Sethuraman S, Krishnan U. Hesperetin exerts apoptotic effect on A431 skin carcinoma cells by regulating mitogen activated protein kinases and cyclins. *Cellular and Molecular Biology*, 2015, 61: 92-99.
25. Choi EJ. Hesperetin induced G1-phase cell cycle arrest in human breast cancer MCF-7 cells: involvement of CDK4 and p21. *Nutrition and cancer*, 2007, 59: 115-119.
26. Palit S, Kar S, Sharma G, Das PK. Hesperetin induces apoptosis in breast carcinoma by triggering accumulation of ROS and activation of ASK1/JNK pathway. *Journal of cellular physiology*, 2015, 230: 1729-1739.
27. Yang H-L, Chen S-C, Senthil Kumar K, Yu K-N, Lee Chao P-D, Tsai S-Y, Hou Y-C, Hseu Y-C. Antioxidant and anti-inflammatory potential of hesperetin metabolites obtained from hesperetin-administered rat serum: an ex vivo approach. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2012, 60: 522-532.
28. Chanet A, Milenkovic D, Claude S, Maier JA, Khan MK, Rakotomanomana N, Shinkaruk S, Bérard AM, Bennetau-Pelissero C, Mazur A. Flavanone metabolites decrease monocyte adhesion to TNF- α -activated endothelial cells by modulating expression of atherosclerosis-related genes. *British journal of nutrition*, 2013, 110: 587-598.
29. Kim GD. Hesperetin inhibits vascular formation by suppressing of the PI3K/AKT, ERK, and p38 MAPK signaling pathways. *Preventive nutrition and food science*, 2014, 19: 299.
30. Trzeciakiewicz A, Habauzit V, Mercier S, Barron D, Urpi-Sarda M, Manach C, Offord E, Horcajada M-N. Molecular mechanism of hesperetin-7-O-glucuronide,

- the main circulating metabolite of hesperidin, involved in osteoblast differentiation. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2010, 58: 668-675.
31. Mullen W, Archeveque M-A, Edwards CA, Matsumoto H, Crozier A. Bioavailability and metabolism of orange juice flavanones in humans: impact of a full-fat yogurt. *Journal of agricultural and food chemistry*, 2008, 56: 11157-11164.
 32. Takumi H, Nakamura H, Simizu T, Harada R, Kometani T, Nadamoto T, Mukai R, Murota K, Kawai Y, Terao J. Bioavailability of orally administered water-dispersible hesperetin and its effect on peripheral vasodilatation in human subjects: implication of endothelial functions of plasma conjugated metabolites. *Food & function*, 2012, 3: 389-398.
 33. Brett GM, Hollands W, Needs PW, Teucher B, Dainty JR, Davis BD, Brodbelt JS, Kroon PA. Absorption, metabolism and excretion of flavanones from single portions of orange fruit and juice and effects of anthropometric variables and contraceptive pill use on flavanone excretion. *British Journal of Nutrition*, 2008, 101: 664-675.
 34. Manach C, Morand C, Gil-Izquierdo A, Bouteloup-Demange C, Remesy C. Bioavailability in humans of the flavanones hesperidin and narirutin after the ingestion of two doses of orange juice. *European journal of clinical nutrition*, 2003, 57: 235-242.
 35. Brand W, Boersma MG, Bik H, Hoek-van Den Hil EF, Vervoort J, Barron D, Meinel W, Glatt H, Williamson G, Van Bladeren PJ. Phase II metabolism of hesperetin by individual UDP-glucuronosyltransferases and sulfotransferases and rat and human tissue samples. *Drug Metabolism and Disposition*, 2010, 38: 617-625.

36. Perche O, Vergnaud-Gauduchon J, Morand C, Dubray C, Mazur A, Vasson M-P. Orange juice and its major polyphenol hesperidin consumption do not induce immunomodulation in healthy well-nourished humans. *Clinical Nutrition*, 2014, 33: 130-135.
37. Hong Y, An Z. Hesperidin attenuates learning and memory deficits in APP/PS1 mice through activation of Akt/Nrf2 signaling and inhibition of RAGE/NF- κ B signaling. *Archives of pharmacal research*, 2018, 41: 655-663.
38. Tamilselvam K, Braidly N, Manivasagam T, Essa MM, Prasad NR, Karthikeyan S, Thenmozhi AJ, Selvaraju S, Guillemin GJ. Neuroprotective effects of hesperidin, a plant flavanone, on rotenone-induced oxidative stress and apoptosis in a cellular model for Parkinson's disease. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2013, 2013.
39. Homayouni F, Haidari F, Hedayati M, Zakerkish M, Ahmadi K. Hesperidin supplementation alleviates oxidative DNA damage and lipid peroxidation in type 2 diabetes: A randomized double-blind placebo-controlled clinical trial. *Phytotherapy Research*, 2017, 31: 1539-1545.
40. Manashjyoti S. A clinical study on vrishya satavari ghrit in the management of oligospermia. <http://hdl.handle.net/10603/127596>.
41. Gül den T. Testisin stereolojik metotlar ile incelenmesinde farklı fiksatiflerin etkilerinin karşılaştırılması. Balıkesir Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2019.
42. Hales DB. Regulation of Leydig cell function as it pertains to the inflammatory response. İçinde: *The Leydig cell in health and disease*, Springer, 2007: 305-321.
43. Mayerhofer A, Frungberi M, Fritz S, Bulling A, Jessberger B, Vogt HJ. Evidence for catecholaminergic, neuronlike cells in the adult human testis: changes associated with testicular pathologies. *Journal of andrology*, 1999, 20: 341-347.

44. Yılmaz B. *Hormonlar ve Üreme Fizyolojisi*. Baskı. Ankara, Feryal Matbaacılık, 1999: 340.
45. Miller WL, Auchus RJ. The molecular biology, biochemistry, and physiology of human steroidogenesis and its disorders. *Endocrine Reviews*, 2011, 32: 81-151.
46. Diotel N, Charlier TD, Lefebvre d'Hellencourt C, Couret D, Trudeau VL, Nicolau JC, Meilhac O, Kah O, Pellegrini E. Steroid transport, local synthesis, and signaling within the brain: roles in neurogenesis, neuroprotection, and sexual behaviors. *Frontiers in Neuroscience*, 2018, 12: 84.
47. Ma Y, Liu H, Wu J, Yuan L, Wang Y, Du X, Wang R, Marwa PW, Petlulu P, Chen X. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environmental research*, 2019, 176: 108575.
48. Özdal T, Yeşilcubuk NŞ. Toxicity of bisphenol-a: effects on health and regulations. *International Journal of Agricultural and Biosystems Engineering*, 2014, 8: 553-557.
49. Wang H, Chang L, Aguilar JS, Dong S, Hong Y. Bisphenol-A exposure induced neurotoxicity in glutamatergic neurons derived from human embryonic stem cells. *Environment international*, 2019, 127: 324-332.
50. Xu J, Huang G, Guo TL. Developmental bisphenol A exposure modulates immune-related diseases. *Toxics*, 2016, 4: 23.
51. Hanaoka T, Kawamura N, Hara K, Tsugane S. Urinary bisphenol A and plasma hormone concentrations in male workers exposed to bisphenol A diglycidyl ether and mixed organic solvents. *Occupational and environmental medicine*, 2002, 59: 625-628.

52. Tohei A, Suda S, Taya K, Hashimoto T, Kogo H. Bisphenol A inhibits testicular functions and increases luteinizing hormone secretion in adult male rats. *Experimental biology and medicine*, 2001, 226: 216-221.
53. Wisniewski P, Romano RM, Kizys MM, Oliveira KC, Kasamatsu T, Giannocco G, Chiamolera MI, Dias-da-Silva MR, Romano MA. Adult exposure to bisphenol A (BPA) in Wistar rats reduces sperm quality with disruption of the hypothalamic–pituitary–testicular axis. *Toxicology*, 2015, 329: 1-9.
54. Cagen S, Waechter Jr J, Dimond S, Breslin W, Butala J, Jekat F, Joiner R, Shiotsuka R, Veenstra G, Harris L. Normal reproductive organ development in CF-1 mice following prenatal exposure to bisphenol A. *Toxicological sciences: an official journal of the Society of Toxicology*, 1999, 50: 36-44.
55. Meli R, Monnolo A, Annunziata C, Pirozzi C, Ferrante MC. Oxidative stress and BPA toxicity: an antioxidant approach for male and female reproductive dysfunction. *Antioxidants*, 2020, 9: 405.
56. Wang Y, Zhang L, Luo X, Wang S, Wang Y. Bisphenol A exposure triggers apoptosis via three signaling pathways in *Caenorhabditis elegans*. *RSC advances*, 2017, 7: 32624-32631.
57. Qi S, Fu W, Wang C, Liu C, Quan C, Kourouma A, Yan M, Yu T, Duan P, Yang K. BPA-induced apoptosis of rat Sertoli cells through Fas/FasL and JNKs/p38 MAPK pathways. *Reproductive Toxicology*, 2014, 50: 108-116.
58. ElGendy MML, Rashed MA, Ali RAM, Kamel AH. Reproductive Toxicity Induced by Low Dose Bisphenol A (BPA) in Male Rats. *Journal of Scientific Research in Science*, 2020, 37: 73-98.
59. Is Y, Woodside J. Antioxidant in health and disease. *J Clin Pathol*, 2001, 54: 176-186.

60. Chapple I. Reactive oxygen species and antioxidants in inflammatory diseases. *Journal of clinical periodontology*, 1997, 24: 287-296.
61. Halliwell B, Gutteridge JM. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochemical journal*, 1984, 219: 1-14.
62. Halliwell B, Gutteridge JM. *Free radicals in biology and medicine*. Baskl. Oxford University Press, USA, 2015.
63. Sies H. Oxidative stress: oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology: Translation and Integration*, 1997, 82: 291-295.
64. Sies H. Oxidative stress: from basic research to clinical application. *The American journal of medicine*, 1991, 91: S31-S38.
65. Sorg O. Oxidative stress: a theoretical model or a biological reality? *Comptes rendus biologies*, 2004, 327: 649-662.
66. Valko M, Rhodes C, Moncol J, Izakovic M, Mazur M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-biological interactions*, 2006, 160: 1-40.
67. Shackelford RE, Kaufmann WK, Paules RS. Oxidative stress and cell cycle checkpoint function. *Free Radical Biology and Medicine*, 2000, 28: 1387-1404.
68. Hamilton RJ, Kalu C, Prisk E, Padley F, Pierce H. Chemistry of free radicals in lipids. *Food Chemistry*, 1997, 60: 193-199.
69. Jensen SJK. Oxidative stress and free radicals. *Journal of Molecular Structure: Theochem*, 2003, 666: 387-392.
70. Beneš L, Ďuračková Z, Ferenčík M. Chemistry, physiology and pathology of free radicals. *Life sciences*, 1999, 65: 1865-1874.
71. Abdollahi M, Ranjbar A, Shadnia S, Nikfar S, Rezaiee A. Pesticides and oxidative stress: a review. *Medical Science Monitor*, 2004, 10: RA141-RA147.

72. Szabó C. Role of poly (ADP-ribose) synthetase in inflammation. *European journal of pharmacology*, 1998, 350: 1-19.
73. Freeman BA, Crapo JD. Biology of disease: free radicals and tissue injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47: 412.
74. Kehrer JP. Free radicals as mediators of tissue injury and disease. *Critical reviews in toxicology*, 1993, 23: 21-48.
75. Egan RW, Paxton J, Kuehl F. Mechanism for irreversible self-deactivation of prostaglandin synthetase. *Journal of Biological Chemistry*, 1976, 251: 7329-7335.
76. Weiss S, LoBuglio A. Phagocyte-generated oxygen metabolites and cellular injury. *Laboratory investigation; a journal of technical methods and pathology*, 1982, 47: 5.
77. Balagopalakrishna C, Manoharan PT, Abugo OO, Rifkind JM. Production of superoxide from hemoglobin-bound oxygen under hypoxic conditions. *Biochemistry*, 1996, 35: 6393-6398.
78. Brantley R, Smerdon S, Wilkinson A, Singleton EW, Olson J. The mechanism of autooxidation of myoglobin. *Journal of Biological Chemistry*, 1993, 268: 6995-7010.
79. Turrens JF. Superoxide production by the mitochondrial respiratory chain. *Bioscience reports*, 1997, 17: 3-8.
80. Hayakawa M, Hattori K, Sugiyama S, Ozawa T. Age-associated oxygen damage and mutations in mitochondrial DNA in human hearts. *Biochemical and biophysical research communications*, 1992, 189: 979-985.

81. Shigenaga MK, Hagen TM, Ames BN. Oxidative damage and mitochondrial decay in aging. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1994, 91: 10771-10778.
82. Imlay JA. A metabolic enzyme that rapidly produces superoxide, fumarate reductase of *Escherichia coli*. *Journal of Biological Chemistry*, 1995, 270: 19767-19777.
83. Masters C, Holmes R. Peroxisomes: new aspects of cell physiology and biochemistry. *Physiological Reviews*, 1977, 57: 816-882.
84. Kappus H. A survey of chemicals inducing lipid peroxidation in biological systems. *Chemistry and physics of lipids*, 1987, 45: 105-115.
85. Gate L, Paul J, Ba GN, Tew K, Tapiero H. Oxidative stress induced in pathologies: the role of antioxidants. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 1999, 53: 169-180.
86. Halliwell B. Oxidative stress and cancer: have we moved forward? *Biochemical journal*, 2007, 401: 1-11.
87. Aruoma OI. Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease. *Journal of the American oil chemists' society*, 1998, 75: 199-212.
88. Wiseman H, Halliwell B. Damage to DNA by reactive oxygen and nitrogen species: role in inflammatory disease and progression to cancer. *Biochemical journal*, 1996, 313: 17-29.
89. Gill SS, Tuteja N. Reactive oxygen species and antioxidant machinery in abiotic stress tolerance in crop plants. *Plant physiology and biochemistry*, 2010, 48: 909-930.
90. Berlett BS, Stadtman ER. Protein oxidation in aging, disease, and oxidative stress. *Journal of Biological Chemistry*, 1997, 272: 20313-20316.

91. Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri. *Mimoza Yayınları, Konya*, 1995, 1.
92. Shacter E. Quantification and significance of protein oxidation in biological samples. *Drug metabolism reviews*, 2000, 32: 307-326.
93. Thornalley PJ. Monosaccharide autooxidation in health and disease. *Environmental Health Perspectives*, 1985, 64: 297-307.
94. Atlan N, Sepici Dinçel A, Koca C. Diabetes mellitus ve oksidatif stres. *Türk Biyokimya Dergisi*, 2006, 31: 51-56.
95. Jain PK, Ravichandran V, Sharma S, Agrawal RK. The antioxidant activity of some medicinal plants. *Turkish Journal of Biology*, 2008, 32: 197-202.
96. Willekens H, Chamnongpol S, Davey M, Schraudner M, Langebartels C, Van Montagu M, Inzé D, Van Camp W. Catalase is a sink for H₂O₂ and is indispensable for stress defence in C₃ plants. *The EMBO journal*, 1997, 16: 4806-4816.
97. Bounous G, Sukkar S, Molson J. The antioxidant system. *Anticancer research*, 2003, 23: 1411-1416.
98. Patekar D, Kheur S, Bagul N, Kulkarni M, Mahalle A, Ingle Y, Dhas V. Antioxidant Defence System. *Oral & Maxillofacial Pathology Journal*, 2013, 4.
99. Derviş E. Oral antioksidanlar. *Dermatoz*, 2011, 2: 263-267.
100. Blokhina O, Virolainen E, Fagerstedt KV. Antioxidants, oxidative damage and oxygen deprivation stress: a review. *Annals of botany*, 2003, 91: 179-194.
101. Walz C, Juenger M, Schad M, Kehr J. Evidence for the presence and activity of a complete antioxidant defence system in mature sieve tubes. *The Plant Journal*, 2002, 31: 189-197.

- 102.Büyükuslu N, Çelik Ö, Atak Ç. The effect of magnetic field on the activity of superoxide dismutase. *Journal of cell and molecular biology*, 2006, 5: 57-62.
- 103.McCord JM, Fridovich I. Superoxide dismutase an enzymic function for erythrocuprein (hemocuprein). *Journal of Biological Chemistry*, 1969, 244: 6049-6055.
- 104.Beckman JS, Beckman TW, Chen J, Marshall PA, Freeman BA. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 1990, 87: 1620-1624.
- 105.Artur Y, Herbeth B, Guémouri L, Lecomte E, Jeandel C, Siest G. Age-related variations of enzymatic defenses against free radicals and peroxides. İçinde: *Free radicals and aging*, Springer, 1992: 359-367.
- 106.Mills GC. Hemoglobin catabolism I. Glutathione peroxidase, an erythrocyte enzyme which protects hemoglobin from oxidative breakdown. *Journal of Biological Chemistry*, 1957, 229: 189-197.
- 107.Maiorino FM, Brigelius-Flohé R, Aumann K, Roveri A, Schomburg D, Flohé L. Diversity of glutathione peroxidases. İçinde: *Methods in enzymology*, Elsevier, 1995: 38-53.
- 108.Ayala A, Muñoz MF, Argüelles S. Lipid peroxidation: production, metabolism, and signaling mechanisms of malondialdehyde and 4-hydroxy-2-nonenal. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2014, 2014.
- 109.Klaassen CD, Amdur MO. *Casarett and Doull's toxicology: the basic science of poisons*. Baskı. McGraw-Hill New York, 2013.
- 110.Chance B, Sies H, Boveris A. Hydroperoxide metabolism in mammalian organs. *Physiological Reviews*, 1979, 59: 527-605.

- 111.Lardinois OM. Reactions of bovine liver catalase with superoxide radicals and hydrogen peroxide. *Free radical research*, 1995, 22: 251-274.
- 112.Garlanda C, Dinarello CA, Mantovani A. The interleukin-1 family: back to the future. *Immunity*, 2013, 39: 1003-1018.
- 113.Dinarello CA. Overview of the IL-1 family in innate inflammation and acquired immunity. *Immunological reviews*, 2018, 281: 8-27.
- 114.Holbrook J, Lara-Reyna S, Jarosz-Griffiths H, McDermott MF. Tumour necrosis factor signalling in health and disease. *F1000Research*, 2019, 8.
- 115.Garbers C, Heink S, Korn T, Rose-John S. Interleukin-6: designing specific therapeutics for a complex cytokine. *Nature Reviews Drug Discovery*, 2018, 17: 395-412.
- 116.Kessler B, Rinchai D, Kewcharoenwong C, Nithichanon A, Biggart R, Hawrylowicz CM, Bancroft GJ, Lertmemongkolkchai G. Interleukin 10 inhibits pro-inflammatory cytokine responses and killing of *Burkholderia pseudomallei*. *Scientific Reports*, 2017, 7: 1-11.
- 117.Irfan M. Selective cyclooxygenase-2 inhibitors: A review of recent chemical scaffolds with promising anti-inflammatory and COX-2 inhibitory activities. *Medicinal Chemistry Research*, 2020: 1-22.
- 118.Mazzocchi G, Colangelo T, Panza A, Rubino R, De Cata A, Tiberio C, Valvano MR, Pazienza V, Merla G, Augello B. Deregulated expression of cryptochrome genes in human colorectal cancer. *Molecular Cancer*, 2016, 15: 6.
- 119.Wang Q, Zhao X-F, Ji Y-L, Wang H, Liu P, Zhang C, Zhang Y, Xu D-X. Mitochondrial signaling pathway is also involved in bisphenol A induced germ cell apoptosis in testes. *Toxicology Letters*, 2010, 199: 129-135.

120. Graille M, Wild P, Sauvain J-J, Hemmendinger M, Guseva Canu I, Hopf NB. Urinary 8-OHdG as a Biomarker for Oxidative Stress: A Systematic Literature Review and Meta-Analysis. *International Journal of Molecular Sciences*, 2020, 21: 3743.
121. Nebreda AR, Porras A. p38 MAP kinases: beyond the stress response. *Trends in biochemical sciences*, 2000, 25: 257-260.
122. Fridman JS, Lowe SW. Control of apoptosis by p53. *Oncogene*, 2003, 22: 9030-9040.
123. Wang Y-Q, Zhang H-M, Zhang G-C, Tao W-H, Tang S-H. Interaction of the flavonoid hesperidin with bovine serum albumin: A fluorescence quenching study. *Journal of Luminescence*, 2007, 126: 211-218.
124. Ehrlich S, Calafat AM, Humblet O, Smith T, Hauser R. Handling of thermal receipts as a source of exposure to bisphenol A. *JAMA*, 2014, 311: 859-860.
125. Calafat AM, Ye X, Wong L-Y, Reidy JA, Needham LL. Exposure of the US population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003–2004. *Environmental health perspectives*, 2008, 116: 39-44.
126. Control CfD, Prevention. Fourth report on human exposure to environmental chemicals, updated tables. *Atlanta, GA: US Department of Health and Human Services, Centers for Disease Control and Prevention*, 2019.
127. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*, 2007, 24: 139-177.
128. Gould JC, Leonard LS, Maness SC, Wagner BL, Conner K, Zacharewski T, Safe S, McDonnell DP, Gaido KW. Bisphenol A interacts with the estrogen receptor α in a distinct manner from estradiol. *Molecular and cellular endocrinology*, 1998, 142: 203-214.

129. Kuiper GG, Lemmen JG, Carlsson B, Corton JC, Safe SH, Van Der Saag PT, Van Der Burg B, Gustafsson J-Ak. Interaction of estrogenic chemicals and phytoestrogens with estrogen receptor β . *Endocrinology*, 1998, 139: 4252-4263.
130. Gules O, Yildiz M, Naseer Z, Tatar M. Effects of folic acid on testicular toxicity induced by bisphenol-A in male Wistar rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 2019, 94: 26-35.
131. Behmanesh MA, Najafzadehvarzi H, Poormoosavi SM. Protective Effect of Aloe vera Extract against Bisphenol A Induced Testicular Toxicity in Wistar Rats. *Cell Journal (Yakhteh)*, 2018, 20: 278.
132. Karnam S, Ghosh R, Mondal S, Mondal M. Evaluation of subacute bisphenol-A toxicity on male reproductive system. *Veterinary world*, 2015, 8: 738.
133. Quan C, Wang C, Duan P, Huang W, Yang K. Prenatal bisphenol a exposure leads to reproductive hazards on male offspring via the Akt/mTOR and mitochondrial apoptosis pathways. *Environmental toxicology*, 2017, 32: 1007-1023.
134. Kumar S, Pandey AK. Free radicals: health implications and their mitigation by herbals. *Journal of Advances in Medicine and Medical Research*, 2015: 438-457.
135. Manfo FPT, Jubendradass R, Nantia EA, Moundipa PF, Mathur PP. Adverse effects of bisphenol A on male reproductive function. *Reviews of Environmental Contamination and Toxicology Volume 228*, 2014: 57-82.
136. Khalaf A, Ahmed W, Moselhy W, Abdel-Halim B, Ibrahim M. Protective effects of selenium and nano-selenium on bisphenol-induced reproductive toxicity in male rats. *Human & Experimental Toxicology*, 2019, 38: 398-408.
137. Alboghobeish S, Mahdavinia M, Zeidooni L, Samimi A, Oroojan AA, Alizadeh S, Dehghani MA, Ahangarpour A, Khorsandi L. Efficiency of naringin against

- reproductive toxicity and testicular damages induced by bisphenol A in rats. *Iranian journal of basic medical sciences*, 2019, 22: 315.
138. Güleş Ö, Kum Ş, Yıldız M, Boyacıoğlu M, Ahmad E, Naseer Z, Eren Ü. Protective effect of coenzyme Q10 against bisphenol-A-induced toxicity in the rat testes. *Toxicology and industrial health*, 2019, 35: 466-481.
 139. Ansar S, Abudawood M, Alaraj AS, Hamed SS. Hesperidin alleviates zinc oxide nanoparticle induced hepatotoxicity and oxidative stress. *BMC Pharmacology and Toxicology*, 2018, 19: 1-6.
 140. Hozayen WG. Effect of hesperidin and rutin on doxorubicin induced testicular toxicity in male rats. *Int J Food Nutr Sci*, 2012, 1: 31-42.
 141. Kaya K, Çiftçi O, Çetin A, Doğan H, Başak N. Hesperidin protects testicular and spermatological damages induced by cisplatin in rats. *Andrologia*, 2015, 47: 793-800.
 142. Hussain T, Tan B, Yin Y, Blachier F, Tossou MC, Rahu N. Oxidative stress and inflammation: what polyphenols can do for us? *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 2016.
 143. Liu T, Zhang L, Joo D, Sun S-C. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal transduction and targeted therapy*, 2017, 2: 1-9.
 144. Meng Y, Lin R, Wu F, Sun Q, Jia L. Decreased capacity for sperm production induced by perinatal bisphenol a exposure is associated with an increased inflammatory response in the offspring of C57BL/6 male mice. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 2018, 15: 2158.
 145. Abdelkader NF, Elyamany M, Gad AM, Assaf N, Fawzy HM, Elesawy WH. Ellagic acid attenuates liver toxicity induced by valproic acid in rats. *Journal of Pharmacological Sciences*, 2020, 143: 23-29.

146. Abbaszadeh S, Yadegari P, Imani A, Taghdir M. Vitamin D3 protects against lead-induced testicular toxicity by modulating Nrf2 and NF- κ B genes expression in rat. *Reproductive Toxicology*, 2021.
147. Omar HA, Mohamed WR, Arafa E-SA, Shehata BA, El Sherbiny GA, Arab HH, Elgendy ANA. Hesperidin alleviates cisplatin-induced hepatotoxicity in rats without inhibiting its antitumor activity. *Pharmacological Reports*, 2016, 68: 349-356.
148. Baud V, Karin M. Signal transduction by tumor necrosis factor and its relatives. *Trends in Cell Biology*, 2001, 11: 372-377.
149. Bradley J. TNF-mediated inflammatory disease. *The Journal of Pathology: A Journal of the Pathological Society of Great Britain and Ireland*, 2008, 214: 149-160.
150. Tracey K, Vlassara H, Cerami A. Peptide regulatory factors: cachectin/tumour necrosis factor. *The Lancet*, 1989, 333: 1122-1126.
151. Lin E, Calvano SE, Lowry SF. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery*, 2000, 127: 117-126.
152. Loetscher H, Pan Y-CE, Lahm H-W, Gentz R, Brockhaus M, Tabuchi H, Lesslauer W. Molecular cloning and expression of the human 55 kd tumor necrosis factor receptor. *Cell*, 1990, 61: 351-359.
153. Schall TJ, Lewis M, Koller KJ, Lee A, Rice GC, Wong GH, Gatanaga T, Granger GA, Lentz R, Raab H. Molecular cloning and expression of a receptor for human tumor necrosis factor. *Cell*, 1990, 61: 361-370.
154. Fuchs P, Strehl S, Dworzak M, Himmeler A, Ambros PF. Structure of the human TNF receptor 1 (p60) gene (TNRF1) and localization to chromosome 12p13. *Genomics*, 1992, 13: 219-224.

- 155.Santee SM, Owen-Schaub LB. Human tumor necrosis factor receptor p75/80 (CD120b) gene structure and promoter characterization. *Journal of Biological Chemistry*, 1996, 271: 21151-21159.
- 156.Duda E, Nagy T, Männel DN, Eissner G. Signaling and reverse signaling in the tumor necrosis factor/TNF receptor system. İçinde: *Biophysical Aspects of Transmembrane Signaling*, Springer, 2005: 171-209.
- 157.Domitrović R, Škoda M, Marchesi VV, Cvijanović O, Pugel EP, Štefan MB. Rosmarinic acid ameliorates acute liver damage and fibrogenesis in carbon tetrachloride-intoxicated mice. *Food and chemical toxicology*, 2013, 51: 370-378.
- 158.Ansar S, Abudawood M, Hamed SS, Aleem MM. Sodium selenite protects against silver nanoparticle-induced testicular toxicity and inflammation. *Biological Trace Element Research*, 2017, 175: 161-168.
- 159.Belhan S, Özkaraca M, Kandemir FM, Gülyüz F. Effectiveness of hesperidin on methotrexate-induced testicular toxicity in rats. *Biological Membranes*, 2017, 4: 6.
- 160.Ren K, Torres R. Role of interleukin-1 β during pain and inflammation. *Brain research reviews*, 2009, 60: 57-64.
- 161.Kölükçü E, Parlaktaş BS, Kölükçü V, Fırat F, Deresoy FA, Katar M, Kuyucu YE, Unsal V. Protective effects of dexmedetomidine on ischaemia-reperfusion injury in an experimental rat model of priapism. *Andrologia*, 2021, 53: e13985.
- 162.Tanaka T, Narazaki M, Kishimoto T. IL-6 in inflammation, immunity, and disease. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology*, 2014, 6: a016295.
- 163.Fouad AA, Abdel-Aziz AM, Hamouda AA. Diacerein downregulates NLRP3/Caspase-1/IL-1 β and IL-6/STAT3 pathways of inflammation and apoptosis in a rat model of cadmium testicular toxicity. *Biological Trace Element Research*, 2019: 1-7.

164. Wei R, Luo G, Sun Z, Wang S, Wang J. Chronic fluoride exposure-induced testicular toxicity is associated with inflammatory response in mice. *Chemosphere*, 2016, 153: 419-425.
165. Turk E, Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Kuzu M. Protective effect of hesperidin on sodium arsenite-induced nephrotoxicity and hepatotoxicity in rats. *Biological Trace Element Research*, 2019, 189: 95-108.
166. Saraiva M, O'garra A. The regulation of IL-10 production by immune cells. *Nature reviews immunology*, 2010, 10: 170-181.
167. BaSalamah MA, Abdelghany AH, El-Boshy M, Ahmad J, Idris S, Refaat B. Vitamin D alleviates lead induced renal and testicular injuries by immunomodulatory and antioxidant mechanisms in rats. *Scientific Reports*, 2018, 8: 1-13.
168. Yu W, Xu Z, Gao Q, Xu Y, Wang B, Dai Y. Protective role of wogonin against cadmium induced testicular toxicity: Involvement of antioxidant, anti-inflammatory and anti-apoptotic pathways. *Life Sciences*, 2020, 258: 118192.
169. Somade OT, Ajayi BO, Adeyi OE, Adeshina AA, James AS, Ayodele PF. Ethylene glycol monomethyl ether-induced testicular oxidative stress and time-dependent up-regulation of apoptotic, pro-inflammatory, and oncogenic markers in rats. *Metabolism Open*, 2020, 7: 100051.
170. Said RS, Mohamed HA, Kassem DH. Alpha-lipoic acid effectively attenuates ionizing radiation-mediated testicular dysfunction in rats: Crosstalk of NF- κ B, TGF- β , and PPAR- γ pathways. *Toxicology*, 2020, 442: 152536.
171. Neeraja S, Sreenath A, Reddy P, Reddanna P. Expression of cyclooxygenase-2 in rat testis. *Reproductive Biomedicine Online*, 2003, 6: 302-309.

172. Neamatallah T, El-Shitany NA, Abbas AT, Ali SS, Eid BG. Honey protects against cisplatin-induced hepatic and renal toxicity through inhibition of NF- κ B-mediated COX-2 expression and the oxidative stress dependent BAX/Bcl-2/caspase-3 apoptotic pathway. *Food & Function*, 2018, 9: 3743-3754.
173. Zhang S, Jiang C, Liu H, Guan Z, Zeng Q, Zhang C, Lei R, Xia T, Gao H, Yang L. Fluoride-elicited developmental testicular toxicity in rats: roles of endoplasmic reticulum stress and inflammatory response. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 2013, 271: 206-215.
174. Ileriturk M, Benzer F, Aksu EH, Yildirim S, Kandemir FM, Dogan T, Dortbudak MB, Genc A. Chrysin protects against testicular toxicity caused by lead acetate in rats with its antioxidant, anti-inflammatory, and antiapoptotic properties. *Journal of Food Biochemistry*, 2021, 45: e13593.
175. Elshazly SM, Abd El Motteleb DM, Ibrahim IA-H. Hesperidin protects against stress induced gastric ulcer through regulation of peroxisome proliferator activator receptor gamma in diabetic rats. *Chemico-biological interactions*, 2018, 291: 153-161.
176. Gräb J, Rybniker J. The expanding role of p38 mitogen-activated protein kinase in programmed host cell death. *Microbiol Insights*, 2019, 12: 1178636119864594.
177. Sherif IO, Abdel-Aziz A, Sarhan OM. Cisplatin-induced testicular toxicity in rats: the protective effect of arjunolic acid. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2014, 28: 515-521.
178. Xie X, Deng T, Duan J, Xie J, Yuan J, Chen M. Exposure to polystyrene microplastics causes reproductive toxicity through oxidative stress and activation of the p38 MAPK signaling pathway. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 2020, 190: 110133.

179. Afzal SM, Vafa A, Rashid S, Barnwal P, Shahid A, Shree A, Islam J, Ali N, Sultana S. Protective effect of hesperidin against N, N'-dimethylhydrazine induced oxidative stress, inflammation, and apoptotic response in the colon of Wistar rats. *Environmental Toxicology*, 2021, 36: 642-653.
180. Aubrey BJ, Kelly GL, Janic A, Herold MJ, Strasser A. How does p53 induce apoptosis and how does this relate to p53-mediated tumour suppression? *Cell Death and Differentiation*, 2018, 25: 104-113.
181. Abd El-Hameed AM, Mahmoud HS. Cypermethrin induced apoptosis and testicular toxicity by upregulation of p53 in the brain and testis of male rats is alleviated by Sesame oil. *Journal of Taibah University for Science*, 2020, 14: 1342-1349.
182. Asgharzadeh F, Roshan-Milani S, Fard AA, Ahmadi K, Saboory E, Pourjabali M, Chodari L, Amini M. The protective effect of zinc on morphine-induced testicular toxicity via p53 and Akt pathways: An in vitro and in vivo approach. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 2021, 67: 126776.
183. Caglayan C, Kandemir FM, Darendelioğlu E, Küçükler S, Ayna A. Hesperidin protects liver and kidney against sodium fluoride-induced toxicity through anti-apoptotic and anti-autophagic mechanisms. *Life Sciences*, 2021: 119730.
184. Oduwole OO, Peltoketo H, Huhtaniemi IT. Role of follicle-stimulating hormone in spermatogenesis. *Frontiers in Endocrinology*, 2018, 9: 763.
185. Uzun FG, Kalender S, Durak D, Demir F, Kalender Y. Malathion-induced testicular toxicity in male rats and the protective effect of vitamins C and E. *Food and chemical toxicology*, 2009, 47: 1903-1908.
186. Ayinde OC, Ogunnowo S, Ogedegbe RA. Influence of Vitamin C and Vitamin E on testicular zinc content and testicular toxicity in lead exposed albino rats. *BMC pharmacology and toxicology*, 2012, 13: 1-8.

187. Tousson E, Hafez E, Masoud A, Hassan AA. Abrogation by curcumin on testicular toxicity induced by cisplatin in rats. *J Cancer Res Treat*, 2014, 2: 64-68.
188. Fatahi E, Parivar K, Joursaraei S, Moghadamnia AA. The effects of diazinon on testosterone, FSH and LH levels and testicular tissue in mice. 2009.
189. Chandra AK, Ghosh R, Chatterjee A, Sarkar M. Protection against vanadium-induced testicular toxicity by testosterone propionate in rats. *Toxicology mechanisms and methods*, 2010, 20: 306-315.
190. Alanbaki AA, Mayali HM, Mayali HK. The protective effect of quercetin and hesperidin on etoposide induced toxicity in male rats testicular. *JPSR*, 2017, 9: 1394-1405.
191. Wang Y, Chen F, Ye L, Zirkin B, Chen H. Steroidogenesis in Leydig cells: effects of aging and environmental factors. *Reproduction*, 2017, 154: R111-R122.
192. Cao Z, Shao B, Xu F, Liu Y, Li Y, Zhu Y. Protective effect of selenium on aflatoxin B1-induced testicular toxicity in mice. *Biological Trace Element Research*, 2017, 180: 233-238.
193. Abdelhamid FM, Mahgoub HA, Ateya AI. Ameliorative effect of curcumin against lead acetate-induced hemato-biochemical alterations, hepatotoxicity, and testicular oxidative damage in rats. *Environmental Science and Pollution Research*, 2020: 1-16.
194. Ceylan T, Kaymak E, Tan FC, Yakan B. Research on the protective effect of caffeic acid phenethyl ester on testicular damage caused by cisplatin. *Turkish Journal of Medical Sciences*, 2020, 50: 2032-2039.
195. Sahu C, Charaya A, Singla S, Dwivedi DK, Jena G. Zinc deficient diet increases the toxicity of bisphenol A in rat testis. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 2020, 34: e22549.

- 196.Geng X, Shao H, Zhang Z, Ng JC, Peng C. Malathion-induced testicular toxicity is associated with spermatogenic apoptosis and alterations in testicular enzymes and hormone levels in male Wistar rats. *Environmental toxicology and pharmacology*, 2015, 39: 659-667.
- 197.Li J, Yuan J. Caspases in apoptosis and beyond. *Oncogene*, 2008, 27: 6194-6206.
- 198.Lavrik IN, Golks A, Krammer PH. Caspases: pharmacological manipulation of cell death. *The Journal of clinical investigation*, 2005, 115: 2665-2672.
- 199.Jessel R, Haertel S, Socaciu C, Tykhonova S, Diehl HA. Kinetics of apoptotic markers in exogeneously induced apoptosis of EL4 cells. *Journal of cellular and molecular medicine*, 2002, 6: 82-92.
- 200.Akhigbe R, Ajayi A. Testicular toxicity following chronic codeine administration is via oxidative DNA damage and up-regulation of NO/TNF- α and caspase 3 activities. *PloS One*, 2020, 15: e0224052.

EKLER

EK-1. ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler
Adı Soyadı: Samet TEKİN
Doğum tarihi:
Doğum Yeri:
Medeni Hali:
Uyruğu:
Adres:
Tel:
Faks:
E-mail:
Eğitim
Lise:
Lisans:
Yüksek lisans:
Doktora:
İngilizce:
Almanca:
Rusça:
Üye Olunan Mesleki Kuruluşlar
İlgi Alanları ve Hobiler

EK-2. ETİK BİLDİRİM VE İNTİHAL BEYAN FORMU¹

Öğrencinin Adı ve Soyadı	Samet TEKİN
Öğrencinin Numarası	
Ana Bilim Dalı	Veterinerlik Fizyolojisi
Öğrencinin Kayıtlı Olduğu Program Türü	Doktora

Yukarıda bilgileri verilen tezin intihal tespit yazılımıyla (Turnitin) yapılan tarama sonucunda elde edilen benzerlik oranları aşağıdaki gibidir. Beyan edilen bilgilerin doğru olduğunu, aksi hâlde doğacak hukuki sorumlulukları kabul ve beyan ederiz.

Bölümler	Benzerlik Oranı	Maksimum Benzerlik Oranları
I. Giriş	%5	%15
II. Genel Bilgiler	%24	%35
III. Materyal ve Metod	%29	%35
IV. Bulgular	%14	%15
V. Tartışma	%6	%20

Not: Yedi kelimeye kadar benzerlikler ile Başlık, Kaynakça, İçindekiler, Teşekkür, Dizin ve Ekler kısımları tarama dışı bırakılabilir. Yukarıdaki azami benzerlik oranları yanında tek bir kaynaktan olan benzerlik oranlarının %5'den büyük olmaması gerekir.

Tez Yazarı (Öğrenci)	Tez Danışmanı
Samet TEKİN	Prof. Dr. Fikret ÇELEBİ
25.1.2023	25.1.2023
İmza:	İmza:

¹ Bu form bilgisayar ortamında doldurulmalı, çıktısı imzalanıp Tez Savunması Jüri Öneri Formu'yla birlikte Ana Bilim Dalı Başkanlığı aracılığıyla ÜBYS üzerinden Enstitüye iletilmelidir.

EK-3. ETİK KURUL ONAY FORMU



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Rektörlük

Sayı : 75296309-050.01.04-E.2000135094
Konu : HADYEK Kararı.

01.06.2020

VETERİNER FAKÜLTESİ DEKANLIĞINA

İlgi : 20.05.2020 tarihli ve 36643897-000-E.2000125579 sayılı belge.

İlgide kayıtlı yazınız; Atatürk Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulumuzun 29.05.2020 tarih ve 5 sayılı Oturumunda Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu Başvuru Formu ve ekli belgeleri, gerekçe, amaç, yaklaşım ve yöntemler dikkate alınarak incelenmiş ve aşağıya çıkarılan 88 no'lu kararı ile sözkonusu doktora tez çalışmasının yürütülmesinin, etik kurallarına uygun olduğuna, mevcut oy birliği ile karar verilmiş olup, çalışmanın Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülmesine ve taahhütname hükümlerine göre çalışmada kullanılan hayvanlara ait bilgilerin, T.C. Tarım ve Orman Bakanlığı, Doğa Koruma ve Milli Parklar Genel Müdürlüğünün, Hayvanları Koruma Bilgi Sistemi (HAYBİS)'ne girilebilmesi için ekte sunulan "HADYEK Sonuç Raporu"nun Başkanlığımıza gönderilmesi hususunda;

Gereğini bilgilerinize arz ederim.

TOPLANTI TARİHİ : 29.05.2020

TOPLANTI SAYISI : 5

KARAR N0 88: Atatürk Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dekanlığı, Veteriner Hekimliği Temel Bilimleri Bölümü, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyesi Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ'nin yürütücülüğünde, Atatürk Üniversitesi Tıbbi Deneysel Uygulama ve Araştırma Merkezi (ATADEM) Laboratuvarlarında yürütülecek olan **“Ratlarda Bisfenol A ile Oluşturulan Testiküler Toksikasyon Üzerine Hesperidinin Etkisinin Araştırılması”** isimli doktora tez çalışması ile ilgili Veteriner Fakültesi Dekanlığının 20.05.2020 tarihli ve 36643897-000-E.2000125579 sayılı yazısı ile ekleri görüşüldü.

Yapılan görüşmelerden sonra; adı geçen doktora tez çalışmasının yürütülmesinin etik kurallarına uygun olduğuna, taahhütname hükümleri gereğince çalışma sonucunun Başkanlığımıza bildirilmesine, mevcut oy birliği ile kabulüne; **(Yönetmeliğin 8.maddesinin 8/h bendi gereğince, Prof.Dr.Fikret ÇELEBİ, görüşmeye katılmadı ve oy kullanmadı).** karar verildi.

Ek : Sonuç Raporu. 1 Adet.

EK-4. DİĞER FORMLAR



T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Tıbbi Deneyisel Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü (ATADEM)

Sayı : 236643897-000-EBYS
Konu : ATADEM’de Çalışma İzni.

15.05.2020

Sayın Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ

Hayvan Deneyleri Etik Kurullarının Çalışma Usul ve Esaslarına Dair Yönetmelik’in 1. (1) Maddesinde belirtildiği üzere, “Deney hayvanları ile yapılacak olan bilimsel araştırma, test, eğitim, öğretim gibi temel etkinliklerde kullanılan yöntem ve materyaller ile ilgili kabul edilebilir etik standartların belirlenmesine, hayvan deneyleri merkezi etik kurulu ve hayvan deneyleri yerel etik kurullarının kuruluş ve çalışmalarına, yapılması planlanan işlemlerin sunulmasına, araştırma ve çalışma önerilerinin incelenmesi ve izin verilmesine, uygulamaların izlenmesine, deney hayvanları üzerinde yapılan bütün prosedürlerin kayıt altına alınmalarına ve bu prosedürlerin anında ya da geriye doğru izlenebilmelerine, bütün işlemlerin denetlenebilirliğinin sağlanmasına ve ilgili işlemlerin gerektiğinde sonlandırılmalarına ilişkin esasları belirlemektir.” maddesi gereğince tarafınızdan yapılacak olan **“Ratlarda Bisfenol A ile oluşturulan testiküler toksikasyon üzerine Hesperidinin etkilerinin araştırılması”** isimli çalışmada 52 adet sıçan kullanılacak olup, çalışmanızın ATADEM Laboratuvarlarında yapılması Müdürlüğümüzce uygun görülmüştür.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.





T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı
Klinik Öncesi Bilimleri Bölümü Başkanlığı
Veterinerlik Patolojisi Ana Bilim Dalı Başkanlığı

Sayı : 36643897-000-E.2000127710

22.05.2020

Konu : Laboratuvar İzni Hk.

KLİNİK ÖNCESİ BİLİMLERİ BÖLÜMÜ BAŞKANLIĞINA

Fakültemizin Veteriner Hekimliği Temel Bilimleri Bölümü, Fizyoloji Anabilim Dalı öğretim üyelerinden Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ'nin danışmanlığında yürütülecek olan ve Araştırma Görevlisi Samet TEKİN'in doktora tez çalışması olarak planlanan "Ratlarda Bisfenol A ile Oluşturulan Testiküler Toksikasyon Üzerine Hesperidinin Etkisinin Araştırılması" konulu çalışmanın histopatolojik ve immunohistokiyasal çalışmalarının Anabilim Dalı'mız Laboratuvarlarında yapılması uygun görülmüştür.

Gereğini arz ederim.





T.C.
ATATÜRK ÜNİVERSİTESİ REKTÖRLÜĞÜ
Veteriner Fakültesi Dekanlığı
Klinik Bilimler Bölümü Başkanlığı
Dölerme ve Suni Tohumlama Ana Bilim Dalı
Başkanlığı

Sayı : 36643897-000-E.2000127055
Konu : Laboratuvarı Çalışma İzni.

21.05.2020

KLİNİK BİLİMLER BÖLÜM SEKRETERLİĞİNE

İlgi : 21.05.2020 tarihli ve 36643897-000-E.2000126970 sayılı belge.

Fakültemiz Veteriner Hekimliği Temel Bilimler Bölümü Veterinerlik Fizyolojisi Ana Bilim Dalı Öğretim Üyelerinden Prof.Dr. Fikret ÇELEBİ'nin danışmanlığında yürütülecek Araştırma Görevlisi Samet TEKİN'in tez çalışması olarak planlanan "Ratlarda Bisfenol A ile Oluşturulan Testiküler Toksikasyon Üzerine Hesperidinin Etkisinin Araştırılması" konulu çalışmanın sperma analizleri çalışmalarının Anabilim Dalımız laboratuvarlarında yapılması uygundur.

Gereğini arz ederim.

