



**FTALATLARIN BESLENME DAVRANIŞI ve OBEZİTE ÜZERİNE
ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Elif Maide BEYOĞLU

FİZYOLOJİ ANABİLİM DALI

**Tez Danışmanı
Prof. Dr. Sileyman SANDAL**

Yüksek Lisans Tezi – 2024

T.C.
İNÖNÜ ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

FTALATLARIN BESLENME DAVRANIŞI VE
OBEZİTE ÜZERİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI

Elif Maide BEYOĞLU

Fizyoloji Anabilim Dalı
Yüksek Lisans Tezi

Tez Danışmanı
Prof. Dr. Süleyman SANDAL

İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeler Birimi
(TYL-2022-2860) tarafından desteklenmiştir.

MALATYA

2024

KABUL ONAY SAYFASI



ETİK BEYANI

İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak “Prof. Dr. Süleyman SANDAL” danışmanlığında hazırlayıp sunduğum “Ftalatların Beslenme Davranışı ve Obezite Üzerine Etkilerinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezim içinde elde ettiğim verileri, bilgileri, belgeleri akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu, tezimde yararlandığım eserlere bilimsel kurallara uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi, tezimin özgün olduğunu, tezimin çalışma ve yazımında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

18/01/2024

Elif Maide Beyoğlu

İmza

İÇİNDEKİLER

ÖZET	viii
ABSTRACT	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	x
ŞEKİLLER DİZİNİ	xi
TABLolar DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2.1. Endokrin Bozucu Kimyasallar	3
2.2. Etki Mekanizması	3
2.3. Endokrin Bozucu Kimyasallara Maruziyet	4
2.4. Başlıca EBK Grupları	4
2.4.1. Bisfenol A (BPA)	4
2.4.2. Poliklorlu Bifeniller (PCB'ler)	5
2.4.3. Parabenler	5
2.4.4. Diklorodifeniltrikloroetan (DDT)	5
2.4.5. Organoklorlu Pestisitler (OCP)	6
2.4.6. Triklosan (TCS)	6
2.4.7. Ftalatlar	7
2.5. İnsan Fizyolojisine Etkileri	9
2.5.1. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri	9
2.5.2. Üreme Sistemi Üzerine Etkileri	9
2.5.3. Tiroit Üzerine Etkileri	10
2.5.4. Kanseri Üzerine Etkileri	10
2.5.5. Sinir Sistemi Üzerine Etkileri	11
2.5.6. Diyabet Üzerine Etkileri	11
2.5.7. Obezite Üzerine Etkileri	12
2.6. Obezogen Hipotezi	12
2.7. Hipotalamus ve Beslenmenin Hipotalamik Kontrolü	13
2.8. Leptin ve Beslenme	17
2.9. Ghrelin ve Beslenme	17
2.10. İrisin ve Beslenme	18
3. MATERYAL METOT	19

3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez.....	19
3.2. Deney Hayvanlarının Temini	19
3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması	19
3.4. Deney Hazırlıkları ve Kimyasalların Hazırlanması	21
3.5. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması	22
3.6. Analizler	22
3.6.1. Serum Leptin, Ghrelin ve İrisin Seviyelerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi.....	22
3.6.2. Western Blot Analizlerinin Yapılması	24
3.6.3. İmmunofloresan Analizlerinin Yapılması	26
4. BULGULAR	28
4.1. Yem Tüketimi ve Vücut Ağırlığı Değişim Bulguları.....	28
4.2. DNP Grubu Serum Leptin, Ghrelin ve İrisin Seviyeleri.....	32
4.3. DIBP Grubu Serum Leptin, Ghrelin ve İrisin Seviyeleri	33
4.4. DNP Grubu AgRP Seviyeleri Western Blot Bulguları	34
4.5. DIBP Grubu AgRP Seviyeleri Western Blot Bulguları	35
4.6. DNP Grubu POMC Seviyeleri Western Blot Bulguları.....	36
4.7. DIBP Grubu POMC Seviyeleri Western Blot Bulguları.....	37
4.8. İmmunofloresan Bulguları	38
5. TARTIŞMA.....	40
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	45
KAYNAKLAR.....	46

TEŞEKKÜR

Tezimin tüm aşamalarında katkı ve yardımlarını esirgemeyen tez danışmanım Sayın Prof. Dr. Süleyman SANDAL'a, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Öğretim Üyesi hocalarıma, çalışmamın analiz aşamalarında destekleri için İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı Arş. Gör. Dr. Kevser TANBEK'e, çalışmamdaki deneyler ile tez yazımı sırasındaki katkılarından dolayı Dr. Furkan YÜKSEL, Tuba KESKİN, Güldeniz ŞEKERCİ, Vet. Hek. Engin KORKMAZ, Elif KARAHAN TUTAR, Sümeyye AKBULUT ve Semiha Nur ÖZKAYA'ya,

Hayatım boyunca çıktığım her yolda sevgisini ve desteğini benden esirgemeyen, her şeyi başarabileceğime dair beni hep yüreklendiren canım anne ve babama,

Sonsuz sevgi ve saygılarımı sunar, teşekkür ederim.

Bu yüksek lisans tez çalışması İnönü Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi (Proje No: TYL-2022-2860) tarafından desteklenmiştir.

Elif Maide BEYOĞLU

ÖZET

Ftalatların Beslenme Davranışı ve Obezite Üzerine Etkilerinin Araştırılması

Amaç: Obezogenler, günümüzde dünyada yaygın olarak kullanılan ve obeziteye neden olan endokrin bozucu kimyasalların bir alt grubu olarak bilinmektedir. Plastikleştirici olarak bilinen ftalatlar en yaygın kullanılan obezogenlerdendir. Bu çalışma ftalatlar grubunda yer alan DINP ve DIBP kimyasallarının obezite ve iştah metabolizması üzerine etkilerini araştırmak amacıyla planlandı.

Materyal ve Metot: Çalışmada 56 adet erkek *Sprague Dawley* ırkı sıçan kullanıldı. Sıçanlar kontrol ve üç farklı DINP ve DIBP doz grubunu (sırasıyla 0,1, 0,5 ve 1 g/kg/gün) içeren yedi gruba (n=8) ayrıldı. Her iki kimyasal da mısır yağında çözdürüldü ve deney gruplarındaki sıçanlara sekiz hafta boyunca oral gavaj yoluyla verildi (kontrol grubu sıçanlarına sadece mısır yağı verildi). Deney sonunda hayvanlar dekapite edilerek beyin ve kan örnekleri toplandı. Serum leptin, ghrelin ve irisin düzeyleri ELISA ile belirlendi. AgRP ve POMC protein seviyeleri Western-blot ve immunofloresn analizleri ile incelendi.

Bulgular: DINP ve DIBP uygulaması deney gruplarında kontrol grubuna kıyasla besin alımı, serum ghrelin ve irisin ve AgRP protein ekspresyonlarında istatistiksel olarak anlamlı artışlara neden oldu ($p<0.05$). Aksine her iki kimyasal da kontrole kıyasla serum leptin ve POMC protein düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı düşüşlere neden oldu ($p<0.05$).

Sonuç: Çalışma sonuçlarımız, her ikisi de çevresel kirleticisi olan DINP ve DIBP'nin gıda alımını etkilediğini ve bu etkileri endokrin sistemi değiştirerek ve merkezi gıda alım yollarını etkileyerek yaptığını gösterdi.

Anahtar Kelimeler: AgRP, DIBP, DINP, İrisin, Ghrelin, Leptin, Obezite, POMC

ABSTRACT

Investigation of the Effects of Phthalates on Feeding Behavior and Obesity

Aim: Obesogens are known as a subgroup of endocrine disrupting chemicals that are widely used in the world today and cause obesity. Phthalates, known as plasticizers, are among the most commonly used obesogens. This study was planned to investigate the effects of DINP and DIBP chemicals in the phthalates group on obesity and appetite metabolism.

Materials and Methods: Fifty-six male *Sprague Dawley* rats were used in the study. Rats were divided into seven groups (n=8) including control and three different dose groups of DINP and DIBP (0,1, 0,5 and 1 g/kg/day, respectively). Both agents were dissolved in corn oil and rats in the experimental groups were given for eight weeks via oral gavage (control group rats were only taken vehicle). At the end of the experiment, rats were decapitated and brain and blood samples were collected. Serum leptin, ghrelin and irisin levels were determined using by the ELISA. AgRP and POMC protein levels were examined by Western-blot and immunofluorescence analyses.

Results: DINP and DIBP application caused to statistically significant increases food intake, serum ghrelin and irisin, and AgRP protein expressions in the experimental groups compared to the control group ($p<0.05$). On the contrary, both chemicals caused statistically significant decreases in serum leptin and POMC protein levels compared to the control.

Conclusion: Our study results showed that DINP and DIBP, both are environmental pollutants, affect food intake and exert these effects by affecting the central food intake pathways and altering endocrine system.

Keywords: AgRP, DIBP, DINP, Irisin, Ghrelin, Leptin, Obesity, POMC

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AgRP	: Agouti ilişkili peptid
ARC	: Arkuat nükleus
BPA	: Bisfenol A
DBP	: Dibütil ftalat
DDT	: Diklorodifeniltrikloroetan
DEHP	: Di 2-etilheksil ftalat
DES	: Dietilstilbestrol
DIBP	: Diisobütil ftalat
DIDP	: Diisodesil ftalat
DINP	: Diisononil ftalat
DNOP	: Di-n-oktil ftalat
EBK	: Endokrin bozucu kimyasallar
KVH	: Kardiyovasküler hastalıklar
NPY	: Nöropeptid Y
OCP	: Organoklorlu pestisitler
PCB	: Poliklorlu bifeniller
POMC	: Proopiomelanokortin
PVN	: Paraventriküler çekirdek
TCS	: Triklosan
TD2	: Tip2 diyabet
VMH	: Ventromedial nükleus

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sekil No	Sayfa No
Şekil 2.1. Endokrin bozucu kimyasalların etki mekanizmaları.....	4
Şekil 2.2. Diisononil ftalat.	8
Şekil 2.3. Diisobutil ftalat	8
Şekil 2.4. Hipotalamusun organizasyonu	14
Şekil 2.5. Beslenme davranışının hipotalamik kontrolü	15
Şekil 2.6. Beslenmenin düzenlenmesinde geribildirim mekanizmaları	16
Şekil 3.1. Sıçanlara gavaj uygulaması yapılması (başlangıç ve bitiş haftası)	21
Şekil 3.2. Sıçanların kilo tartımlarının yapılması (başlangıç ve bitiş haftası)	22
Şekil 3.3. Serum ELISA standart solüsyonlarının dilüe edilmeleri.	23
Şekil 3.4. Western analizleri için beyin dokusundan alınan AgRP ve POMC nöron gruplarının bulunduğu 3. ventrikül çevresindeki beyin bölgesinin gösterimi.....	25
Şekil 3.5. Western Blot analizine genel bakış.....	26
Şekil 4.1. DINP uygulanmasının sıçanların yem tüketimi üzerine etkileri	28
Şekil 4.2. DIBP uygulanmasının sıçanların yem tüketimi üzerine etkileri	29
Şekil 4.3. DINP uygulanmasının sıçanların vücut ağırlığı değişimleri üzerine etkileri .	30
Şekil 4.4. DIBP uygulanmasının sıçanların vücut ağırlığı değişimleri üzerine etkileri .	31
Şekil 4.5. DINP uygulanmasının AgRP protein miktarları üzerine etkileri.....	34
Şekil 4.6. DIBP uygulanmasının AgRP protein miktarları üzerine etkileri.....	35
Şekil 4.7. DINP uygulanmasının POMC protein miktarları üzerine etkileri	36
Şekil 4.8. DIBP uygulanmasının POMC protein miktarları üzerine etkileri	37
Şekil 4.9. DINP uygulanmasının immunofloresan görüntülenmesi.....	38
Şekil 4.10. DIBP uygulanmasının immunofloresan görüntülenmesi.....	39

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo No	Sayfa No
Tablo 2.1. Hipotalamusa etki ederek besin alımını düzenleyen hormonlar ve nörotransmitterler	17
Tablo 3.1. Kimyasal Uygulama Dozu (40 g sıçan için örnek)	21
Tablo 4.1. DINP uygulanmasının serum leptin, ghrelin, irisin seviyeleri üzerine etkisi	32
Tablo 4.2. DIBP uygulanmasının serum leptin, ghrelin, irisin seviyeleri üzerine etkisi	33



1. GİRİŞ

Endokrin bozucu kimyasallar, hormon etkisinin herhangi bir yönüne etki edebilen kimyasal veya kimyasal karışımları olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasalların yaşamın birçok alanında faydası kanıtlanmış olmasına rağmen çevreyi kirlitebilecekleri ve insan sağlığına zarar verebilecekleri her geçen gün daha da kabul edilmektedir (1). Endokrin bozucu kimyasallar (EBK'lar) pestisitler, fungusitler, metaller, farmasötik ajanlar, endüstriyel kimyasallar, plastikleştiriciler, nonilfenoller ve fitoöstrojenlerden oluşmaktadır (1). Bu kimyasallara maruziyet sindirim yoluyla, havadaki gazların ve parçacıkların solunmasıyla, sudan bulaşmayla ve cilt yoluyla gerçekleşmektedir. Ayrıca EBK'lar plasenta yoluyla fetüse, anne sütü ile bebeğe de geçtiği bilinmektedir (2). Yapılan çalışmalarla EBK'ların üreme sağlığına olumsuz etkilerine, tiroit fonksiyonunda bozulmalar ve tiroit hormon seviyelerindeki değişikliklere, adrenokortikal fonksiyon değişikliklerine, bağışıklık sisteminin bozulmasına, kardiyovasküler hastalıklara, obezite ve diyabet de dahil olmak üzere enerji metabolizması üzerinde olumsuz etkilere sebep olduğu gösterilmiştir (3).

Obezite, vücut yağının aşırı birikmesi veya anormal dağılımı olarak tanımlanmaktadır (4). Obezite prevalansının hem gelişmekte olan hem de gelişmiş ülkelerde artmakta olduğu bildirilmiştir (5). Obezite salgının büyük oranda dengesiz beslenme ve yetersiz egzersizden kaynaklansa da bazı kimyasalların hastalığa sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Endokrin bozucu kimyasalların bir alt sınıfının, özellikle gelişimin erken döneminde maruziyet meydana geldiğinde, hormonal olarak düzenlenen metabolik süreçleri bozabileceği gösterilmiştir. Obezogenler olarak adlandırılan bu kimyasallar, kalori alımını sınırlama ve fiziksel aktivite düzeylerini arttırma çabalarına rağmen bazı kişilerde kilo alımına sebep olmuştur (6).

Endokrin sistemi karbonhidrat, protein ve yağın metabolizmasının düzenlenmesinde ve bu besin öğelerini kullanarak enerji ihtiyacının karşılanmasını sağlamada temel rol oynamaktadır. Hormonlar ise fazla besinin depolanmasından, ihtiyaç anında kullanılmasından ve aynı zamanda kan şekerinin dengede tutulmasından sorumludurlar. Hormonal olarak yönetilen bu süreçte yapılacak herhangi bir değişiklik metabolizmada dengesizliğe yol açabilmektedir (7). Vücuttaki ana enerji deposu, adipoz dokudaki adipositlerde tutulan yağ tarafından sağlanmaktadır. Artık adipoz dokunun da endokrin kontrolü altında olduğu ve kendisinin de hormon salgılayabilen bir endokrin

organ olarak görev yapabildiği bilinmektedir (8). Bu nedenle yağ dokusu fonksiyonlarının hormonal kontrolüne müdahale, anormal yağ birikimine ve dolayısıyla obeziteye sebep olabilmektedir.

Hipotalamus, beslenmenin ve enerji harcamasının merkezi kontrolünde rol oynayan en önemli beyin bölgelerinden biridir. Özellikle hipotalamustaki arkuat çekirdek (ARC) beslenme ve metabolizmanın düzenlenmesinde kritik öneme sahiptir. ARC, koordineli bir geribildirim yanıtı oluşturmak için periferik dolaşımdan gelen hormonal ve besinsel metabolik sinyallerin yanı sıra nöronal sinyalleri de düzenler (9). ARC’de iki farklı, fonksiyonel olarak antogonistik nöron türü vardır; oreksijenik (iştah uyarıcı) nöropeptid Y (NPY) ve agouti ilişkili peptid (AgRP) eksprese eden AgRP/NPY nöronları ile anoreksijenik (iştah baskılayan) proopiomelanokortin eksprese eden POMC nöronları (10, 11). Adipoz doku tarafından üretilen bir hormon olan leptin, gıda alımının ve enerji dengesinin düzenlenmesinde önemli bir rol oynamaktadır. POMC nöronlarını doğrudan uyarır ve ekspresyonunu indükler. Aynı zamanda AgRP ekspresyonu üzerinde inhibitör etkisi vardır. Dolayısıyla leptin hormonunun net etkisi gıda alımını engellemek ve enerji harcamasını arttırmaktır (9, 12).

Esas olarak yağ doku tarafından salgılanan leptin, gıda alımını ve enerji harcanmasını düzenleyerek vücut ağırlığının kontrolüne katılan bir hormondur. Önceki çalışmalarda leptinin ARC’de anoreksijenik etkideki POMC içeren nöronları aktive ettiği, oreksijenik NPY’yi ise devre dışı bırakan etki gösterdiği ifade edilmiştir (13). Bu nedenle enerji depoları düşük olduğunda yani düşük vücut seviyelerinde veya açlıkta leptin seviyeleri azalır. Bu da POMC nöronlarının aktivitesinin azalmasına, NPY ve AGRP nöronlarının aktivitesinin artmasına ve dolayısıyla iştahın ve gıda alımının artmasına sebep olur (14). Ghrelin ise besin yetersizliğinde salınımı artan vücut ağırlığı, gıda alımı ve iştahın düzenlenmesinde görevli bir diğer hormondur (14).

EBK’ların bir türü olan ftalatlar her alanda plastikleştirici olarak kullanılan kimyasallardır. Son yıllardaki yüksek maruziyet oranları sonrası yapılan çalışmalarda obezite ile ilişkilendirilmiştir (14, 15).

Bu bulgular ftalat grubu kimyasallarından diisononil ftalat (DINP) ve diisobutil ftalatın (DIBP) da obeziteye sebep olabileceğini düşündürmektedir.

Bu çalışmada oral DINP ve DIBP uygulanmasının beslenme davranışı üzerine etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

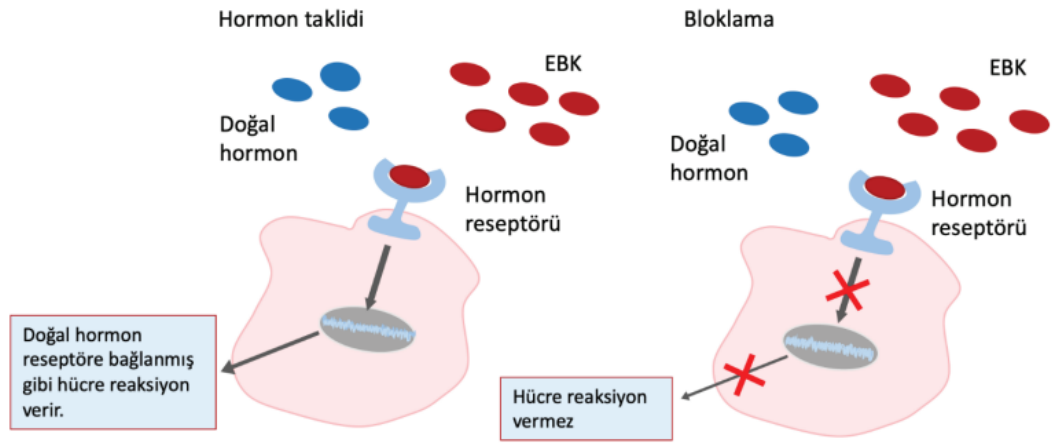
2. GENEL BİLGİLER

1.1. Endokrin Bozucu Kimyasallar

Endokrin Bozucu Kimyasallar (EBK), homeostazın korunmasından sorumlu vücuttaki doğal hormonların sentezine, salgılanmasına, taşınmasına, bağlanmasına ve vücuttan uzaklaştırılmasına müdahale edebilen eksojen madde veya madde karışımları olarak tanımlanmaktadır (16, 17). ‘‘Endokrin bozucu’’ terimi ilk defa Temmuz 2011’de ABD’de düzenlenen Wingspread Konferansı’nda Dr. Theo Colborn tarafından kullanılmıştır (18). EBK’lara maruziyetin etkileri yaşam boyu sürebilmekte ve hatta gelecek nesillere de aktarılabilmektedir (2). Birçok çalışmada EBK’ların insanlarda olumsuz sağlık etkilerine neden olabileceği gösterilmiştir (19). EBK’lar tüketim ürünlerinde, işlenmiş gıdada, kişisel bakım ürünleri, zirai kimyasallar, içme suyunda, gıda ambalajı ve plastik materyaller gibi günlük yaşamda yaygın bir şekilde kullanılmaktadır ve insanlar oral, inhalasyon, transdermal ve parenteral yollarla EBK’lara maruz kalırlar (20).

1.2. Etki Mekanizması

Endokrin sistem vücuttaki fizyolojik fonksiyonları düzenlemek için kimyasal haberciler olarak çalışan hormonları kan dolaşımına salgılayan bir bezler topluluğundan oluşmaktadır (21). Hormonlar genomik ve genomik olmayan olmak üzere iki şekilde çalışmaktadır. Genomik mekanizmada lipofilik hormonlar doğrudan bir reseptöre bağlanmaktadır ve bu da gen ekspresyonunda bir değişikliğe neden olmaktadır (22). Genomik olmayan mekanizmada hidrofilik hormonlar hücre yüzeyinde bir reseptöre bağlandığında, gen ekspresyonu hücre içi sinyal iletim yolları tarafından değiştirilir (21). EBK’lar hormonların etkisini çeşitli şekillerde etkileyebilmektedir. EBK’lar endokrin bezinde hormon sentezini etkileyebilmekte, hormon kanda olduğunda, konjugasyonu ve taşıyıcı proteinlere bağlanmayı değiştirebilmekte, hedef hücre reseptöründe endojen hormonla rekabet edebilmekte ve antagonistik veya agonistik hedef hücre yanıtlarına neden olabilmektedir (Şekil 2.1.) (3).



Şekil 2.1. Endokrin bozucu kimyasalların etki mekanizmaları (23)

2.3. Endokrin Bozucu Kimyasallara Maruziyet

İnsanlar kimyasallara çok çeşitli yollardan maruz kalırlar ve bu genellikle yaşamın içerisinde bilinçsiz bir şekilde gerçekleşir. EBK'lara asıl maruziyet sindirim yoluyla ve belirli seviyelerde de deri ve solunum yoluyla gerçekleşir (24). Yaşamın erken dönemlerinde emzirme yoluyla, daha sonraki yaşlarda ise yiyecek ve içme suyu alımı, iç mekandaki toz ve toprak parçacıklarının yutulması ve havanın solunması yoluyla gerçekleşebilir (25).

2.4. Başlıca EBK Grupları

2.4.1. Bisfenol A (BPA)

BPA, dünya çapına üretilen en yüksek hacimli kimyasallardan biridir (26). BPA, polikarbonat plastiklerin, metal kutuları kaplamak için kullanılan epoksi reçinelerin üretiminde ve oyuncaklar, su boruları, içme kapları, gözlük camları, spor ekipmanları, dış monomerleri ve tıbbi ekipman gibi birçok plastik tüketici ürününde kullanılmaktadır (27). Polikarbonatlar, güçlü dayanıklılıkları nedeniyle endüstriyel kullanım için avantajlı olsalar da, araştırmacılar östrojen benzeri özellikleriyle polikarbonatlardan salındığında BPA'nın insan sağlığı üzerindeki zararlı etkisini uzun zaman önce fark etmiş ve rapor etmişlerdir (28). BPA diğer EBK'lara benzer şekilde östrojenler, androjenler, tiroit hormonları ve peroksizom proliferatörü tarafından aktive edilen reseptörlerle etkileşime

girer ve reseptöre bağı bir sinyal yolu aracılığıyla bir agonist veya antagonist olarak hareket eder; bu BPA'nın kimyasal yapısından kaynaklanmaktadır (29).

2.4.2. Poliklorlu Bifeniller (PCB'ler)

Poliklorlu bifeniller (PCB'ler), 1920'lerin sonlarından ticari üretimleri, başlangıçta 1979'da Amerika Birleşik Devletleri'nde Toksik Maddeler Kontrol Yasası tarafından yasaklanana kadar küresel olarak seri üretilen bir endüstriyel kimyasallar sınıfıdır (30). PCB'ler çevreye salınmasına neden olan birçok alanda kullanılmıştır. Kauçuk ve reçinelerde, karbonsuz kopya kağıtlarında, yapıştırıcılarda, mum genişleticilerde, tozsuzlaştırıcı maddelerde, boyalarda ve mürekkeplerde plastikleştirici olarak kullanımları görülürken ayrıca hidrolik sıvılarda, kapasitörlerde ve transformatörlerde de kullanımları görülmüştür (31). İnsan sağlığı üzerindeki olumsuz etkilerinin kanıtı, endüstriyel ölçekli üretimlerinde çok erken ortaya çıkarılmıştır ve 1960'larda yayınlanan çalışmalarda, PCB kontaminasyonunun hem insan vücudunda hem de çevrede yaygın ve kalıcı olduğunu doğrulanmıştır (32, 33). PCB maruziyeti birçok insan sağlığı çalışmasında cilt koşulları, diyabet, karaciğer toksisitesi, kanser ve nörolojik işlevlerdeki eksikliklerle ilişkilendirilmiştir (34).

2.4.3. Parabenler

Parabenler kimyasal stabilitesi, düşük maliyeti, geniş spektrumlu antimikrobiyal aktivitesi ve alerjik reaksiyonları indüklemeye riskinin düşük olması sebebiyle çeşitli gıdalarda, kozmetik ürünlerinde ve farmasötik ürünlerde koruyucu olarak kullanılan sentetik kimyasallar grubudur (35-37). Parabenler diyetle alındıktan sonra ve deriye uygulandıktan sonra ve ayrıca inhalasyon yoluyla emilmektedir (38). Ayrıca meme tümör dokusu ve plasenta dokusunda da tespit edilmiştir (39). Yakın zamanlı çalışmalarda parabenlerin endokrin sistemi modüle edebileceği veya bozabileceği ve bu nedenle insan sağlığı üzerinde zararlı etkileri olabileceği gösterilmiştir (40).

2.4.4. Diklorodifeniltrikloroetan (DDT)

DDT II. Dünya Savaşı sırasında sıtma ve tifüs yayan sivrisineklere karşı bir insektisit olarak üretilmiştir (41, 42). DDT ilk sentetik böcek ilacı olarak üretilmiştir ve

tüm dünyada yaygın kullanım kazanmıştır. Bununla birlikte yaban hayatı üzerindeki olumsuz etkisi ve besin ağı yoluyla insan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri nedeniyle birçok ülkede kullanımı yasaklanmıştır (43, 44). DDT'ye doğrudan maruz kalma baş ağrısı, mide bulantısı, kusma, kafa karışıklığı ve titreme gibi semptomlara neden olabilmektedir. Ayrıca vücutta DDT birikiminin sinir sistemini etkileyebileceği, tümör üretimini arttırabileceği ve pankreas kanseri ile ilişkilendirilebileceği çalışmalarla gösterilmiştir (45, 46).

2.4.5. Organoklorlu Pestisitler (OCP)

Pestisitler insektisitler, herbisitler ve fungisitler olarak kullanılmaktadır (47). Kimyasal yapılarına göre beş ana pestisit sınıfı bulunmaktadır; organoklorinler, organofosfatlar, karbamatlar, pretroidler ve triazinler (48). OCP'ler kalıcı ve organik çevresel kirleticiler arasında gösterilmektedir (24). Pestisitlere maruziyet önemli bir sorundur olarak gösterilmiştir ve çeşitli epidemiyolojik çalışmaların konusu olmuştur. İnsanların pestisitlere birincil maruziyeti gıda alımı ve bu kimyasalların yutulması yoluyla gerçekleşmektedir. Bununla birlikte, OCP'lerin solunması ve dermal absorpsiyonu önemli maruziyet yolları olabilmektedir (49). OCP'lerin endokrin bozucu etkileri önceki çalışmalarda kapsamlı bir şekilde incelenmiştir (24). Östrojenik, antiöstrojenik, androjenik, anti-androjenik etkiler, obezite ve metabolik bozukluklar, tiroit homeostazı, hormona duyarlı kanserler ve hipotalams-hipofiz ekseninin bir sonucu olarak erkek ve kadın doğurganlığı üzerindeki etkileri bildirilmiştir (50-52).

2.4.6. Triklosan (TCS)

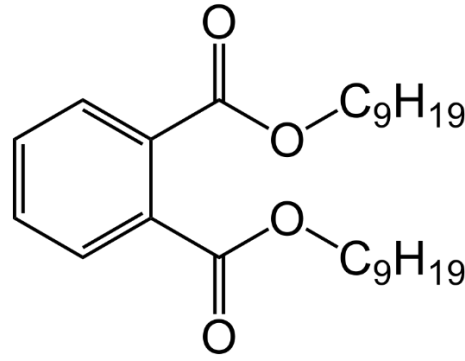
Triklosan, 1972'de hastane ortamlarında orijinal kullanımından bu yana sabunlar, el dezenfektanları, diş macunu ve gargara gibi çeşitli tüketici ürünlerine dahil edilen bir antimikrobiyaldir (53). Genellikle kanalizasyona akıtılmaktadırlar (54). Kanalizasyon arıtmasına rağmen triklosanın küçük bir kısmı hala çevreye deşarj edilmektedir (54). Sudaki türler, yüzey suyu, biyolojik katılar ve toprağın saptanabilir triklosan seviyelerine sahip olduğu bildirilmiştir (55, 56). İnsanlar dermal temas ve yutma yoluyla triklosana maruz kalmaktadırlar (57, 58). Önceki çalışmalar triklosanın idrar, serum, plazma, anne sütü ve hatta tırnak dahil olmak üzere çeşitli insan vücudu sıvılarında ve dokularında tespit edildiğini göstermiştir (59-61). Yapılan çalışmalarda, triklosanın tiroit

homeostazını bozduğu ve maruz kalan hayvanlarda dolaşımdaki hormon düzeylerini azalttığı gösterilmiştir (62, 63).

2.4.7. Ftalatlar

Ftalatlar, alkil yan zincirlerinin uzunluğu ve dallanması bakımından farklılık gösteren, ftalik asidin çeşitli sentetik esterleri grubudur (64). Uzun zincirli ftalatlar genellikle plastikleştirici olarak ve kısa zincirli ftalatlar çözücü olarak kullanılmaktadır (64). Daha kısa zincirli ve daha uçucu olan ftalatlar, losyonlar, parfümler, şampuanlar, saç spreyleri ve makyaj gibi kişisel bakım ürünlerinde çözücü ve taşıyıcı olarak yaygın olarak kullanılmaktadır (65). Ftalatlar ayrıca oyuncaklar, boyalar, yapıştırıcılar, çok sayıda tıbbi cihaz (intravenöz sıvı torbaları ve tüpleri, kan ve plazma torbaları, kateter, eldiven) gibi çok çeşitli endüstriyel ve tüketici ürünlerinde de kullanılmaktadır (66). Plastikleştirici olarak ftalatlar ürünün dayanıklılığını ve esnekliğini arttırmaktadır (67). Yaygın olarak kullanılan ftalatlar arasında di (2-etilheksil) ftalat (DEHP), DINP, dibütilftalat (DBP), dimetilftalat (DMP), dietilftalat (DEP) bulunmaktadır. Ftalatlar plastiklerde yapıya kovalent olarak bağlı değildirler, bu da ürünlerden sızarak gıda, su, toprak ve havayı kirlettikleri anlamına gelmektedir (65). Genellikle ftatlara ve bunların karışımlarına öncelikle kontamine gıdaların alınması, havadaki ftatların solunması ve ftalat içeren ürünlerle doğrudan cilt teması yoluyla maruz kalınmaktadır (65). Ftalatlar hızla metabolize edilir ve idrar ve dışkı ile vücuttan atılır ancak 2005-2006 Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması (NHANES) verilerinde ftalat metabolitleri çocukların %100'ünde ve yetişkinlerin %97'sinden fazlasında tespit edilmiştir (68).

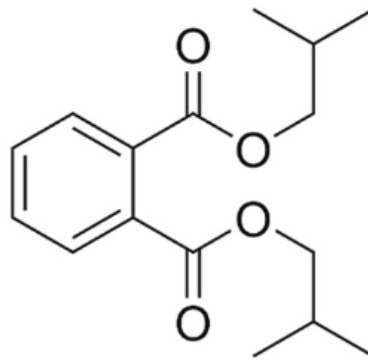
DINP; Yüksek molekül ağırlıklı DINP, polimerlerin ve tüketici ürünlerinin üretiminde yaygın olarak kullanılmakta olan ftalat gruplarından birisidir. Her yerde yaygın kullanımı olan bu kimyasallara maruziyetten kaçınmanın zor olduğu belirtilmiştir. DINP'nin moleküler formülü $C_{26}H_{42}O_4$ ve moleküler ağırlığı 420.6 g/mol 'dür (69). Piyasada kullanılan DINP, C8-C9-C10 alkil yan zincirleri içeren o-ftalik asit diesterlerinin bir karışımıdır. Ağırlıklı olarak C9 ve C10 yan zincirli bileşikler içermesine rağmen ticari formülasyonlarında daha uzun veya daha kısa yan zincirlere sahip bileşikler de önemli miktarlarda tespit edilmiştir. Örneğin, ticari DINP karışımlarının (DINP-1 ve DINP-2) diisodesil ftalat (DIDP) (C10 yan zincir) ve di-n-oktil ftalat (DNOP) (C8 yan zincir) içerdiği bilinmektedir. Bu, DINP'ye maruz kalmanın DINP'ye özgü metabolitlere ek olarak DNOP ve DIDP metabolitleri üretebileceği anlamına gelir (Şekil 2.2.) (70).



Şekil 2.2. Diisononil ftalat (69).

Yine son yıllarda öncelikli kirletici maddeler arasında sınıflandırılan DEHP kullanımının yerini DINP ve DIDP kullanımı almıştır (71). Yetişkin dişi zebra balığı üzerinde yapılan bir çalışmada, yüksek molekül ağırlığına ve uzun yarılanma ömrüne sahip DINP'ye 3 haftalık maruziyetin iştah sinyallerinde artışa, hepatik steatoza ve lipid metabolizmasında düzensizliğe sebep olduğu gösterilmiştir (72). Ancak bu çalışmalarda suda yaşayan organizmalar üzerindeki ekotoksikite üzerindeki etkilere odaklanılmıştır. DINP'nin kara canlıları üzerindeki etkileri araştırılmaya devam etmektedir.

DIBP; DBP yerine de kullanılan DIBP kişisel bakım ürünlerinde, çocuk oyuncaklarında, boyalarda ve ambalaj gibi malzemelerde yaygın olarak kullanılan, insanların sıklıkla maruz kaldığı ftalatlardan birisidir (73). DIBP düşük moleküler ağırlığa (250 g/mol'den az) sahiptir. Plastik polimerlerden kolayca ayrılır ve daha sonra organizmaya karışır (74). Ev ürünlerinde kullanılması sebebiyle oral alım ve dermal maruziyet yoluyla emilir ve hızla birincil metaboliti olan monoizobütil ftalata hidrolize olur (Şekil 2.3.) (75).



Şekil 2.3. Diisobutil ftalat (76).

2.5. İnsan Fizyolojisine Etkileri

2.5.1. Kardiyovasküler Sistem Üzerine Etkileri

Dünya Sağlık Örgütü'ne göre, kardiyovasküler hastalıklar (KVH) dünya çapında önde gelen ölüm nedenidir. Kardiyovasküler hastaların çoğu uzun bir süre boyunca kronik ve asemptomatiktir ve genellikle ilk semptomlar sadece hastalık ilerledikçe ortaya çıkar (77). Şuanda çevresel kirleticilerin insanlar üzerindeki etkisi KVH'lerin bir nedeni olarak öne sürülmüştür (78). BPA ile yapılmış bir çalışmada, BPA'ya maruziyetin kalp kası hücrelerinde ve damar düz kas hücrelerinde elektriksel değişiklikleri indüklediği, L-tipi Ca^{+2} kanalları ve voltaja bağlı K^{+} kanalları etkilediği gösterilmiştir. Böylece BPA'nın Ca^{+2} kanallarını inhibe ettiği ve K^{+} kanallarını aktive ettiği, kardiyomiyositlerde negatif inotropik ajan olarak hareket edebileceği ayrıca hem damar düz kas hücrelerinde hem de kardiyomiyositlerde negatif kronotropik etkiye sahip olabileceği gösterilmiştir (79).

2.5.2. Üreme Sistemi Üzerine Etkileri

Endokrin bozucu etki mekanizmasına sahip bileşiklerin insan üremesini ciddi şekilde etkileyebileceği bilinmektedir ve birçok çalışma EBK'lara maruz kalan insan popülasyonlarında doğurganlık belirteçlerinde, özellikle de sperm sayısında önemli ölçüde azalma olduğunu göstermiştir (80, 81). Birkaç büyük epidemiyolojik ve doğurganlık merkezi çalışması, DEHP'ye veya belirli mono-ester metabolitlerine maruz kalan erkeklerde ağırlıklı olarak azalmış testosteron, östradiol ve artan seks hormonu bağlayıcı globülin olmak üzere değişen üreme hormonlarını bildirmektedir (82-84). Ayrıca EBK'lara maruziyet sonucu kadınlarda östradiol seviyesi, anti-müllerian hormon konsantrasyonu, antral folikül sayısı, oosit kalitesi, implantasyon, embriyo kalitesi, klinik gebelik ve canlı doğum oranında azalmalar çalışmalarla gösterilmiştir (85). İdrarda yüksek mono-ester konsantrasyonları, özellikle DEHP metabolitleri, doğurganlık tedavisi alan kadınlarda antral folikül sayılarında azalma ve oosit veriminde azalma ile ilişkilendirilmiştir (86, 87).

2.5.3. Tiroit Üzerine Etkileri

Tiroit hormonları fiziksel gelişim, somatik büyüme, metabolizma ve enerji sağlanmasının düzenlenmesinde kritik bir rol oynar ve insanlarda normal bir beyin gelişimi için gereklidir (88). Bisfenoller, hipofiz ve tiroit hormon seviyelerinde gen ekspresyonu ve birkaç hücre hattının toksisitesinin indüklenmesi dahil olmak üzere bir dizi mekanizma yoluyla tiroit fonksiyon bozukluğunu etkileyebilir (89). Artan çalışmalar, birkaç EBK'nın (örneğin polibromlu difenil eterler, poliklorlu bifeniller, pestisitler ve ftalatlar) hayvanlarda ve bazı belirsizliklerle insanlarda tiroit bozucu aktiviteler sergilediğini göstermiştir (88, 90). Çevresel kimyasalların tiroit fonksiyonu ile etkileşimi tiroit bezinde toksisite, tiroit uyarıcı hormon sentezi, salgılanması ve metabolizmasının bozulması olmak üzere birçok şekilde ortaya çıkabilmektedir (91). Çin'in Wuhan kentinde yapılan bir çalışmada tiroit kanseri ve iyi huylu tümör oluşumu da dahil olmak üzere ftalatların onkogenezdaki etkileri araştırılmıştır. İdrar monometil ftalat, mono (2-etil 5-hidroksiheksil) ftalat ve mono (2-etilheksil) ftalat gibi bazı ftalatların tiroit kanser ve nodül gelişimi ile ilişkili olduğu gösterilmiştir (92).

2.5.4. Kanser Üzerine Etkileri

EBK'ların farklı kanser türlerindeki etkilerine dair birçok kanıt bulunmaktadır (93). BPA'nın tümör teşvik edici özellikleri sebebiyle meme kanseri ve prostat kanseri için bir insan kanserojeni olduğu ileri sürülmüştür ve polifloroalkil maddeler olarak adlandırılan ana EBK kategorilerinden birinin üyesi olan perflorooktanoik aside maruz kalan bireylerde artan testis ve böbrek kanseri insidansı ile ilişkilendirilmiştir (94, 95). Yakın tarihli bir çalışmada, dietilstilbestrol (DES) ve BPA'ya in-utero maruziyet, artan kollajen birikimi ve hücre dışı matris yoğunluğu sebebiyle meme kanseri duyarlılığında artış ile ilişkilendirilmiştir (96). Bunun da meme sertliğinde artmaya sebep olduğu ve daha yüksek meme kanseri riski ile ilişkili olduğu bulunmuştur (96). Ayrıca diğer endokrin bozucuların yanı sıra DDT ile meme kanseri arasında pozitif bir ilişki olduğu da gösterilmiştir (97, 98). İn-utero DDT maruziyeti varsayılan bir meme kanseri risk faktörü olarak tanımlanmıştır ve meme kanseri riskinin bir ara belirteci olan yüksek mamografik meme yoğunluğu ile pozitif olarak ilişkilendirilmiştir (99-101).

2.5.5. Sinir Sistemi Üzerine Etkileri

EBK'lar nörodejeneratif durumların ve hastalıkların sebeplerinden biri olarak gösterilmektedir (102-104). Deneysel modellerden, klinik gözlemlerden ve epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen veriler, EBK'lara maruz kalmanın yetişkinlerin yanı sıra çocuklar için de önemli bir beyin sağlığı sorunu olduğunu göstermiştir (102). Bazı EBK'lar nörojenezi, sinirsel iletimi ve sinir ağlarının oluşumunu değiştirebilmektedir dolayısıyla EBK'lar otizm, dikkat eksikliği ve hiperaktivite bozukluğunun yanı sıra öğrenme güçlükleri ve saldırganlık dahil olmak üzere nörolojik bozukluklarda artışla ilişkilendirilmiştir (103). Yapılan bir araştırmada erkek sıçanlarda ftalat maruziyetinin dentritik omurga yoğunluğunu, nörojenezi ve sinaptogenezi azalttığı öne sürülmüştür (105). Ayrıca ftallara maruziyet çeşitli bilişsel eksikliklerle ilişkilendirilmiştir. Hayvan çalışmaları belirli öğrenme eksikliklerinin, korku koşullandırmasında azalma, bozulmuş uzamsal bellek ve lokomotor aktivite üzerindeki olumsuz etkileri içerdiğini göstermiştir (106-109).

2.5.6. Diyabet Üzerine Etkileri

Diyabet, insülin sekresyonunda, insülin etkisinde veya her ikisindeki bozukluklardan kaynaklanan hiperglisemi ile karakterize edilen bir metabolik hastalık grubu olarak tanımlanmaktadır (110). En yaygın biçimi vakaların %90-95'ini oluşturan tip 2 diyabettir (TD2) ve pankreas β -hücre kitlesi ve fonksiyonunun bozulması ile birlikte periferik dokuda insülin duyarlılığının azalmasına dayanmaktadır (111, 112). Hayvan çalışmaları, BPA'ya maruziyetin diğer hastalıkların yanında TD2 ve obezite gibi metabolik hastalıklara da sebebiyet verdiğini göstermektedir. Bir araştırmada sıçanlarda BPA maruziyetinin gıda alımının azalmasına, vücut ısısının ve lokomotif aktivitenin düşmesine, glikoz intoleransına, insülin direncine ve pankreatik β -hücre fonksiyonunda değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (113, 114). Yine başka bir çalışmada DDT'ye perinatal maruziyetin, farelerde ileriki yaşamlarında bozulmuş glikoz toleransını indüklediğini ve insülin sekresyonunu azalttığını göstermiştir (115).

2.5.7. Obezite Üzerine Etkileri

Obezite vücut yağının fazla olması olarak tanımlanmaktadır (116). Vücut yağ oranı, ağırlığın(kg) boyun karesine(metrekaare) bölünmesiyle elde edilen BKİ (beden kütle indeksi) kullanılarak belirlenmektedir. Beden kütle indeksi 25-29 kg/m² olan kişiler aşırı kilolu, 30 kg/m²'den yüksek olanlar ise obez olarak sınıflandırılmaktadır (116). Son yıllarda yapılan çalışmalarda obezite prevalansının artmakta olduğu ve epidemik seviyelere ulaştığı gösterilmiştir (117). Küresel seviyedeki obezite, genellikle diyet ve yaşam tarzındaki belirgin değişikliklerle, yani yüksek enerjili beslenmede artışlar ve buna eşlik eden fiziksel aktivite seviyelerinde azalma ile ilişkilendirilmiştir (118). Ancak obeziteye yatkınlığın sadece bu sebeplerden kaynaklanmadığı; stres, uykusuzluk, adenovirüsler, çocukluk çağı antibiyotikleri ve çevresel kimyasallara maruz kalma gibi çevresel faktörlerin de etkili olduğu düşünülmüştür (119, 120).

Sıçanlarda yapılmış bir çalışmada, yüksek doz BPA maruziyetinin hayvanlarda ağırlık azalmasına neden olduğu fakat düşük doz BPA maruziyetinin F1 kuşağı yavru sıçanlarda daha yüksek doğum ağırlığına sebebiyet verdiği gösterilmiştir. Böylelikle BPA'nın şüpheli bir obezojen olduğu ve doğrudan maruziyetinin obeziteyi arttırdığı gösterilmiştir (121).

2.6. Obezojen Hipotezi

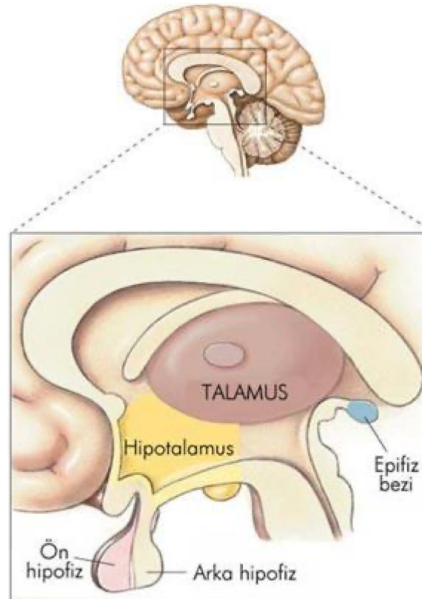
Obezitenin ortaya çıkmasında rolü olan farklı faktörler arasında “Obezojen hipotezi” de belirli bir yer tutmaktadır. Bu hipotez, endokrin bozucuların obezitenin gelişimine katkısını varsaymaktadır (122). Obezojenler, işlevsel olarak insanlarda veya hayvanlarda obeziteyi teşvik eden kimyasallar olarak tanımlanmaktadır. Bu kimyasalların çoğu, farklı plastik ve plastikleştiriciler, mobilya ve elektronik cihazlara uygulanan kimyasallar, kozmetikler, biberonlar, atık şişeler de dahil olmak üzere insanların günlük yaşamda maruz kaldığı farklı ürünlerde bulunmaktadır (6).

2006 yılında Felix Grün ve Bruce Blumberg, adipogenez ve enerji homeostazının normal gelişimini ve homeostatik kontrolünü bozabilecek ksenobiyotik kimyasallar olarak dış ortamdaki gelen bozucuların olası bir etkisini öne sürmüşlerdir ve bunu belirtmek için “obezojenler” terimini kullanmışlardır. 2009 yılında yayınladıkları bir makalede, obezojenlerin homeostazda bozulmaya neden olduğunu ve normal gıda alımı ve fiziksel aktiviteye rağmen vücut ağırlığı artışına maruz kalan deneklerde indükleyerek

vücut ağırlığının kontrolüne katılan bir mekanizma olduğunu öne sürmüşlerdir (123, 124). Obezogenlerin ksenohormon olarak davranış göstermelerine sebep olan üç temel özellikten bahsedilmektedir: bölümlenebilirlik sabiti, yarılanma ömrü ve moleküler ağırlık. Bölünme sabiti obezogen lipofilitesini ifade etmektedir; ne kadar yüksekse lipofilitesinden kaynaklanan yağ dokusu birikimi o kadar fazladır. Yarılanma ömrü, bir obezogenin vücutta yıkımı ve atımı için gereken süreyi ifade etmektedir. Moleküler ağırlık ise obezogenin boyutunu gösterir. Obezogenin düşük moleküler ağırlığı, adipositlere kolayca girebileceği anlamına gelmektedir (125). Sonuç olarak obezogen hipotezi, obezogen olarak nitelendirilen moleküllerin, yağ hücrelerinin gelişimini ve lipid birikimini yetersiz bir şekilde uyardığını, metabolik dengeyi veya iştah ve toklukta hormonal kontrolü değiştirdiğini ve vücut yağ kütlesinde bir artışa sebebiyet verdiğini ileri sürmektedir (125).

2.7. Hipotalamus ve Beslenmenin Hipotalamik Kontrolü

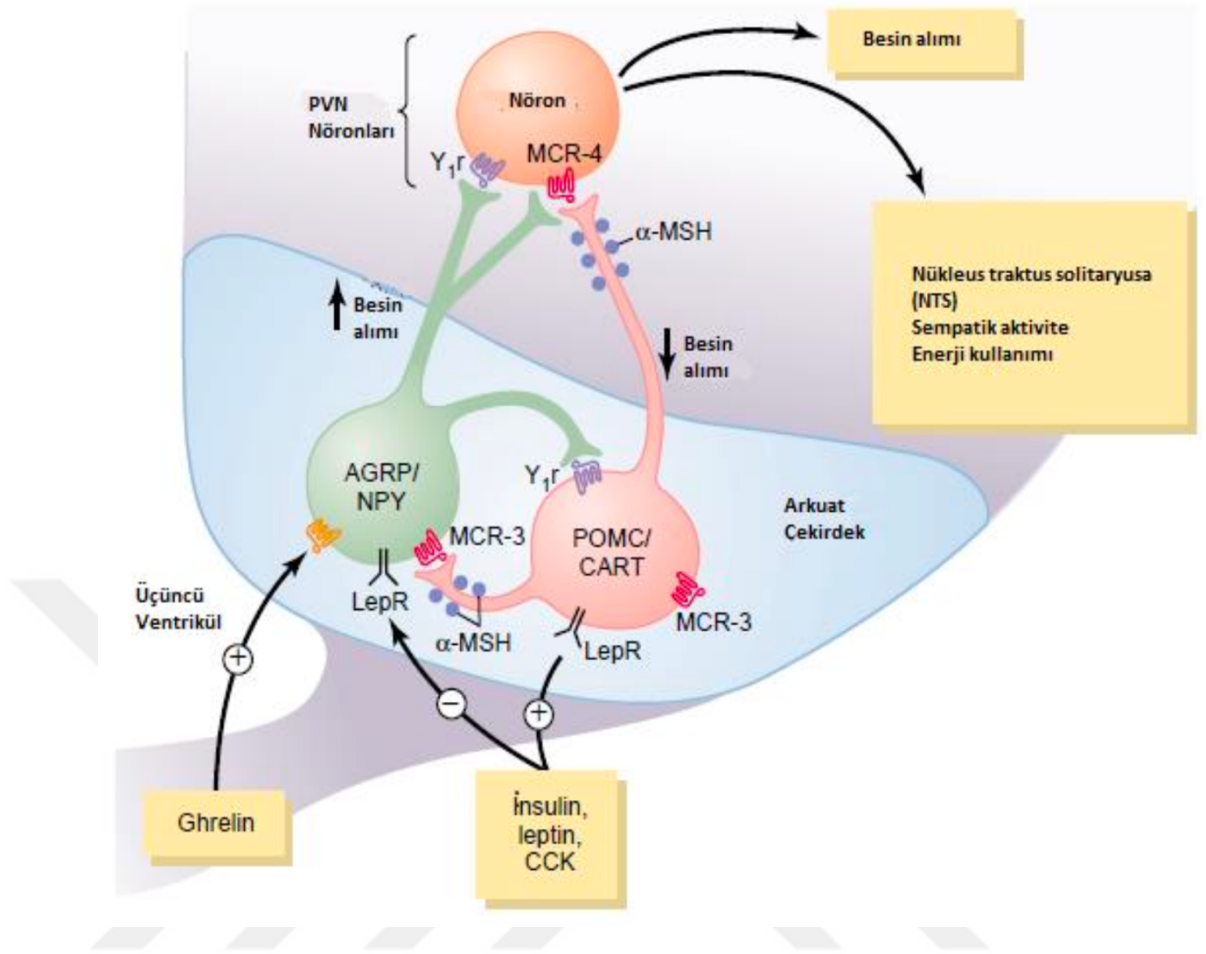
Hipotalamus, yaklaşık 4 gr ağırlığında olup, beyinde 3. ventrikülün tabanında bulunan tüm vücudun birçok fizyolojik aktivitesinin (gıda alımı, enerji harcanması, vücut ağırlığı, sıvı alımı ve düzenlenmesi, kan basıncı, susama, vücut sıcaklığı ve uykunun düzenlenmesi, üreme) düzenlenmesinde ‘merkez’ olarak işlev gören bir beyin yapısıdır (126). Vücudun içinden ve dışından gelen bilgiler hipotalamusa sinirsel yolla veya kan dolaşımı yoluyla bildirilir. Aldığı bilgileri değerlendirerek elde ettiği sonuçları sinirsel ve humoral yolla gerekli yerlere ulaştırır. Hipotalamustan başlıca gonadotropin serbestleştirici hormon, büyüme hormonu serbestleştirici hormon, tirotropin serbestleştirici hormon, kortikotropin serbestleştirici hormon, prolaktin baskılayıcı hormon salgılanmaktadır (Şekil 2.4.) (127).



Şekil 2.4. Hipotalamusun organizasyonu (128).

Hipotalamus, beslenme ve enerji harcamasının merkezi kontrolünde yer alan en önemli beyin bölgelerinden biridir. Hipotalamusun dorsal (paraventriküler çekirdek (PVN)) ve lateral alanları açlık merkezi, daha ventral alanları (ARC ve ventromedial nükleus (VMH)) tokluk merkezi olarak görev yapar (129). Özellikle hipotalamus içindeki ARC beslenme ve metabolizmanın düzenlenmesi için kritik öneme sahiptir (130). PVN ve VMH'nin haraplanması aşırı yeme (hiperfaji) ve obeziteye yol açarken dorsomedial çekirdeğin haraplanması ise tokluk duygusu oluşturarak gıda alımının reddedilmesine (afaji) sebep olur (9).

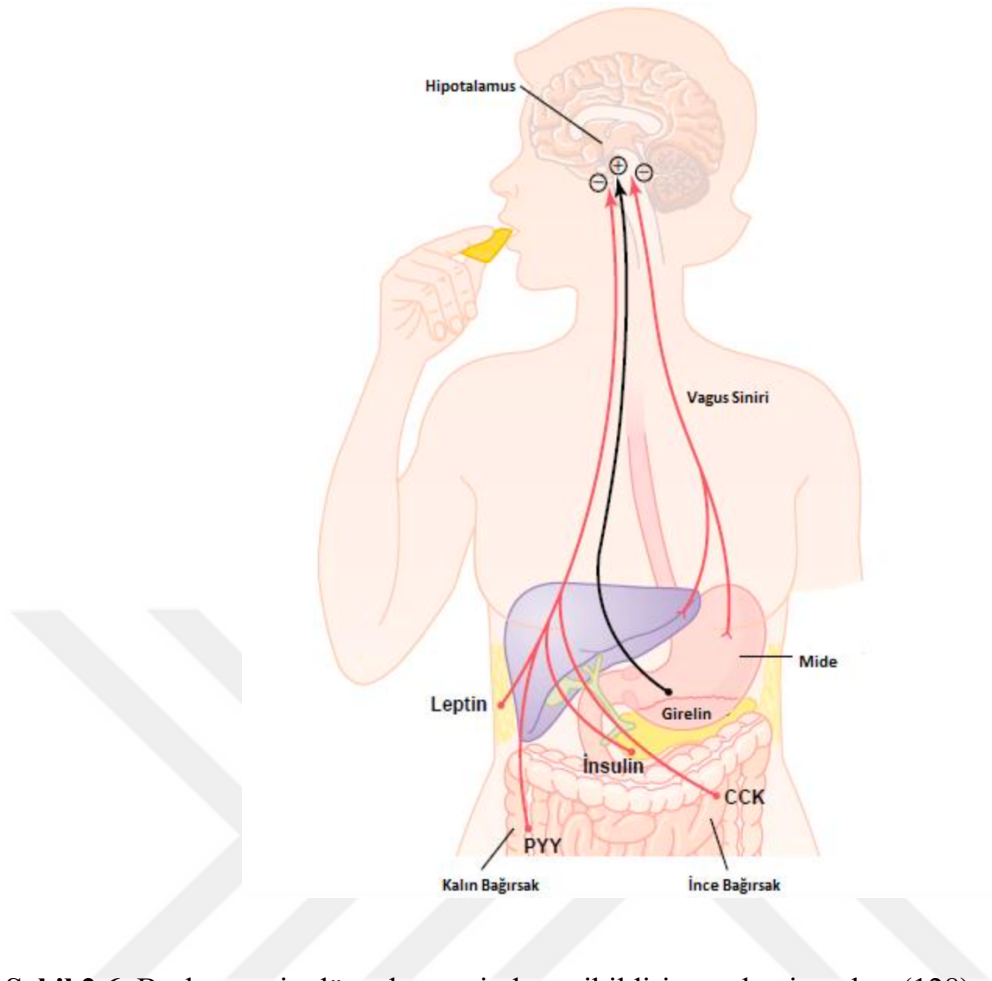
ARC'de işlevsel olarak antagonistik iki farklı nöron tipi vardır: Oreksijenik (iştah uyandıran) NPY ve agouti ile ilişkili peptit (AgRP) eksprese eden AgRP/NPY nöronları ve anoreksijenik (iştah bastırıcı) pro-opiomelanokortin eksprese eden POMC nöronları (10). Bu nöronlar leptin, insülin, ghrelin gibi periferik metabolik hormonların öncelikle etki ettiği birinci dereceden nöronlardır. Açlık koşullarında AgRP eksprese eden nöronlar beslenmeyi tetiklemek, enerji harcamasını engellemek ve glikoz metabolizmasını düzenlemek için aktive edilir. Tokluk durumu ve yağ dokusu deposundaki artışla orantılı olarak dolaşımdaki insülin ve leptin seviyeleri AgRP nöronlarını inhibe eder. Bu da besin alımının azalmasına ve enerji alımının artmasına sebep olur (Şekil 2.5.) (131).



Şekil 2.5. Beslenme davranışının hipotalamik kontrolü (128).

POMC nöronları, PVN, lateral çekirdek ve VMH gibi hipotalamik alanlarda ikinci dereceden nöronlara, beyin sapı ve omurilikteki otonomik pregangliyonik nöronlara aksonal süreçleri yansıtır (132). AgRP nöronlarına zıt etkide çalışan bu nöronlar gıda alımını azaltır ve enerji harcamasını artırır (133). Yüksek etkileşimli çalışan bu nöronlar birlikte çalışarak yeme davranışını düzenlerler.

Hipotalamus ayrıca gastrointestinal kanaldan gelen duysal bilgileri (mide doluluğu gibi), kanda tokluk hissi veren besin maddeleri ile ilgili (glikoz, aminoasit, yağ asitleri gibi) kimyasal sinyalleri, gastrointestinal sistemden gelen hormonal sinyalleri ve beslenme davranışını etkileyen serebral korteks kaynaklı sinyalleri de (tat, koku, görme) alır (Şekil 2.6.).



Şekil 2.6. Beslenmenin düzenlenmesinde geribildirim mekanizmaları (128).

Hipotalamusta beslenme ve tokluk merkezlerini etkileyen iştah açıcı (oreksijenik) ve iştah baskılayan (anoreksijenik) özellikle birçok transmitter ve hormon bulunmaktadır (Tablo 2.1.).

Tablo 2.1. Hipotalamusa etki ederek besin alımını düzenleyen hormonlar ve nörotransmitterler (128)

Beslenmeyi Azaltanlar	Beslenmeyi Arttıranlar
Leptin	Nöropeptid Y
İnsülin	Aguti-ilişkili protein
Serotonin	Melanin yoğunlaştırıcı hormon
Norepinefrin	Oreksin A ve B
Kortikotropin serbestleyici hormon	Endorfinler
Kolesistokinin	Galanin
α -MSH	Glutamat ve GABA
Glukagon benzeri peptid	Kortizol
Kokain ve amfetamin ilişkili transkript	Ghrelin
Peptid YY	

2.8. Leptin ve Beslenme

1994 yılında keşfedilen leptin, ağırlıklı olarak yağ dokusu tarafından üretilen, 16 kDa büyüklüğünde molekül ağırlığında, beslenme ve enerji homeostazında önemli role sahip bir sitokindir. Sistemik dolaşımdaki leptin seviyesindeki değişiklikler glikoz ve lipid seviyesini modüle eder (134). Leptin hormonu NPY salgılanmasının inhibisyonuna sebep olan çeşitli nöronal yanıtları teşvik ederek ve POMC sentezinin uyarılmasını sağlayarak enerji dengesini modüle eder. Sonuç olarak leptin, büyük oranda beyaz yağ dokudan salgılanan, gıda alımını azaltan ve enerji harcanmasını arttıran bir hormondur (135).

2.9. Ghrelin ve Beslenme

Ghrelin, 1999 yılında büyüme hormonu salgılatıcı reseptörün endojen ligandı olarak tanımlanmış 28 aminoasitten oluşan bir peptittir. İlk olarak büyüme hormonu salgılatıcı olarak tanımlanmasına rağmen temel işlevi akut metabolik ihtiyaç zamanlarında iştahı uyarmaktır. Gıda alımı, adipozite, metabolizma düzenlenmesi ile ilişkilidir. Bu nedenle vücut kitle indeksi ile ters orantılıdır. Anoreksiya nervroza gibi yetersiz beslenen durumlarda yukarı regüle edilir, obezite gibi pozitif enerji dengesi durumlarında aşağı regüle edilir (134). Besin mevcudiyeti düşük olduğunda, ghrelin

seviyeleri artar ve öğün tüketiminden sonra mideden hormon salgılanması ile dolaşımdaki seviyesi artar.

2.10. İrisin ve Beslenme

İrisin iskelet kası tarafından salgılanan, egzersizle indüklenen, 2012 yılında keşfedilmiş bir sitokindir. Spesifik proteazlar tarafından 196 amino asit içeren transmembran proteini fibronektin tip III domain içeren protein 5 (FNDC5)'in parçalanmasıyla oluşur (136, 137). FNDC5 ise beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesi yoluyla egzersizin bazı faydalarına aracılık eden bir miyokindir. FNDC5'ten parçalanarak oluşan irisin beyaz yağ dokusunun kahverengileşmesini teşvik eder ve hem insanlarda hem de farelerde metabolik hastalıkları iyileştirir (138, 139). Son on yılda yapılan çalışmalarla, esas olarak iskelet kaslarından salgılanan irisin egzersizin moleküler bir taklidi olduğu ve adipositlerin esmerleşmesi, metabolik süreçlerin modülasyonu, kemik metabolizmasının düzenlenmesi gibi çeşitli faydaları olduğu gösterilmiştir (140). Serum irisin seviyeleri tip 2 diyabet, obezite ve metabolik sendrom gibi hastalıklarla ilişkilendirilmiş ve yapılan bir çalışmada ekzojen irisin uygulanmasının yüksek yağlı farelerde enerji harcanmasına ve kilo kaybına neden olduğu ayrıca insülin direncine sebebiyet verdiği gösterilmiştir (141). Yine başka çalışmalarda FNDC5'in aşırı ekspresyonunun hiperlipidemiye iyileştirdiği, obez farelerin yağ dokularında lipolizi artırdığı ve irisinin hepatik glukoneogenezi inhibe ettiğini, tip2 diyabetik farelerde glikojen sentezini artırdığı gösterilmiştir (142, 143).

3. MATERYAL METOT

3.1. Araştırmanın Yapıldığı Merkez

Çalışma, İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Yerel Etik Kurulu'ndan alınan onay ile (06.01.2022 tarih, 2022/1-3 sayılı karar), İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi ve Tıp Fakültesi Fizyoloji Anabilim Dalı laboratuvarlarında gerçekleştirildi.

3.2. Deney Hayvanlarının Temini

Deneyde kullanılacak hayvanların sayısı literatürde belirtilen değerlere göre grup sayısı ve her gruptaki en az denek sayısı istatistiksel güç analizi ile belirlendi. Buna göre çalışmaya başlama ağırlık ortalaması yaklaşık 35 ± 4 g, tip 1 hata (α) 0.05 ve testin gücü ($1-\beta$) 0.80 ve etki büyüklüğü 0.85 iken hayvanların 7 gruba ayrılması durumunda her gruba en az 8 hayvanın olması gerektiği güç analizi (Power Analiz) ile belirlendi. Araştırma kapsamında ihtiyaç duyulan 56 adet *Sprague Dawley* ırkı erkek sıçanın temini İnönü Üniversitesi Tıp Fakültesi Deney Hayvanları Üretim ve Araştırma Merkezi (ÜNİTF-DEHÜM)'den sağlandı.

3.3. Deney Gruplarının Oluşturulması

Deneyde ağırlıkları 31-43 gr arasında olan 56 adet erkek *Sprague Dawley* ırkı sıçan kullanıldı. Gruplardaki hayvanlar tekli kafeslere yerleştirildi. Tek barındırma ortamı hayvanlarda stres oluşturabileceğinden 7 gün boyunca sıçanlar sadece izlendi ve tekli yaşam koşullarına adapte olmaları sağlandı. Bu sürenin sonunda sıçanlar 7 gruba ayrıldı ($n=8$). Deney süresince tüm gruplar, $20-22^{\circ}\text{C}$ sıcaklık ve 12 saat ışık/karanlık koşullarının sağlandığı ortamda tüm gruplar standart sıçan yemi ile beslendi. Gruplar aşağıda belirtildiği gibi oluşturuldu.

1. Grup (Kontrol): Bu gruptaki sıçanlara deney süresince herhangi bir uygulama yapılmadı. 8 hafta boyunca çözücü olarak kullanılan mısır yağı oral gavaj yoluyla uygulandı. 8 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve hipotalamus doku örnekleri toplandı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri

belirlendi. Hipotalamus doku örneklerinde ise Western Blot yöntemi ile POMC ve AgRP protein düzeyleri belirlendi.

2. Grup (DINP 0.1) : Bu gruptaki sıçanlara 8 hafta boyunca her gün aynı saatte 0.1 gr/kg/gün DINP mısır yağı içerisinde oral gavaj ile verildi. 8 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve hipotalamus doku örnekleri toplandı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri belirlendi. Hipotalamus doku örneklerinde ise Western Blot yöntemi ile POMC ve AgRP protein düzeyleri belirlendi.

3. Grup (DINP 0.5) : Bu gruptaki sıçanlara 8 hafta boyunca her gün aynı saatte 0.5 gr/kg/gün DINP mısır yağı içerisinde oral gavaj ile verildi. 8 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve hipotalamus doku örnekleri toplandı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri belirlendi. Hipotalamus doku örneklerinde ise Western Blot yöntemi ile POMC ve AgRP protein düzeyleri belirlendi.

4. Grup (DINP 1) : Bu gruptaki sıçanlara 8 hafta boyunca her gün aynı saatte 1 gr/kg/gün DINP mısır yağı içerisinde oral gavaj ile verildi. 8 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve hipotalamus doku örnekleri toplandı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri belirlendi. Hipotalamus doku örneklerinde ise Western Blot yöntemi ile POMC ve AgRP protein düzeyleri belirlendi.

5. Grup (DIBP 0.1) : Bu gruptaki sıçanlara 8 hafta boyunca her gün aynı saatte 0.1 gr/kg/gün DIBP mısır yağı içerisinde oral gavaj ile verildi. 8 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve hipotalamus doku örnekleri toplandı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri belirlendi. Hipotalamus doku örneklerinde ise Western Blot yöntemi ile POMC ve AgRP protein düzeyleri belirlendi.

6. Grup (DIBP 0.5) : Bu gruptaki sıçanlara 8 hafta boyunca her gün aynı saatte 0.5 gr/kg/gün DIBP mısır yağı içerisinde oral gavaj ile verildi. 8 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve hipotalamus doku örnekleri toplandı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri belirlendi. Hipotalamus doku örneklerinde ise Western Blot yöntemi ile POMC ve AgRP protein düzeyleri belirlendi.

7. Grup (DIBP 1) : Bu gruptaki sıçanlara 8 hafta boyunca her gün aynı saatte 1 gr/kg/gün DIBP mısır yağı içerisinde oral gavaj ile verildi. 8 hafta sonunda sıçanlar dekapite edilerek kan ve hipotalamus doku örnekleri toplandı. Alınan kan örneklerinde ELISA yöntemiyle leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri belirlendi. Hipotalamus doku örneklerinde ise Western Blot yöntemi ile POMC ve AgRP protein düzeyleri belirlendi.

3.4. Deney Hazırlıkları ve Kimyasalların Hazırlanması

Sıvı formda olan DINP ve DIBP kimyasalları belirlenmiş olan dozlarda mısır yağı ile karıştırılarak her bir grup için falkonlara hazırlandı. Homojen bir karışım elde etmek için her karışım sonrası falkonlar vortekslendi. Çalışmanın başında 4 haftalık olan sıçanlar için (ortalama 31-43 gr) fare kanülü kullanıldı. Sonrasında sıçan kanülüne geçildi. Her uygulama sonrası kanül temizlendi. Uygulamalar Şekil 3.1.'de gösterildiği gibi yapıldı (Tablo 3.1.).

Tablo 3.1. Kimyasal Uygulama Dozu (40 g sıçan için örnek)

	DINP			DIBP		
	Kimyasal	Mısır Yağı	Uygulama Dozu	Kimyasal	Mısır Yağı	Uygulama Dozu
0,1 g/kg Doz	4 µl	196 µl	200 µl	4 µl	196 µl	200 µl
0,5 g/kg Doz	20 µl	180 µl	200 µl	20 µl	180 µl	200 µl
1 g/kg Doz	40 µl	160 µl	200 µl	40 µl	160 µl	200 µl



Şekil 3.1. Sıçanlara gavaj uygulaması yapılması (başlangıç ve bitiş haftası)



Şekil 3.2. Sıçanların kilo tartımlarının yapılması (başlangıç ve bitiş haftası)

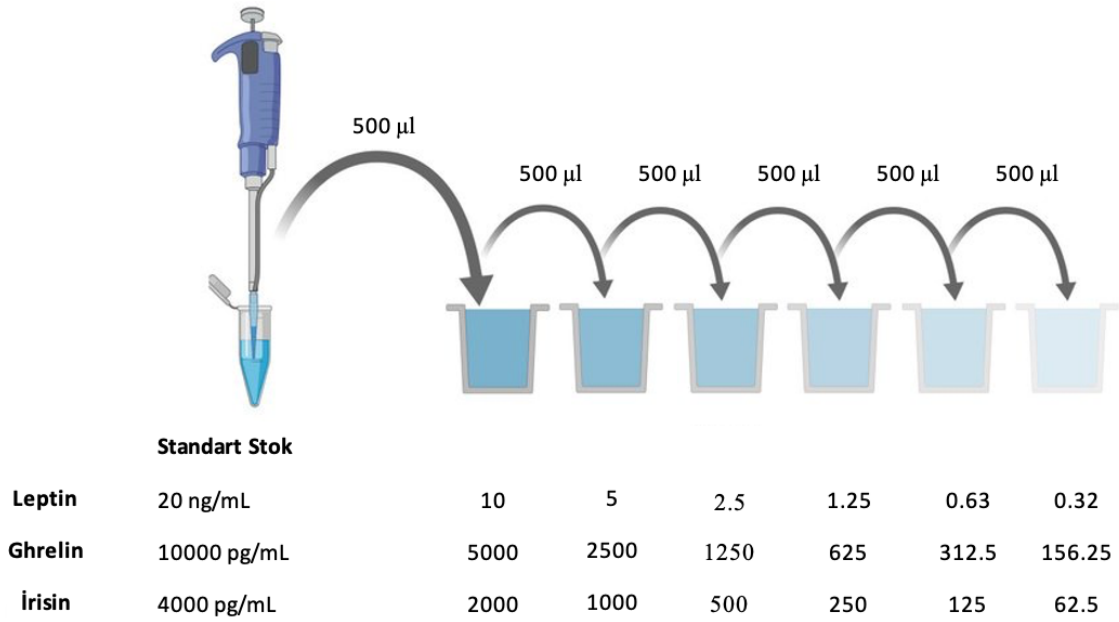
3.5. Deneyin Sonlandırılması ve Dokuların Toplanması

Uygulama süresi bitiminde hayvanlar giyotin kullanılarak dekapite edildi. Kan ve beyin (hipotalamus) dokuları alındı. Kan örnekleri 3500 rpm’de 10 dk santrifüj (Hettich, Almanya) edilerek serumları ayrıldı. Serumlar hormon ve biyokimyasal analizler yapılncaya kadar derin dondurucuda (-80°C) saklandı. Hipotalamus dokuları da Western Blot analizleri yapılncaya kadar -80°C’de muhafaza edildi.

3.6. Analizler

3.6.1. Serum Leptin, Ghrelin ve İrisin Seviyelerinin ELISA Yöntemi ile Belirlenmesi

Serum leptin seviyesini belirlemek için sıçan leptin ELISA kiti (ELK Biotechnology, ELK1244), ghrelin için sıçan ghrelin ELISA kiti (ELK Biotechnology, ELK1944) ve irisin için sıçan irisin ELISA kiti (ELK Biotechnology, ELK9072) kullanıldı. Analiz süresince ELISA kiti içerisinde yer alan deney protokolüne uygun çalışıldı. Deneye başlamadan önce kit içerisinde yer alan numune konsantrasyonları standart dilüsyon buffer solüsyonu kullanılarak seyreltildi (Şekil 3.3.).



Şekil 3.3. Serum ELISA standart solüsyonlarının dilüe edilmeleri.

Analiz aşaması için tüm bileşenler ve örnekler oda sıcaklığında bekletildi. Pipetleme yapılmadan önce tüm örnekler vortekslendi.

Leptin ve İrisin için aşağıdaki basamaklar takip edildi.

- Standart, kör ve numune için kuyucuklar belirlendi. Uygun kuyucuklara 100 µl standart veya 100 µl numune eklendi.
- Plak kapağı kapatılarak 37°C’de 80 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası her bir kuyucuk 200 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı, bu işlem 3 defa tekrar edildi. Her yıkama sonrası kuyucuklardaki solüsyon boşaltıldı ve ters çevrilen plak emici kağıt üzerinde kurutuldu.
- Her kuyucuğa 100 µl biyotinlenmiş antikor çalışma solüsyonu eklendi, plak kapağı kapatıldı ve 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
- İnkübasyon sonrası plağa önceki basamakta olduğu gibi 3 yıkama işlemi yapıldı.
- Her kuyucuğa 100 µl Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklendi, plak kapağı kapatıldı ve 37°C’de 50 dakika inkübe edildi.
- 3. adımda olduğu gibi 5 defa yıkama işlemi yapıldı.
- Yıkama işlemi sonrası her kuyucuğa 90 µl TMB substrat solüsyonu eklendi. Yeni bir kapak ile kapatıldı ve karanlık ortamda 37°C’de 20 dakika inkübe edildi.

- İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve plak hafifçe çalkalandı.

- Hazır hale gelen plak 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okundu.
- Sonuçlar leptin için ng/ml, irisin için pg/ml olarak ifade edildi.

Ghrelin için aşağıdaki basamaklar takip edildi.

- Standart ve kör kuyucuklar belirlendi. Her kuyucuğa 50 µl standart, numune ve biyotinlenmiş konjugat eklendi. Plak kapağı kapatıldı ve 37°C’de 1 saat inkübe edildi.

- İnkübasyon sonrası her bir kuyucuk 200 µl yıkama solüsyonu ile yıkandı, bu işlem 3 defa tekrar edildi. Her yıkama sonrası kuyucuklardaki solüsyon boşaltıldı ve ters çevrilen plak emici kağıt üzerinde kurutuldu.

- Her kuyucuğa 100 µl Streptavidin-HRP çalışma solüsyonu eklendi, plak kapağı kapatıldı ve 37°C’de 1 saat inkübe edildi.

- 2. adımdaki yıkama işlemi 5 defa tekrar edildi.

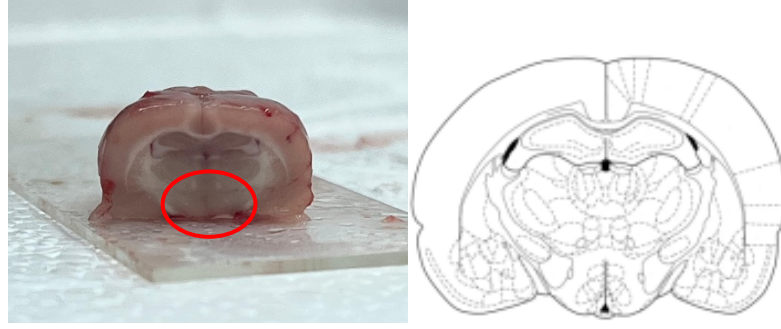
- Her kuyucuğa 90 µl substrat solüsyon eklendi. Karanlık ortamda 37°C’de 20 dakika inkübe edildi.

- İnkübasyon sonrası her kuyucuğa 50 µl durdurma solüsyonu eklendi ve plak hafifçe çalkalandı.

- Hazır hale gelen plak 450 nm dalga boyunda ELISA cihazında okundu.
- Sonuçlar pg/ml olarak ifade edildi.

3.6.2. Western Blot Analizlerinin Yapılması

Sıçanlar dekapite edildi, beyinleri çıkarılıp hemen kuru buz üzerinde donduruldu. Sonrasında çalışma için -80°C’de saklandı. Hipotalamik III. ventrikül çevresinden (Paxinos & Watson’ın stereotaksik koordinatları atlasına göre Bregma’dan 2,3-4,5 mm) panç iğnesi kullanılarak beyinden bilateral olarak alınan yaklaşık 100 mg beyin parçacıkları POMC ve AgRP western analizlerinde kullanıldı.



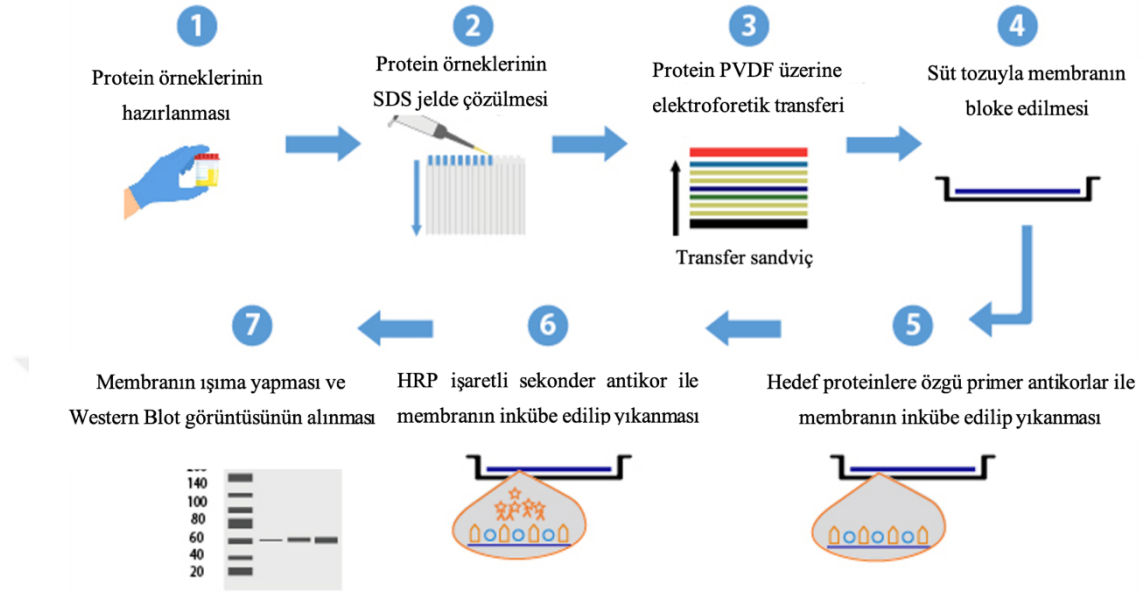
Şekil 3.4. Western analizleri için beyin dokusundan alınan AgRP ve POMC nöron gruplarının bulunduğu 3. ventrikül çevresindeki beyin bölgesinin gösterimi

Alınan doku örnekleri 100 mg için 1 ml olacak şekilde RIPA (Abcam ab270054) tamponu içerisinde proteaz inhibitör 1:20 oranda (Abcam ab201111) eklenerek hazırlanan çözelti içerisinde homojenize edildi. Homojenizasyon işlemi için 8000 rpm’de 5 dk homojenizatör (Next Advance BBY24M, Inc. Innovative Lab Products for the Life Sciences, USA) kullanıldı. Homojenatlardaki protein bozulmasını engellenmek için her 30 sn’de bir karda soğutma işlemi yapıldı. Elde edilen homojenatlar 10.000 rpm’de, 15 dk, +4°C’de santrifüj edilerek süpernatantlara ayrıldı.

Doku süpernatantların toplam protein konsantrasyonu bikinkoninik asit (BCA) protein miktarı ölçüm yöntemi ile belirlendi. Alınan ticari kit (Thermo Scientific Pierce BCA Protein Assay Kit) protokolüne göre çalışıldı ve numune konsantrasyonları belirlendi.

Jel elektroforezi aşaması için %10’luk SDS jel kullanıldı ve 10 kuyucuklu jel hazır hale getirildi. Her kuyucuğa eşit miktarda protein örneği yüklendi. Jeller 100 Volt’ta yaklaşık 120 dk çalıştırıldı, markerin açılması takip edilerek blotlama işlemi yapıldı. Direncin artmasını engellemek için buz kalıpları ile soğutma işlemi yapıldı. Elektroforez sonrası trans-blot turbo transfer sistemi kullanılarak moleküler ağırlıklarına göre ayrılmış olan proteinler jelden PVDF (1620177, Biorad Life Sciences Research, USA) membrana aktarıldı. Membran oda sıcaklığında en az 2 saat olacak şekilde %5’lik süt tozu ile bloklandı. Membranlar 1 gece boyunca +4°C’de POMC (SRB Laboratoties Cat No:201r-5370) ve AgRP (Santa Cruz Biotechnology Cat No: sc-518077) primer antikoları ile inkübe edildi. Membranlara 3x15 dk şeklinde TBS-T ile yıkama işlemi yapıldı. Yıkama sonrası primer antikora uyumlu HRP konjuge edilmiş sekonder antikor ile 1 saat oda ısısında inkübe edildi. İnkübasyon sonrası sekonder antikor 3x15 TBS-T ile yıkandı ve 5

dk ECL Western görüntüleme solüsyonu (32106, Thermo Scientific Pierce ECL Western Blotting Substrate, USA) ile inkübe edildi. Membranlar Syngene GBox Chemi-XRQ Gel Documentation System) görüntüleme sistemi kullanılarak görüntülendi (Şekil 3.4.) (Şekil 3.5).



Şekil 3.5. Western Blot analizine genel bakış

3.6.3. İmmunofloresan Analizlerinin Yapılması

Beyin dokusunda POMC ve AGRP protein düzeylerinin histolojik değerlendirmesi immunofloresan analiz yöntemi kullanılarak yapıldı. Çıkarılan beyin dokusu -18 °C’de dondurularak cryostat microtome ile 8 µm kalınlığında kesitler alındı. Kesitler oda sıcaklığında, 15 dakika -20 °C’den alınan soğuk asetonda bekletildi. Ardından lamalar 3 x PBS ile yıkandı ve özgül olmayan antikor bağlanmalarını bloke etmek için hücrelere bloklama solüsyonu (%1 BSA, %0,1 Triton X-100, %0,1 sodyum azid, %1 keçi serumu) eklenerek 1 saat oda sıcaklığında bekletildi. Bloklamanın ardından sulandırılan primer antikorlar (abcam RabMab antibodies, USA) eklendi. Antikorları eklenmiş lamalar +4 °C’de gece boyunca inkübasyona bırakıldı. İnkübasyonun ardından 3 x PBS ile yıkandı ve primer antikor ile uyumlu sekonder antikor (abcam RabMab antibodies, USA) eklenerek 1 saat oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübasyona bırakıldı. Sekonder antikor inkübasyonunun ardından 3 x PBS ile yıkandı. Çekirdek

boyaması için yapıştırıcı özellikli DAPI solüsyonu eklendi ve kesitler lamel ile kaplanarak ışık almayacak şekilde muhafaza edildi.

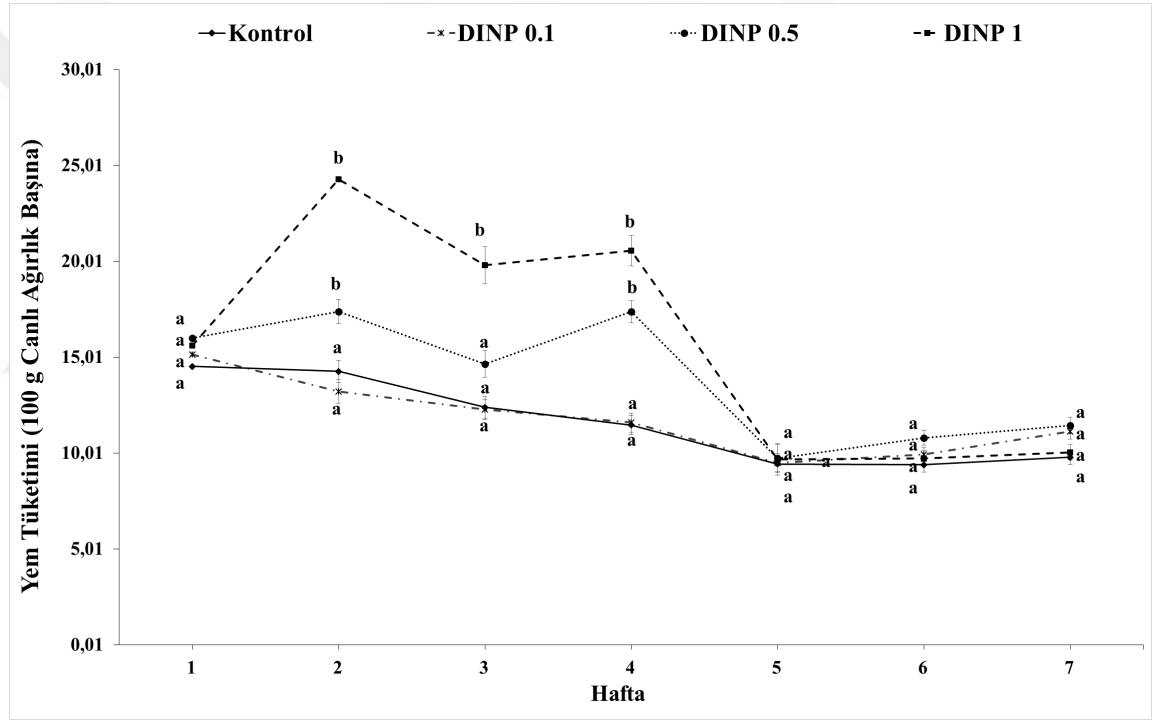
Boyanan kesitlerin tamamı Nikon Eclipse Ni-U ışık mikroskobu, DS-Fi3 camera (Nikon Instruments Inc., Melville, NY) ve NIS-Elements Documentation 5.02 Görüntü Analiz Sistemi (Nikon Corp., Tokyo, Japan) ile incelenerek analizler yapıp fotoğraflar alındı.



4. BULGULAR

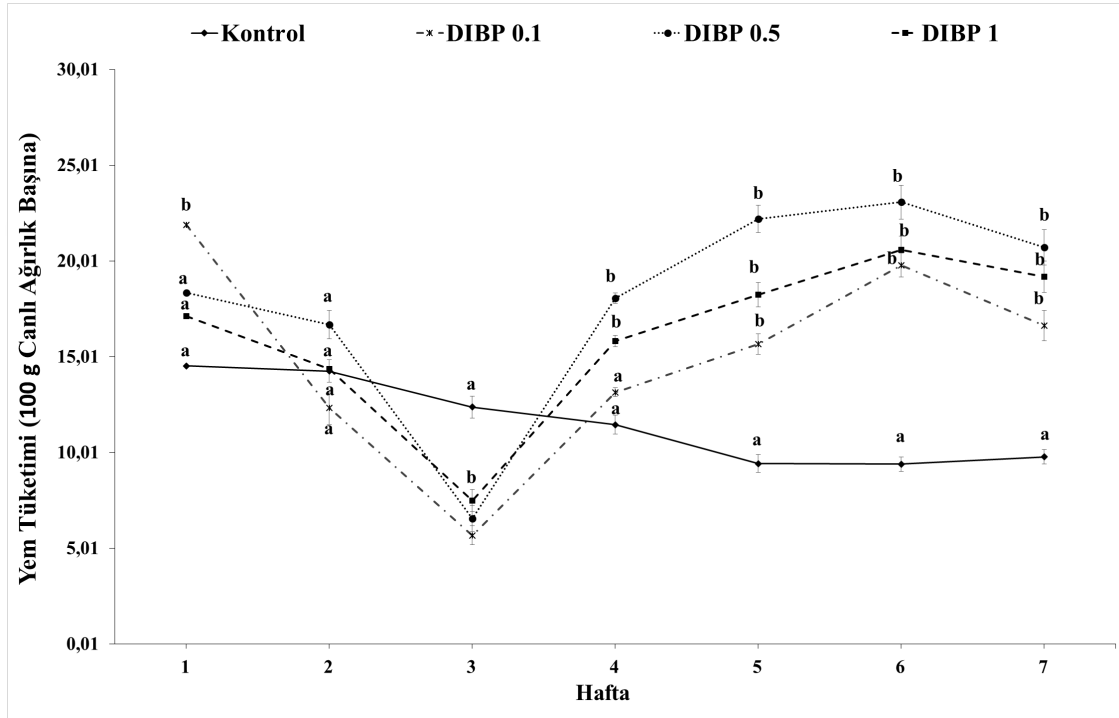
4.1. Yem Tüketimi ve Vücut Ağırlığı Değişim Bulguları

Oral gavaj olarak uygulanan DINP'nin ortalama yem tüketimlerinin 100 g ağırlık başına etkisi Şekil 4.1.'de gösterilmiştir. Gruplar yem tüketimi açısından karşılaştırıldığında 0.5 ve 1 gr/kg/gün DINP uygulanan gruplarda, ilk 3 hafta boyunca kontrol grubuna göre tüketilen yem miktarının istatistiksel olarak anlamlı düzeyde fazla olduğu ($p<0.05$) ancak son üç haftada ise gruplar arasında yem tüketimi bakımından herhangi bir fark olmadığı belirlendi.



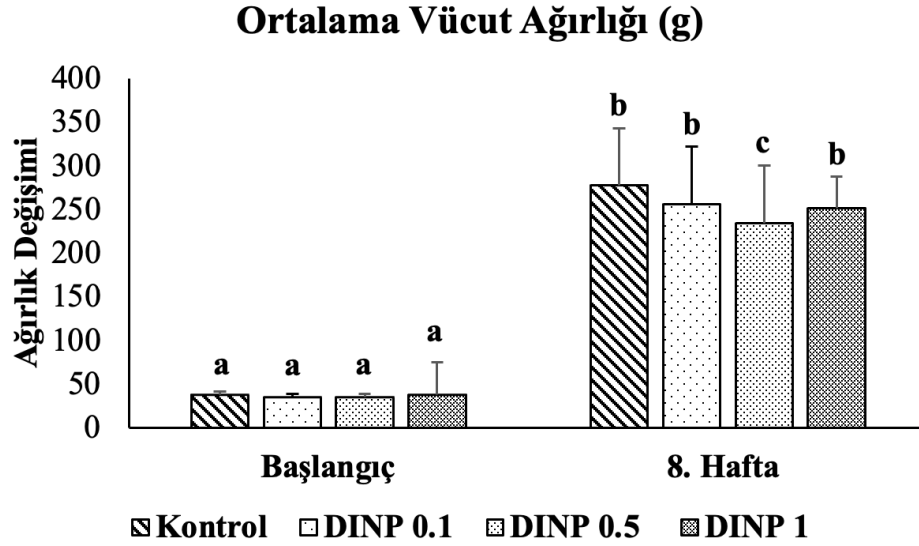
Şekil 4.1. DINP uygulanmasının sıçanların yem tüketimi üzerine etkileri (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada; a,b birbirinden farklı ($p<0.05$); n=8)

Oral gavaj olarak uygulanan DIBP'nin ortalama yem tüketimlerinin 100 g ağırlık başına etkisi Şekil 4.2.'de gösterilmiştir. Gruplar yem tüketimi açısından karşılaştırıldığında 0.1 gr/kg/gün DIBP uygulanan gruplarda ilk dört hafta, 0.5 gr/kg/gün ve 1 gr/kg/gün DIBP uygulanan gruplarda ilk üç hafta boyunca kontrol grubuna göre tüketilen yem miktarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı, ancak son üç haftada ise tüm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir artış olduğu belirlendi ($p<0.05$).



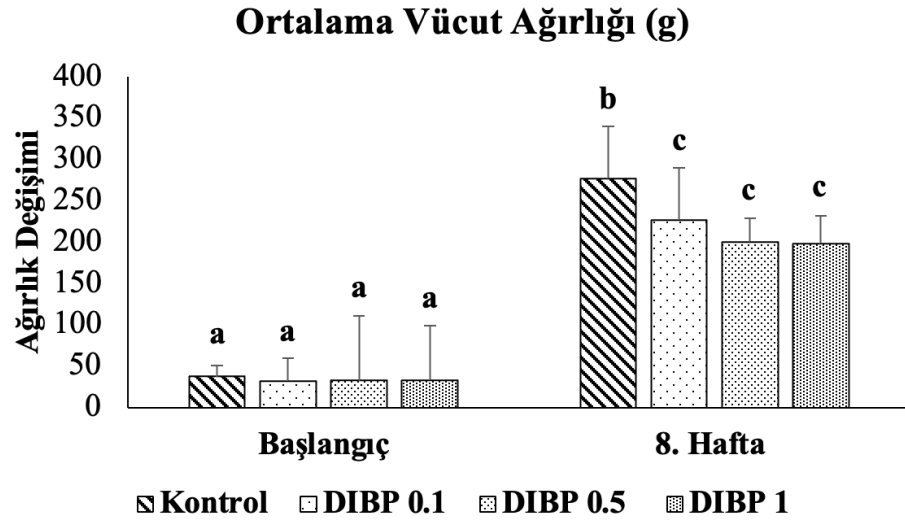
Şekil 4.2. DIBP uygulanmasının sıçanların yem tüketimi üzerine etkileri (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada; a,b birbirinden farklı ($p<0.05$); $n=8$)

Kontrol ve DINP grubu hayvanların başlangıç ve sekizinci haftalardaki ortalama ağırlık değişimleri Şekil 4.3.'te gösterilmiştir. DINP uygulanmasının sekiz hafta sonunda hayvanların vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre azalmalara sebep olduğu bu azalmaların tüm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$).



Şekil 4.3. DINP uygulanmasının sıçanların vücut ağırlığı değişimleri üzerine etkileri (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada; a,b,c birbirinden farklı ($p<0.05$); n=8)

Kontrol ve DINP grubu hayvanların başlangıç ve sekizinci haftalardaki ortalama ağırlık değişimleri Şekil 4.3.'te gösterilmiştir. DIBP uygulanmasının sekiz hafta sonunda hayvanların vücut ağırlıklarında kontrol grubuna göre azalmalara sebep olduğu bu azalmaların tüm doz gruplarında istatistiksel olarak anlamlı olduğu belirlendi ($p<0.05$).



Şekil 4.4. DIBP uygulanmasının sıçanların vücut ağırlığı değişimleri üzerine etkileri (Verilerin değerlendirilmesi Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı. Gruplar arası karşılaştırmada; a,b,c birbirinden farklı ($p<0.05$); n=8)

4.2. DİNP Grubu Serum Leptin, Ghrelin ve İrisin Seviyeleri

Oral gavaj olarak uygulanan DİNP'nin serum leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri üzerindeki etkileri Tablo 4.1.'de gösterilmiştir. Gruplar serum leptin seviyeleri açısından karşılaştırıldığında 1 gr/kg/gün dozda istatistiksel olarak anlamlı bir artış belirlendi ($p<0.05$). Serum ghrelin seviyeleri için 0.1 ve 1 gr/kg/gün dozlarda istatistiksel olarak anlamlı azalma bulundu ($p<0.05$). Serum irisin seviyeleri içinse 0.1 gr/kg/gün dozda istatistiksel olarak anlamlı artış belirlendi ($p<0.05$).

Tablo 4.1. DİNP uygulanmasının serum leptin, ghrelin, irisin seviyeleri üzerine etkisi (Veriler Ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma Kruskal Wallis testi ile yapıldı. (Gruplar arası karşılaştırmada; a,b birbirinden farklı ($p<0.05$); n=8))

	Leptin (ng/ml)	Ghrelin (pg/ml)	İrisin (pg/ml)
Kontrol	0,49 ^a (0,25-3,51)	0,66 ^a (0,50-0,87)	0,11 ^a (0,83- 0,12)
DİNP 0.1	0,38 ^a (0,26- 1,66)	0,33 ^b (0,24- 0,87)	0,12 ^b (0,99- 0,13)
DİNP 0.5	0,53 ^a (0,49-6,35)	0,65 ^a (0,31- 0,95)	0,11 ^a (0,10- 0,13)
DİNP 1	1,02 ^b (0,32- 3,78)	0,44 ^b (0,21- 0,96)	0,11 ^a (0,49- 0,12)

4.3. DIBP Grubu Serum Leptin, Ghrelin ve İrisin Seviyeleri

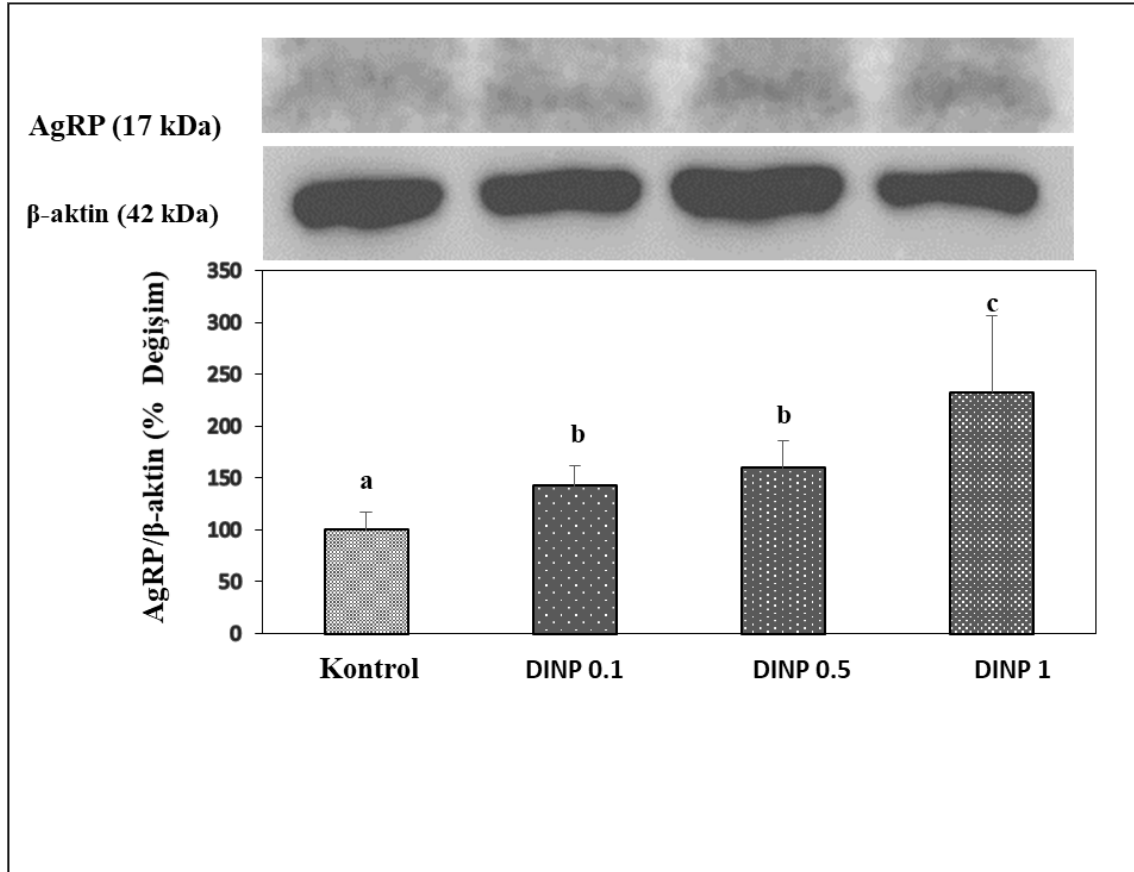
Oral gavaj olarak uygulanan DIBP'nin serum leptin, ghrelin ve irisin seviyeleri üzerindeki etkileri Tablo 4.2.'de gösterilmiştir. Gruplar serum leptin seviyeleri açısından karşılaştırıldığında istatistiksel bir anlamlılık bulunamadı. Serum ghrelin seviyeleri değerlendirildiğinde tüm dozlarda istatistiksel olarak anlamlı artış bulundu ($p<0.05$). Serum irisin seviyeleri içinse 0.5 ve 1 gr/kg/gün dozda istatistiksel olarak anlamlı artış belirlendi ($p<0.05$).

Tablo 4.2. DIBP uygulanmasının serum leptin, ghrelin, irisin seviyeleri üzerine etkisi (Veriler Ortanca (min-max) olarak verilmiştir. Gruplar arası karşılaştırma Kruskal Wallis testi ile yapıldı. (Gruplar arası karşılaştırmada; a,b birbirinden farklı ($p<0.05$); n=8))

	Leptin (ng/ml)	Ghrelin (pg/ml)	İrisin (pg/ml)
Kontrol	0,49 ^a (0,25-3,51)	0,66 ^a (0,50-0,87)	0,11 ^a (0,83-0,12)
DIBP 0.1	0,43 ^a (0,40-0,86)	0,71 ^b (0,40-0,92)	0,10 ^a (0,10-0,12)
DIBP 0.5	0,48 ^a (0,40-0,58)	0,85 ^c (0,58-0,97)	0,13 ^b (0,12-0,14)
DIBP 1	0,54 ^a (0,28-1,06)	0,86 ^c (0,66-0,18)	0,12 ^b (0,57- 0,13)

4.4. DINP Grubu AgRP Seviyeleri Western Blot Bulguları

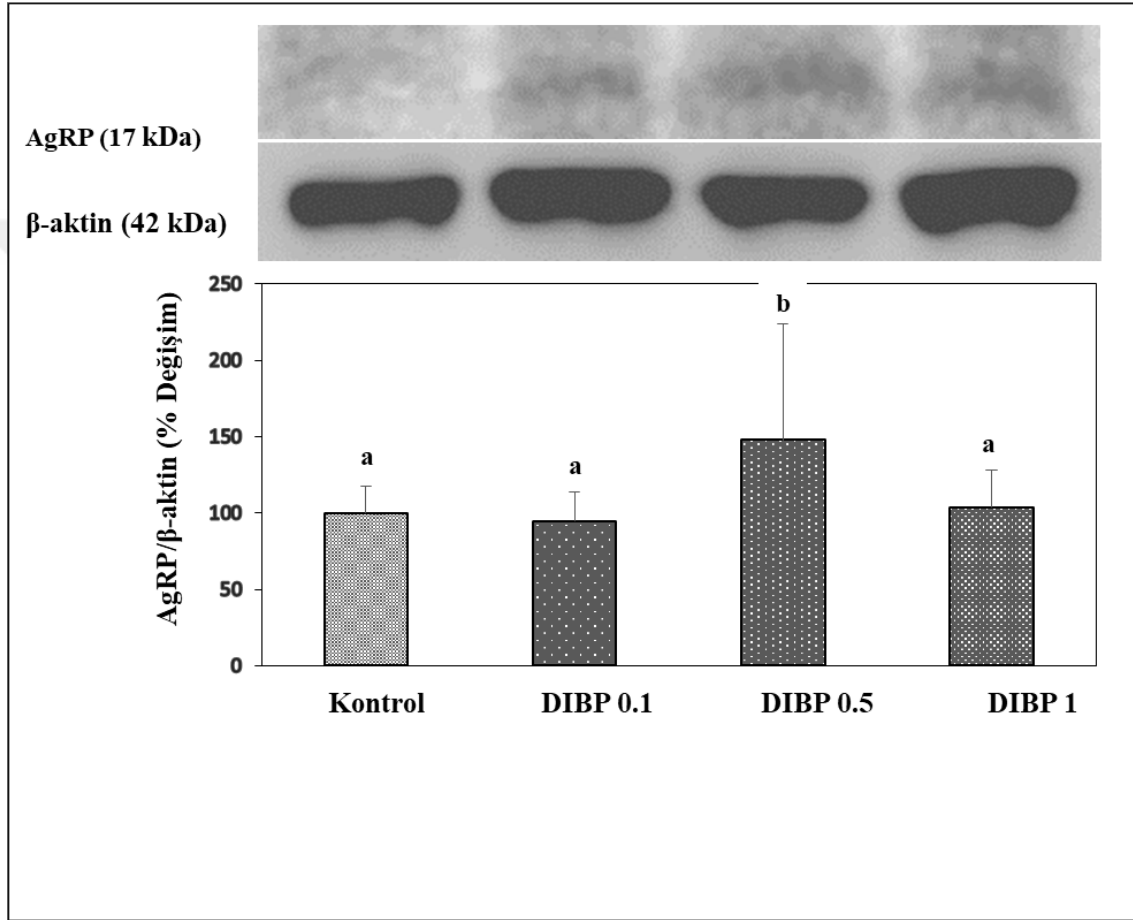
Çalışmamızda oral gavaj olarak uygulanan DINP'nin beyin dokusu AgRP protein miktarları üzerine etkileri Şekil 4.5.'te verilmiştir. Ölçülen AgRP protein miktarları β -aktin seviyesine göre oranlanarak hesaplanmıştır. Bulgularımıza göre tüm uygulama dozlarında kontrol gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.5. DINP uygulanmasının AgRP protein miktarları üzerine etkileri (Gruplar arası karşılaştırma Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı; a,b,c birbirinden farklı ($p<0.05$); $n=8$)

4.5. DIBP Grubu AgRP Seviyeleri Western Blot Bulguları

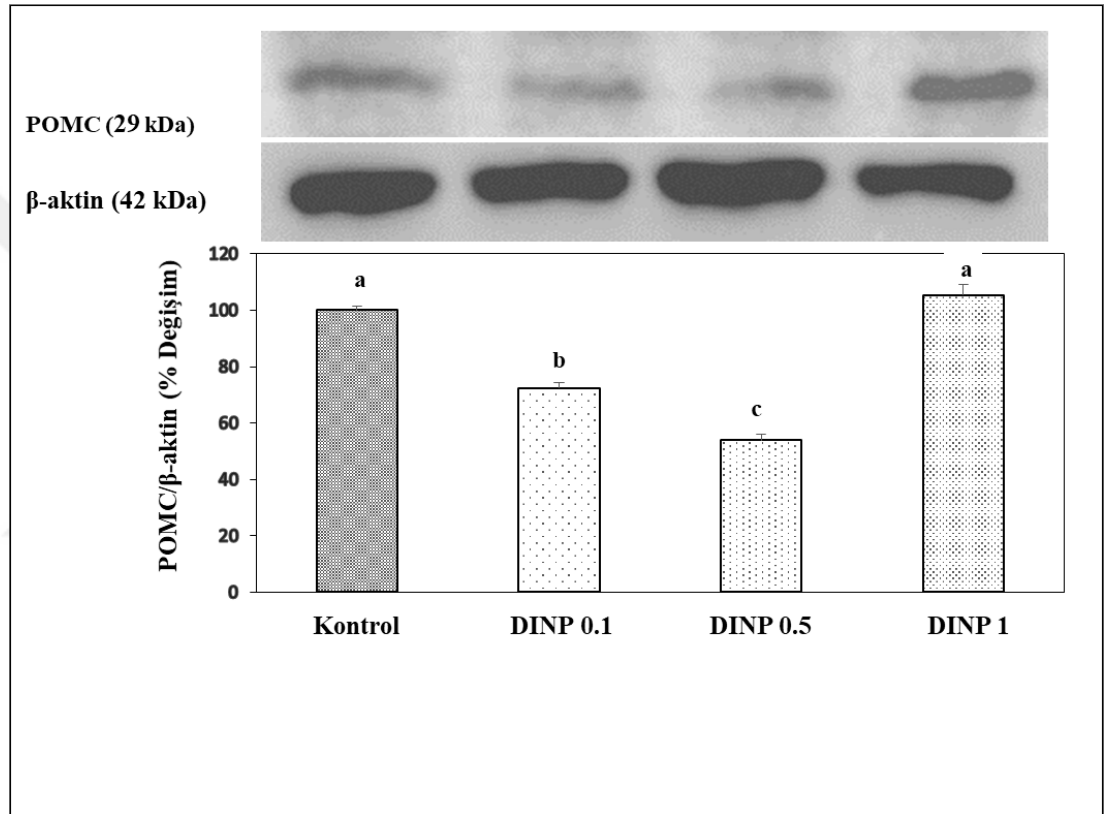
Çalışmamızda oral gavaj olarak uygulanan DIBP'nin beyin dokusu AgRP protein miktarları üzerine etkileri Şekil 4.6.'da verilmiştir. Ölçülen AgRP protein miktarları β -aktin seviyesine göre oranlanarak hesaplanmıştır. Bulgularımıza göre 0.5 gr/kg/gün dozunda kontrol gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.6. DIBP uygulanmasının AgRP protein miktarları üzerine etkileri (Gruplar arası karşılaştırma Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı; a,b birbirinden farklı ($p<0.05$);n=8)

4.6.DINP Grubu POMC Seviyeleri Western Blot Bulguları

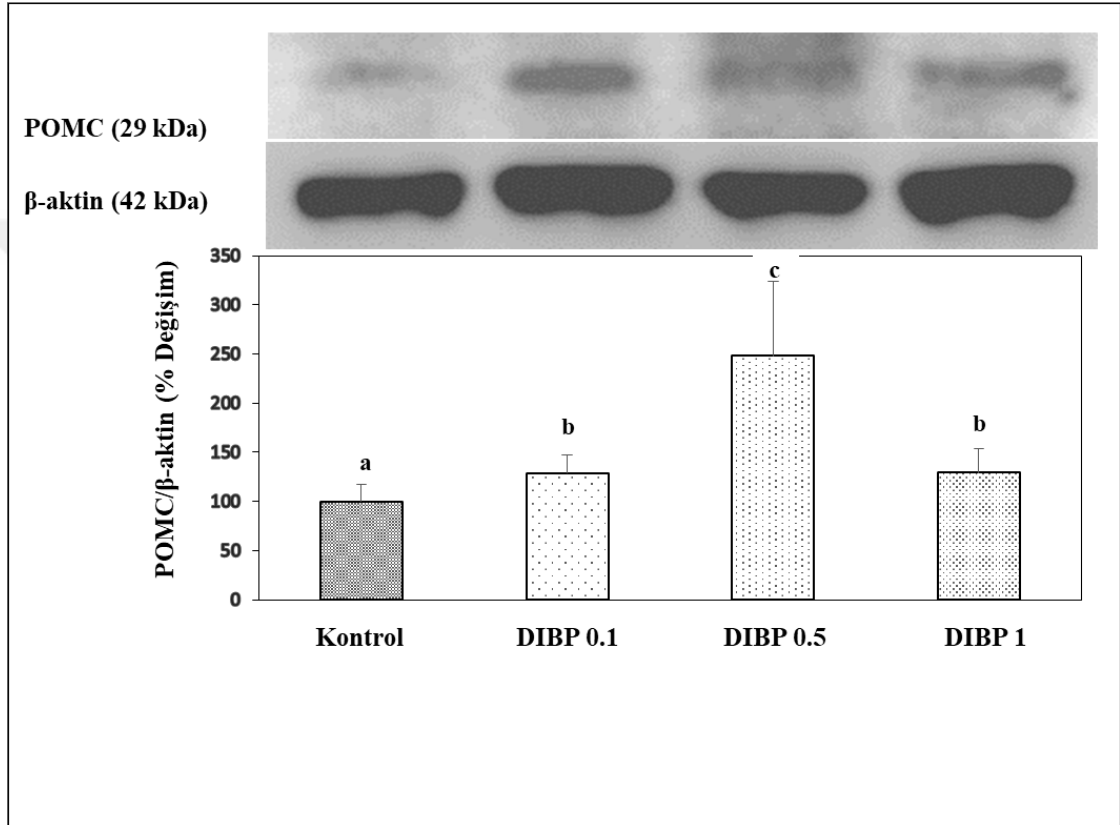
Çalışmamızda oral gavaj olarak uygulanan DINP'nin beyin dokusu POMC protein miktarları üzerine etkileri Şekil 4.7.'de verilmiştir. Ölçülen POMC protein miktarları β -aktin seviyesine göre oranlanarak hesaplanmıştır. Bulgularımıza göre 0.1 ve 0.5 gr/kg/gün dozlarda kontrol gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı azalma bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.7. DINP uygulanmasının POMC protein miktarları üzerine etkileri (Gruplar arası karşılaştırma Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı; a,b,c birbirinden farklı ($p<0.05$); n=8)

4.7.DIBP Grubu POMC Seviyeleri Western Blot Bulguları

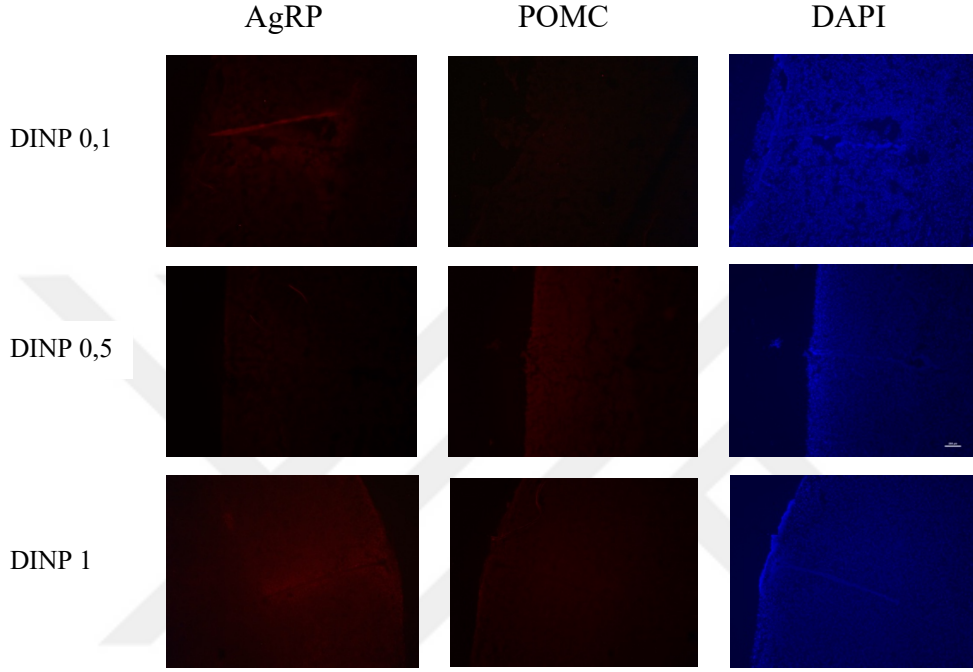
Çalışmamızda oral gavaj olarak uygulanan DIBP'nin beyin dokusu POMC protein miktarları üzerine etkileri Şekil 4.8.'de verilmiştir. Ölçülen POMC protein miktarları β -aktin seviyesine göre oranlanarak hesaplanmıştır. Bulgularımıza göre tüm uygulama dozlarında kontrol gruba kıyasla istatistiksel olarak anlamlı artış bulunmuştur ($p<0.05$).



Şekil 4.8. DIBP uygulanmasının POMC protein miktarları üzerine etkileri (Gruplar arası karşılaştırma Kruskal Wallis H testi kullanılarak yapıldı; a,b,c birbirinden farklı ($p<0.05$); n=8)

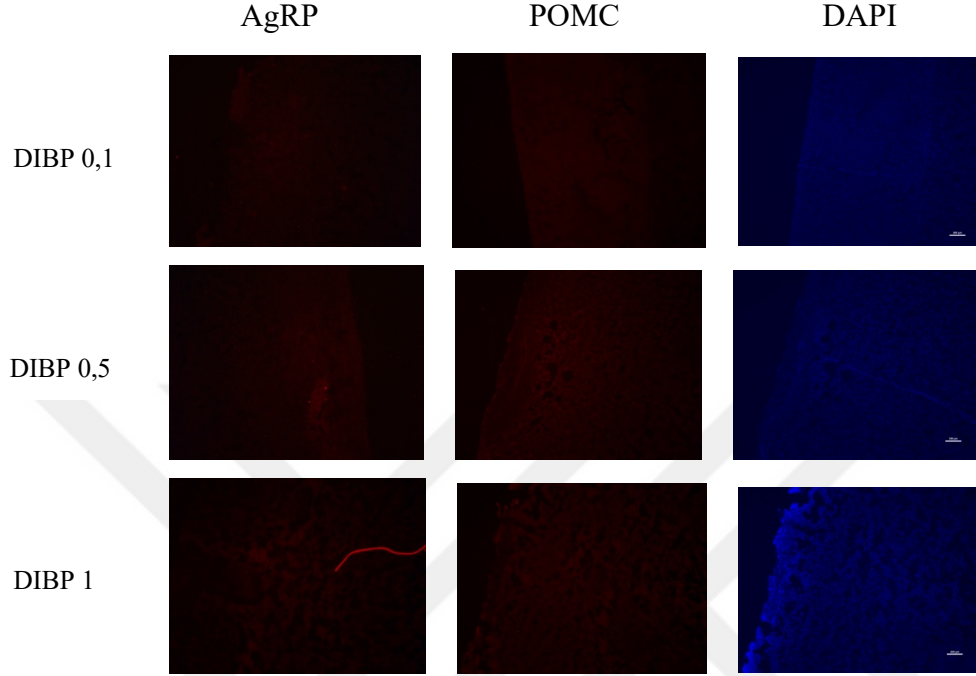
4.8. İmmunofloresan Bulguları

Çalışmamızda elde ettiğimiz DINP grubu için immunofloresan görüntüleri Şekil 4.9.'da verilmiştir. İmmunofloresan görüntülerimizde elde ettiğimiz bulgular yorum yapmak için yeterli değildir.



Şekil 4.9. DINP uygulanmasının immunofloresan görüntülenmesi

Çalışmamızda elde ettiğimiz DIBP grubu için immunofloresan görüntüleri Şekil 4.10.'da verilmiştir. İmmunofloresan görüntülerimizde elde ettiğimiz bulgular yorum yapmak için yeterli değildir.



Şekil 4.10. DIBP uygulanmasının immunofloresan görüntülenmesi

5. TARTIŞMA

Endokrin bozucu kimyasallar, homeostazın, üremenin ve gelişimin sürdürülmesinden sorumlu olan vücuttaki doğal hormonların sentezine, salgılanmasına, taşınmasına, bağlanmasına, etkisine veya ortadan kaldırılmasına müdahale eden eksojen ajanlar olarak tanımlanmıştır (24). Dünya çapında çevre kirliliğine neden olan ve insan sağlığı açısından çeşitli sorunlar oluşturan birçok EBK grubu bulunmaktadır. Ftalatlar, çeşitli endüstriyel ürünlerde yoğun kullanımları göz önüne alındığında çevremizde en yaygın maruz kalınan EBK gruplarından birisidir. Yaygın kullanımı sebebiyle insanlarda yüksek maruziyeti olan bu kimyasallar beslenme, dermal emilim ve solunum yolu ile vücuda alınmaktadır (144). Çoğunlukla lipofilik kimyasallar olan ftalatlar, insan kanına ve sıvılarına kolayca geçerek emilirler. Daha sonra hızla ilgili birincil ve ikincil metabolitlere dönüştürülür. Atılımdan önce bu metabolitlerin bazıları, çekirdekte bulunan transkripsiyon faktörlerinin ligandları (agonist, antagonist veya ko-aktivatör) olarak endokrin moleküler sinyal sistemi ile normal olmayan bir şekilde etkileşime girer ve istenmeyen etkilerine neden olur (145). Bir ftalatın yarı ömrü ne kadar uzun olursa sağlık üzerine olumsuz etkisi de o kadar büyük olarak ortaya çıkmaktadır (146). DINP ve DIBP ftalat kimyasal sınıfının bir üyesidirler. DINP otomotiv bakımı, yakıt ürünleri, inşaat malzemeleri, teller, kablolar, yapıştırıcılar, boyalar, elektronik ürünler ve oyuncaklar gibi endüstriyel, ticari ürünlerde sıklıkla kullanılmaktadır (147, 148). DIBP ise boyalar, cilalar, kağıt, halı, beton, oje, kozmetik dahil olmak üzere çok çeşitli endüstriyel ve tüketici ürününde esneklik ve dayanıklılık sağlamak için kullanılmaktadır. Son yıllarda DINP'nin DEHP kimyasalı yerine ve DIBP'nin de DBP kimyasalı yerine plastikleştirici olarak kullanımı ile insanlara maruziyetleri de oldukça artmıştır (149, 150).

Gıda alımı, bir dizi hormonal, beslenme ve sinir sinyaliyle yanıt veren hipotalamusun özel nöronları tarafından kontrol edilir (151). Hipotalamusun VMH tokluk merkezi, lateral çekirdeği ise açlık merkezi olarak görev yapmaktadır (152). Özellikle hipotalamusun ARC alanı gıda alımının düzenlenmesinde rol oynamaktadır. ARC işlevsel olarak antagonistik oreksijenik ve anoreksijenik olmak üzere iki nöron popülasyonundan oluşur. Bunlardan oreksijenik nöronlar; AgRP ve NPY olup besin alımını artırıp enerji harcamasını azaltırlar. Anoreksijenik nöronlar ise POMC ve kokain ve CART olup bunlar da besin alımını azaltıp enerji harcamasını artırırlar (153, 154). Yani AgRP nöronları transgenik olarak aşırı eksprese edildiğinde veya merkezi olarak

uyarıldığında belirgin hiperfajiye ve obeziteye neden olurken POMC nöronları ise bunun tam tersi etki göstermektedir (155). Ayrıca bu süreçlere leptin ve ghrelin hormonları da eşlik etmektedir. Leptin, ağırlıklı olarak yağ dokusu tarafından üretilen ve plazmadaki konsantrasyonu vücuttaki yağ kütlesi ile orantılı bir sitokindir (156). Yapılan çalışmalar leptinin, enerji alımını azaltmak için oreksijenik nöropeptitler (NPY, AgRP) tarafından aktive edilen nöral yolları inhibe edebildiğini ve iştahı bastırmak için anoreksijenik nöropeptitler (POMC, CART) tarafından hedeflenen yolları aktive edebildiğini göstermiştir (157, 158). Leptin gıda alımını baskılayarak kilo kaybına neden olurken, ghrelin ise iştah uyarıcı bir sinyal olarak işlev görür. Ghrelin hormonunun kan seviyeleri yemek vakitleriyle uyumlu sirkadiyen dalgalanmalar gösterir. Açlık hormonu olarak tanımlanan ghrelin, gıda alımı esnasında aniden yükselir ve yemek sonrasında da hızla düşer (159). ARC, ghrelinin oreksijenik etkisinin ana hipotalamik bölgesi olarak gösterilmiştir. Ghrelin, NPY, AgRP ve oreksin eksprese eden nöronların aktivitesini uyarırken, POMC nöronları ve kortikotropin salgılatıcı hormon üreten nöronlar üzerinde inhibitör bir etkiye sahiptir. Ayrıca ghrelin, hipofiz bezinden büyüme hormonu salgılanmasını güçlü bir şekilde uyarıp, yağlanmayı artırarak ve enerji harcamasını azaltarak vücut ağırlığının düzenlenmesine katkıda bulunur (160).

Literatürde ftalatlar ve beslenme davranışı arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalar mevcuttur ancak yaygın kullanımı bulunan DINP ve DIBP ftalatları ile beslenme davranışı ilişkisi yeterince araştırılmamıştır. Bu tez çalışması ile bu iki kimyasalın beslenme davranışı ve obezite üzerindeki etkileri aydınlatılmaya çalışılmıştır. Yapılmış bir çalışmada, içerisinde DINP ve DIBP'nin de bulunduğu 10 ftalat kimyasalının çocuk, ergen ve yetişkin gruplarda idrar ftalat metabolit konsantrasyonlarına bakılmış ve Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Anketi (NHANES) verilerine göre obez kişilerde konsantrasyonların yüksek olduğu gösterilmiştir (161). Sıçanlar üzerinde yapılmış bir çalışmada ise DBP uygulanmış gruplarda vücut ağırlığındaki artışın kontrol grubuna kıyasla önemli ölçüde arttığı belirtilmiştir (162). Gıda tüketimi ve kilo artışının takip edildiği bir diğer çalışmada farklı doz (5, 50 ve 500 mg/kg/gün) DEHP uygulaması yapılmış hayvanlarda, vücut ağırlığı artışlarında gruplar arasında anlamlı bir farklılık görülmemiş fakat gıda tüketiminde 50 ve 500 mg/kg/gün uygulanan gruplarda önemli ölçüde artış gözlemlendiği rapor edilmiştir (163). Başka bir çalışmada ise sıçanlara üç farklı doz DBP (1000, 5000 ve 10.000 ppm) uygulanmış, sıçanlarda maruz kalınan konsantrasyonlarının artmasıyla vücut ağırlığı artışlarının azaldığı, doz ile kilo alımı arasında ters bir ilişkinin olduğu rapor edilmiştir (164). Bizim çalışmamızda ise sekiz

hafta süresince oral gavaj yoluyla uygulanan DINP ve DIBP sıçanlarda vücut ağırlığında azalmaya neden olmuştur. Vücut ağırlığına oranla yem tüketimi miktarında artış gözlenmesi bu ftalatların iştah arttırıcı etkilerinden kaynaklandığını düşündürmektedir.

Açlık ve tokluğun düzenlenmesinde önemli rol oynadığı bilinen leptin ve ghrelin hormonlarının üzerine ftalatların etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda ftalat maruziyetinin özellikle leptin seviyesi üzerinde etkilerinin olduğu ortaya konulmuştur (159) Literatürde yer alan bir çalışmada, gebelik süresince DIBP'ye maruz kalan sıçanların erkek ve dişi yavrularında plazma leptin seviyelerinin önemli ölçüde azaldığı belirtilmiştir (165). DEHP maruziyeti ve leptin arasındaki ilişkinin araştırıldığı bir diğer çalışmada da doğum öncesi ve sonrasını kapsayan sekiz haftalık DEHP diyetinin, farelerde ve yavrularında plazma leptin seviyesinde anlamlı bir değişime sebep olmadığı, hayvanların gıda tüketimlerinde ise kontrol grubuna göre anlamlı bir artış oluşturduğu bildirilmiştir (166). Sıçanlara DEHP diyeti uygulanan bir diğer çalışmada da leptin seviyesinin yüksek doz (500 mg/kg/gün) uygulanan sıçanlarda yükseldiği ve bu yükselişin anlamlı olduğu rapor edilmiştir (163). Nieminen P. ve arkadaşları farelere 4 gün boyunca deri altı olarak 10, 50 ve 250 mg/kg dozlarında BPA uygulamışlar ve plazma ghrelin seviyelerinin 50 ve 250 mg/kg BPA uygulanan gruplarda arttığını, leptin seviyelerinin ise tüm gruplarda azaldığını rapor etmişlerdir. Ancak hayvanlarda vücut ağırlığı değişimleri bakımından anlamlı herhangi bir fark olmadığını belirtmişlerdir (167). Yapılan başka bir araştırmada diyetlerine BPA ve DES kimyasalları eklenmiş yavru farelerin kontrol grubuna kıyasla leptin seviyelerinde azalma olduğu belirtilmiştir (168). Bizim çalışmamızda da sadece DINP 1 gr/kg/gün uygulama grubunda istatistiksel olarak anlamlı bir artış bulunmuştur, DIBP grubunda ise tüm dozlarda leptin seviyelerinde anlamlı bir farklılık gözlemlenmemiştir. İştah metabolizmasında görevli ghrelin hormon seviyesinde ise DINP uygulamalarında azalma DIBP uygulanan tüm gruplarda artış gözlemlenmiştir. Bu da yem tüketimindeki artışın leptinden ziyade ghrelin kaynaklı olabileceğini düşündürmektedir. Vücut ağırlığındaki azalışlar yağ dokunun azalmasından kaynaklı leptin seviyesinde düşüslere neden olabilir.

İrisin, membran proteini FNDC-5'in bölünmesiyle üretilen kas tarafından salgılanan bir hormondur (169). İrisinin beyaz yağ dokusunda uncoupling protein1 (UCP-1) ekspresyonunu uyarak kahverengileşmeyi sağladığı bildirilmiştir (141). Serum irisin düzeyi ile obezite arasında ters bir ilişki olduğu ve irisin seviyesi azaldığında vücutta yağlanmaya sebep olabileceği çalışmalarda gösterilmiştir (170). İrisinin vücut ağırlığı, besin alımı, vücut sıcaklığı gibi fonksiyonlar üzerinde çeşitli etkileri olduğu rapor

edilmiştir (171)0. Yapılmış bir çalışmada 5 hafta boyunca DDT ve diklorodifeniletilen uygulaması yapılmış sıçanlarda irisin seviyesi değerlendirilmiş fakat anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir (172). Başka bir araştırmada altı ay süresince BPA uygulanmış sıçanlarda irisin seviyesinde düşme elde edildiği rapor edilmiştir (173). Literatür verileri incelendiğinde irisin seviyelerindeki azalmaların enerji tüketim miktarının azalmasına bağlı yağlanmanın artacağını akıllara getirmektedir. Fakat bizim çalışmamızda uygulama gruplarında elde ettiğimiz anlamlı artışlar, irisinin enerji harcanmasını artırarak sıçanlarda yem tüketimlerinin artmasına rağmen ağırlık artışlarında aynı etkiyi göremememizin sebebi olabileceğini düşündürmüştür. Çalışmamızda UCP-1 seviyeleri değerlendirilmediği için net olarak böyle bir yolda etkinliği net değildir. Bu nedenle EBK'lar ve irisin arasındaki ilişkinin araştırıldığı çalışmalara ihtiyaç vardır.

Obezitenin üç farklı EBK grubu (DES, BPA, tribütildin) uygulamasıyla değerlendirildiği bir çalışmada, dört ay boyunca fareler bu kimyasallardan zengin diyetle beslenmiş ve çalışma sonunda POMC seviyeleri değerlendirilmiştir. DES ve BPA uygulaması yapılan gruplarda POMC seviyelerinde önemli ölçüde azalmalar olduğu belirlenmiştir (174). Farelerin beslenme davranışının BPA uygulanması ile nasıl etkilendiğinin araştırıldığı bir çalışmada da farelerin POMC immünfloresan lif yoğunluğunun önemli ölçüde azaldığı sonucu elde edilmiştir (175). DEHP kimyasalı uygulanan bir çalışmada ise NPY ve POMC mRNA seviyelerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda yavru ve annelere uygulanan DEHP'nin yavru grupta NPY seviyelerini düşürdüğü, annelerde ise anlamlı bir değişiklik olmadığı gösterilmiştir. POMC için ise hiçbir grupta değişim olmadığı belirtilmiştir (166). Mevcut literatürde EBK'lar ve AgRP ilişkisine dair bir çalışmaya rastlanmamıştır. Fakat daha önce yapmış olduğumuz çalışmalarda POMC'nin AgRP üzerinde baskılayıcı etkisinin olduğunu POMC inhibisyonunda AgRP'nin etkinliğinin arttığını western ve immün florasan yöntemlerle göstermiştik (176). Bu çalışmamızda EBK uygulamasıyla AgRP nöron seviyelerinin arttığını gösterdiğimiz yönündeki veriler, literatüre ilk verileri sağlaması bakımından önemlidir. Aynı zamanda literatürde bulunan birçok çalışma verileri ile benzer olarak da DINP ve DIBP uygulamasının POMC seviyelerinde anlamlı bir azalmaya neden olduğu elde ettiğimiz diğer veriler arasındadır. Çalışma sonuçlarımızı birlikte değerlendirdiğimizde, uygulamasını yapmış olduğumuz ftalatların POMC ve AgRP seviyelerinde meydana getirdiği değişikliklerin, beslenme davranışını merkezi olarak etkilediğini, ayrıca hipotalamik kontrol üzerinde etkili olan leptin ve ghrelin gibi hormonların seviyelerinde de etki oluşturmak suretiyle beslenme davranışının merkezi ve

periferal aks üzerinden etkilediğini söyleyebiliriz. DINP uygulanan gruplarda Agrpprotein seviyesindeki artış ghrelin artışından bağımsızdır. Aksine ghrelin azalmasına rağmen AgRP seviyesinde artış gözlemlenmiştir. Bu da EBK ların kan beyin bariyerini geçerek beslenme davranışlarının yanı sıra hipotalamustaki diğer endokrin salgılar üzerinde de etki gösterebileceğini düşündürmektedir. Ancak doz bağımlı bir korelesyon olmamakla birlikte yüksek dozlarda görmüş olduğumuz farklı sonuçlar kimyasalların toksik etkilerinin de araştırılması gerektiğini düşündürmüştür. İlerde yapılacak daha kapsamlı çalışmalarla etkilerin araştırılması gerekmektedir.

Çalışma bulgularımız mevcut literatür ile birlikte değerlendirildiğinde, DINP ve DIBP uygulamasının iştah üzerinde etkinlikleri olduğu bilinen hormonlar ve merkezi düzenleyici nöron grupları üzerinde baskılayıcı, iştahı artırırlarda ise uyarıcı etki yaparak beslenme düzeninde ve enerji metabolizmasında etkili olduğunu ortaya koymaktadır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Yapmış olduğumuz çalışmamızda DINP ve DIBP kimyasallarının beslenme davranışını düzenleyen hormonlar üzerine etkilerini inceledik. Elde ettiğimiz bulgular çalışmış olduğumuz kimyasalların hipotalamik beslenme nöronlarını (POMC ve AgRP) ve iştah metabolizmasında görev alan leptin ve ghrelin gibi hormonların seviyelerini etkileyerek beslenme davranışını hiperfaji yönünde değiştirebileceğini gösterdi. İlave olarak, bu maddelerin irisin seviyelerinde meydana getirdiği artışların, enerji metabolizmasında da işe karışabileceğini ve böylece kilo alımı/azalışı üzerinde de etkilerinin olabileceğini akla getirdi. Ancak bu etkilerin daha iyi anlaşılabilmesi için irisinin etki mekanizmasında önemli yer tutan UCP'lerin seviyelerinin belirleneceği ve metabolizma hızının düzenlenmesinde ana oyuncular olan tiroit hormon seviyelerinin belirlenmesinin, mekanizmanın anlaşılmasına katkı yapacağı düşünülmektedir.

KAYNAKLAR

1. Predieri B, Bruzzi P, Bigi E, Ciancia S, Madeo SF, Lucaccioni L, Iughetti L. Endocrine Disrupting Chemicals and Type 1 Diabetes. *Int J Mol Sci.* 2020,21(8).
2. Monneret C. What is an endocrine disruptor? *C R Biol.* 2017,340(9-10):403-5.
3. Darbre PD. Endocrine disruption and human health: academic press; 2021.
4. Romero-Corral A, Somers VK, Sierra-Johnson J, Thomas RJ, Collazo-Clavell ML, Korinek J, Allison TG, Batsis JA, Sert-Kuniyoshi FH, Lopez-Jimenez F. Accuracy of body mass index in diagnosing obesity in the adult general population. *Int J Obes (Lond).* 2008,32(6):959-66.
5. Hebert JR, Allison DB, Archer E, Lavie CJ, Blair SN. Scientific decision making, policy decisions, and the obesity pandemic. *Mayo Clin Proc.* 2013,88(6):593-604.
6. Heindel JJ, Newbold R, Schug TT. Endocrine disruptors and obesity. *Nat Rev Endocrinol.* 2015,11(11):653-61.
7. Darbre PD. Endocrine Disruptors and Obesity. *Curr Obes Rep.* 2017,6(1):18-27.
8. Kershaw EE, Flier JS. Adipose tissue as an endocrine organ. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004,89(6):2548-56.
9. Timper K, Brüning JC. Hypothalamic circuits regulating appetite and energy homeostasis: pathways to obesity. *Dis Model Mech.* 2017,10(6):679-89.
10. Gropp E, Shanabrough M, Borok E, Xu AW, Janoschek R, Buch T, Plum L, Balthasar N, Hampel B, Waisman A, Barsh GS, Horvath TL, Brüning JC. Agouti-related peptide-expressing neurons are mandatory for feeding. *Nat Neurosci.* 2005,8(10):1289-91.
11. Balthasar N, Dalgaard LT, Lee CE, Yu J, Funahashi H, Williams T, Ferreira M, Tang V, McGovern RA, Kenny CD, Christiansen LM, Edelstein E, Choi B, Boss O, Aschkenasi C, Zhang CY, Mountjoy K, Kishi T, Elmquist JK, Lowell BB. Divergence of melanocortin pathways in the control of food intake and energy expenditure. *Cell.* 2005,123(3):493-505.
12. Sohn JW, Harris LE, Berglund ED, Liu T, Vong L, Lowell BB, Balthasar N, Williams KW, Elmquist JK. Melanocortin 4 receptors reciprocally regulate sympathetic and parasympathetic preganglionic neurons. *Cell.* 2013,152(3):612-9.
13. Broberger C, Johansen J, Johansson C, Schalling M, Hökfelt T. The neuropeptide Y/agouti gene-related protein (AGRP) brain circuitry in normal, anorectic, and

- monosodium glutamate-treated mice. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 1998,95(25):15043-8.
14. Perakakis N, Farr OM, Mantzoros CS. Leptin in Leanness and Obesity: JACC State-of-the-Art Review. *J Am Coll Cardiol*. 2021,77(6):745-60.
 15. Stahlhut RW, van Wijngaarden E, Dye TD, Cook S, Swan SH. Concentrations of urinary phthalate metabolites are associated with increased waist circumference and insulin resistance in adult U.S. males. *Environ Health Perspect*. 2007,115(6):876-82.
 16. Zoeller RT, Brown TR, Doan LL, Gore AC, Skakkebaek NE, Soto AM, Woodruff TJ, Vom Saal FS. Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: a statement of principles from The Endocrine Society. *Endocrinology*. 2012,153(9):4097-110.
 17. Kabir ER, Rahman MS, Rahman I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2015,40(1):241-58.
 18. Benvenga S, Elia G, Ragusa F, Paparo SR, Sturniolo MM, Ferrari SM, Antonelli A, Fallahi P. Endocrine disruptors and thyroid autoimmunity. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2020,34(1):101377.
 19. Kiess W, Haeusler G. Endocrine-disrupting chemicals. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab*. 2021,35(5):101566.
 20. Adegoke EO, Rahman MS, Park YJ, Kim YJ, Pang MG. Endocrine-Disrupting Chemicals and Infectious Diseases: From Endocrine Disruption to Immunosuppression. *Int J Mol Sci*. 2021,22(8).
 21. Darbre PD. Overview of air pollution and endocrine disorders. *Int J Gen Med*. 2018,11:191-207.
 22. Singh R, Singh K. Male infertility: understanding, causes and treatment: Springer; 2017.
 23. Levent T, Derya C. Endocrine Disrupting Chemicals and Their Use in Textile Industry. *Experimed*. 2021,11(2):130-9.
 24. Yilmaz B, Terekeci H, Sandal S, Kelestimur F. Endocrine disrupting chemicals: exposure, effects on human health, mechanism of action, models for testing and strategies for prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2020,21(1):127-47.
 25. Cornelis C, D'Hollander W, Roosens L, Covaci A, Smolders R, Van Den Heuvel R, Govarts E, Van Campenhout K, Reynders H, Bervoets L. First assessment of

- population exposure to perfluorinated compounds in Flanders, Belgium. *Chemosphere*. 2012,86(3):308-14.
26. Burridge E. Bisphenol A: product profile. *Eur Chem News*. 2003,17:14-20.
 27. Erler C, Novak J. Bisphenol a exposure: human risk and health policy. *Journal of pediatric nursing*. 2010,25(5):400-7.
 28. Erler C, Novak J. Bisphenol a exposure: human risk and health policy. *J Pediatr Nurs*. 2010,25(5):400-7.
 29. Acconcia F, Pallottini V, Marino M. Molecular Mechanisms of Action of BPA. *Dose Response*. 2015,13(4):1559325815610582.
 30. Grimm FA, Hu D, Kania-Korwel I, Lehmler HJ, Ludewig G, Hornbuckle KC, Duffel MW, Bergman Å, Robertson LW. Metabolism and metabolites of polychlorinated biphenyls. *Crit Rev Toxicol*. 2015,45(3):245-72.
 31. Kimbrough RD, Jensen AA. Halogenated biphenyls, terphenyls, naphthalenes, dibenzodioxins and related products: Elsevier; 2012.
 32. Markowitz G, Rosner D. Monsanto, PCBs, and the creation of a "world-wide ecological problem". *J Public Health Policy*. 2018,39(4):463-540.
 33. Drinker CK, Warren MF, Bennett GA. The Problem of Possible Systemic Effects from Certain Chlorinated Hydrocarbons. *Journal of industrial hygiene and toxicology*. 1937,19:283-99.
 34. Carpenter DO. Polychlorinated biphenyls (PCBs): routes of exposure and effects on human health. *Rev Environ Health*. 2006,21(1):1-23.
 35. Błędzka D, Gromadzińska J, Wąsowicz W. Parabens. From environmental studies to human health. *Environment international*. 2014,67:27-42.
 36. Petric Z, Ružić J, Žuntar I. The controversies of parabens—an overview nowadays. *Acta Pharmaceutica*. 2021,71(1):17-32.
 37. Torfs E, Brackman G. A perspective on the safety of parabens as preservatives in wound care products. *International Wound Journal*. 2021,18(2):221-32.
 38. Darbre PD, Aljarrah A, Miller WR, Coldham NG, Sauer MJ, Pope G. Concentrations of parabens in human breast tumours. *Journal of Applied Toxicology: An International Journal*. 2004,24(1):5-13.
 39. Vela-Soria F, Rodríguez I, Ballesteros O, Zafra-Gómez A, Ballesteros L, Cela R, Navalón A. Simplified matrix solid phase dispersion procedure for the determination of parabens and benzophenone-ultraviolet filters in human placental tissue samples. *Journal of Chromatography A*. 2014,1371:39-47.

40. Karwacka A, Zamkowska D, Radwan M, Jurewicz J. Exposure to modern, widespread environmental endocrine disrupting chemicals and their effect on the reproductive potential of women: an overview of current epidemiological evidence. *Human Fertility*. 2019,22(1):2-25.
41. Busvine J. DDT: fifty years for good or ill. *Pesticide outlook*. 1989,1:4-8.
42. Boul H. DDT residues in the environment—a review with a New Zealand perspective. *New Zealand journal of agricultural research*. 1995,38(2):257-77.
43. Kale S, Murthy N, Raghu K, Sherkhane P, Carvalho F. Studies on degradation of 14C-DDT in the marine environment. *Chemosphere*. 1999,39(6):959-68.
44. Foght J, April T, Biggar K, Aislabie J. Bioremediation of DDT-contaminated soils: a review. *Bioremediation Journal*. 2001,5(3):225-46.
45. Turusov V, Rakitsky V, Tomatis L. Dichlorodiphenyltrichloroethane (DDT): ubiquity, persistence, and risks. *Environmental health perspectives*. 2002,110(2):125-8.
46. Gautam SK, Suresh S. Studies on dechlorination of DDT (1, 1, 1-trichloro-2, 2-bis (4-chlorophenyl) ethane) using magnesium/palladium bimetallic system. *Journal of hazardous materials*. 2007,139(1):146-53.
47. Oztürk MA, Keleştimur F, Kurtoğlu S, Güven K, Arslan D. Anticholinesterase poisoning in Turkey--clinical, laboratory and radiologic evaluation of 269 cases. *Hum Exp Toxicol*. 1990,9(5):273-9.
48. Güven M, Bayram F, Unlühizarci K, Keleştimur F. Endocrine changes in patients with acute organophosphate poisoning. *Hum Exp Toxicol*. 1999,18(10):598-601.
49. Sereda B, Bouwman H, Kylin H. Comparing water, bovine milk, and indoor residual spraying as possible sources of DDT and pyrethroid residues in breast milk. *J Toxicol Environ Health A*. 2009,72(13):842-51.
50. Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT. EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocr Rev*. 2015,36(6):E1-e150.
51. Langer P, Ukropec J, Kocan A, Drobna B, Radikova Z, Huckova M, Imrich R, Gasperikova D, Klimes I, Trnovec T. Obesogenic and diabetogenic impact of high organochlorine levels (HCB, p, p'-DDE, PCBs) on inhabitants in the highly polluted Eastern Slovakia. *Endocrine regulations*. 2014,48(1):17-24.

52. Luo D, Pu Y, Tian H, Wu W, Sun X, Zhou T, Tao Y, Yuan J, Shen X, Feng Y, Mei S. Association of in utero exposure to organochlorine pesticides with thyroid hormone levels in cord blood of newborns. *Environ Pollut.* 2017,231(Pt 1):78-86.
53. Weatherly LM, Gosse JA. Triclosan exposure, transformation, and human health effects. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2017,20(8):447-69.
54. Zhu W, Zhou W, Huo X, Zhao S, Gan Y, Wang B, Cheng W, Ouyang F, Wang W, Tian Y, Zhang J. Triclosan and Female Reproductive Health: A Preconceptional Cohort Study. *Epidemiology.* 2019,30 Suppl 1:S24-s31.
55. Higgins CP, Paesani ZJ, Chalew TE, Halden RU. Bioaccumulation of triclocarban in *Lumbriculus variegatus*. *Environ Toxicol Chem.* 2009,28(12):2580-6.
56. Reiss R, Lewis G, Griffin J. An ecological risk assessment for triclosan in the terrestrial environment. *Environ Toxicol Chem.* 2009,28(7):1546-56.
57. Moss T, Howes D, Williams FM. Percutaneous penetration and dermal metabolism of triclosan (2,4, 4'-trichloro-2'-hydroxydiphenyl ether). *Food Chem Toxicol.* 2000,38(4):361-70.
58. Sandborgh-Englund G, Adolfsson-Erici M, Odham G, Ekstrand J. Pharmacokinetics of triclosan following oral ingestion in humans. *J Toxicol Environ Health A.* 2006,69(20):1861-73.
59. Geens T, Neels H, Covaci A. Distribution of bisphenol-A, triclosan and n-nonylphenol in human adipose tissue, liver and brain. *Chemosphere.* 2012,87(7):796-802.
60. Allmyr M, Harden F, Toms LM, Mueller JF, McLachlan MS, Adolfsson-Erici M, Sandborgh-Englund G. The influence of age and gender on triclosan concentrations in Australian human blood serum. *Sci Total Environ.* 2008,393(1):162-7.
61. Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. Urinary concentrations of triclosan in the U.S. population: 2003-2004. *Environ Health Perspect.* 2008,116(3):303-7.
62. Kodavanti PR, Curras-Collazo MC. Neuroendocrine actions of organohalogenes: thyroid hormones, arginine vasopressin, and neuroplasticity. *Front Neuroendocrinol.* 2010,31(4):479-96.
63. Veldhoen N, Skirrow RC, Osachoff H, Wigmore H, Clapson DJ, Gunderson MP, Van Aggelen G, Helbing CC. The bactericidal agent triclosan modulates thyroid

- hormone-associated gene expression and disrupts postembryonic anuran development. *Aquat Toxicol.* 2006,80(3):217-27.
64. Panagiotou EM, Ojasalo V, Damdimopoulou P. Phthalates, ovarian function and fertility in adulthood. *Best Pract Res Clin Endocrinol Metab.* 2021,35(5):101552.
 65. Katsikantami I, Sifakis S, Tzatzarakis MN, Vakonaki E, Kalantzi O-I, Tsatsakis AM, Rizos AK. A global assessment of phthalates burden and related links to health effects. *Environment international.* 2016,97:212-36.
 66. Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. 2011.
 67. Hahladakis JN, Velis CA, Weber R, Iacovidou E, Purnell P. An overview of chemical additives present in plastics: Migration, release, fate and environmental impact during their use, disposal and recycling. *Journal of hazardous materials.* 2018,344:179-99.
 68. Hoppin JA, Jaramillo R, London SJ, Bertelsen RJ, Salo PM, Sandler DP, Zeldin DC. Phthalate Exposure and Allergy in the U.S. Population: Results from NHANES 2005–2006. 2013,121(10):1129-34.
 69. Saravanabhavan G, Murray J. Human biological monitoring of diisononyl phthalate and diisodecyl phthalate: a review. *J Environ Public Health.* 2012,2012:810501.
 70. Koch HM, Müller J, Angerer J. Determination of secondary, oxidised di-isononylphthalate (DINP) metabolites in human urine representative for the exposure to commercial DINP plasticizers. *J Chromatogr B Analyt Technol Biomed Life Sci.* 2007,847(2):114-25.
 71. Abb M, Heinrich T, Sorkau E, Lorenz W. Phthalates in house dust. *Environ Int.* 2009,35(6):965-70.
 72. Forner-Piquer I, Santangeli S, Maradonna F, Rabbito A, Piscitelli F, Habibi HR, di Marzo V, Carnevali O. Comments on Disruption of the gonadal endocannabinoid system in zebrafish exposed to diisononyl phthalate - Forner-Piquer et al. (2018)": rebuttal to Prosser CM. *Environ Pollut.* 2020,261:114028.
 73. Huan-Yu T, Jiawei Z, Li B, Hui G, Mengtao Z, Wei G, Jianghong S, Xiao-Yan L. Development of ecological risk assessment for Diisobutyl phthalate and di-n-octyl phthalate in surface water of China based on species sensitivity distribution model. *Chemosphere.* 2022,307(Pt 3):135932.

74. Li J, Xia W, Wu C, Zhao H, Zhou Y, Wei J, Ji F, Luan H, Xu S, Cai Z. Variations of phthalate exposure and metabolism over three trimesters. *Environmental Pollution*. 2019,251:137-45.
75. Koch HM, Christensen KL, Harth V, Lorber M, Brüning T. Di-n-butyl phthalate (DnBP) and diisobutyl phthalate (DiBP) metabolism in a human volunteer after single oral doses. *Arch Toxicol*. 2012,86(12):1829-39.
76. Jeong SH, Jang JH, Cho HY, Lee YB. Toxicokinetics of diisobutyl phthalate and its major metabolite, monoisobutyl phthalate, in rats: UPLC-ESI-MS/MS method development for the simultaneous determination of diisobutyl phthalate and its major metabolite, monoisobutyl phthalate, in rat plasma, urine, feces, and 11 various tissues collected from a toxicokinetic study. *Food Chem Toxicol*. 2020,145:111747.
77. Francula-Zaninovic S, Nola IA. Management of Measurable Variable Cardiovascular Disease' Risk Factors. *Curr Cardiol Rev*. 2018,14(3):153-63.
78. Bhatnagar A. Environmental Determinants of Cardiovascular Disease. *Circ Res*. 2017,121(2):162-80.
79. Fonseca MI, Lorigo M, Cairrao E. Endocrine-Disrupting Effects of Bisphenol A on the Cardiovascular System: A Review. *J Xenobiot*. 2022,12(3):181-213.
80. Safe S. Endocrine disruptors and falling sperm counts: lessons learned or not! *Asian Journal of Andrology*. 2013,15(2):191.
81. Slutsky M, Levin JL, Levy BS. Azoospermia and oligospermia among a large cohort of DBCP applicators in 12 countries. *International journal of occupational and environmental health*. 1999,5(2):116-22.
82. Joensen UN, Frederiksen H, Jensen MB, Lauritsen MP, Olesen IA, Lassen TH, Andersson A-M, Jørgensen N. Phthalate excretion pattern and testicular function: a study of 881 healthy Danish men. *Environmental health perspectives*. 2012,120(10):1397-403.
83. Meeker JD, Calafat AM, Hauser R. Urinary metabolites of di (2-ethylhexyl) phthalate are associated with decreased steroid hormone levels in adult men. *Journal of andrology*. 2009,30(3):287-97.
84. Specht IO, Toft G, Hougaard KS, Lindh CH, Lenters V, Jönsson BA, Heederik D, Giwercman A, Bonde JPE. Associations between serum phthalates and biomarkers of reproductive function in 589 adult men. *Environment international*. 2014,66:146-56.

85. Karwacka A, Zamkowska D, Radwan M, Jurewicz J. Exposure to modern, widespread environmental endocrine disrupting chemicals and their effect on the reproductive potential of women: an overview of current epidemiological evidence. *Hum Fertil (Camb)*. 2019;22(1):2-25.
86. Messerlian C, Souter I, Gaskins AJ, Williams PL, Ford JB, Chiu Y-H, Calafat AM, Hauser R. Urinary phthalate metabolites and ovarian reserve among women seeking infertility care. *Human Reproduction*. 2016;31(1):75-83.
87. Hauser R, Gaskins AJ, Souter I, Smith KW, Dodge LE, Ehrlich S, Meeker JD, Calafat AM, Williams PL, Team ES. Urinary phthalate metabolite concentrations and reproductive outcomes among women undergoing in vitro fertilization: results from the EARTH study. *Environmental health perspectives*. 2016;124(6):831-9.
88. Calsolaro V, Pasqualetti G, Niccolai F, Caraccio N, Monzani F. Thyroid Disrupting Chemicals. *Int J Mol Sci*. 2017;18(12).
89. Gorini F, Bustaffa E, Coi A, Iervasi G, Bianchi F. Bisphenols as Environmental Triggers of Thyroid Dysfunction: Clues and Evidence. *Int J Environ Res Public Health*. 2020;17(8).
90. Gorini F, Iervasi G, Coi A, Pitto L, Bianchi F. The Role of Polybrominated Diphenyl Ethers in Thyroid Carcinogenesis: Is It a Weak Hypothesis or a Hidden Reality? From Facts to New Perspectives. *Int J Environ Res Public Health*. 2018;15(9).
91. Kitamura S, Kato T, Iida M, Jinno N, Suzuki T, Ohta S, Fujimoto N, Hanada H, Kashiwagi K, Kashiwagi A. Anti-thyroid hormonal activity of tetrabromobisphenol A, a flame retardant, and related compounds: Affinity to the mammalian thyroid hormone receptor, and effect on tadpole metamorphosis. *Life Sci*. 2005;76(14):1589-601.
92. Liu C, Deng YL, Zheng TZ, Yang P, Jiang XQ, Liu EN, Miao XP, Wang LQ, Jiang M, Zeng Q. Urinary biomarkers of phthalates exposure and risks of thyroid cancer and benign nodule. *J Hazard Mater*. 2020;383:121189.
93. Buoso E, Masi M, Racchi M, Corsini E. Endocrine-Disrupting Chemicals' (EDCs) Effects on Tumour Microenvironment and Cancer Progression: Emerging Contribution of RACK1. *Int J Mol Sci*. 2020;21(23).
94. Seachrist DD, Bonk KW, Ho SM, Prins GS, Soto AM, Keri RA. A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. *Reprod Toxicol*. 2016;59:167-82.

95. Barry V, Winkquist A, Steenland K. Perfluorooctanoic acid (PFOA) exposures and incident cancers among adults living near a chemical plant. *Environ Health Perspect.* 2013,121(11-12):1313-8.
96. Wormsbaeche C, Hindman AR, Avendano A, Cortes-Medina M, Jones CE, Bushman A, Onua L, Kovalchin CE, Murphy AR, Helber HL, Shapiro A, Voytovitch K, Kuang X, Aguilar-Valenzuela R, Leight JL, Song JW, Burd CJ. In utero estrogenic endocrine disruption alters the stroma to increase extracellular matrix density and mammary gland stiffness. *Breast Cancer Res.* 2020,22(1):41.
97. Rodgers KM, Udesky JO, Rudel RA, Brody JG. Environmental chemicals and breast cancer: An updated review of epidemiological literature informed by biological mechanisms. *Environ Res.* 2018,160:152-82.
98. Zeinomar N, Oskar S, Kehm RD, Sahebzada S, Terry MB. Environmental exposures and breast cancer risk in the context of underlying susceptibility: A systematic review of the epidemiological literature. *Environ Res.* 2020,187:109346.
99. Cohn BA, La Merrill M, Krigbaum NY, Yeh G, Park JS, Zimmermann L, Cirillo PM. DDT Exposure in Utero and Breast Cancer. *J Clin Endocrinol Metab.* 2015,100(8):2865-72.
100. Krigbaum NY, Cirillo PM, Flom JD, McDonald JA, Terry MB, Cohn BA. In utero DDT exposure and breast density before age 50. *Reprod Toxicol.* 2020,92:85-90.
101. McDonald JA, Cirillo PM, Tehranifar P, Krigbaum NY, Engmann NJ, Cohn BA, Terry MB. In utero DDT exposure and breast density in early menopause by maternal history of breast cancer. *Reprod Toxicol.* 2020,92:78-84.
102. Bergman Å, Heindel JJ, Jobling S, Kidd K, Zoeller TR, Organization WH. State of the science of endocrine disrupting chemicals 2012: World Health Organization; 2013.
103. Kajta M, Wójtowicz AK. Impact of endocrine-disrupting chemicals on neural development and the onset of neurological disorders. *Pharmacol Rep.* 2013,65(6):1632-9.
104. Masuo Y, Ishido M. Neurotoxicity of endocrine disruptors: possible involvement in brain development and neurodegeneration. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev.* 2011,14(5-7):346-69.

105. Smith CA, Holahan MR. Reduced hippocampal dendritic spine density and BDNF expression following acute postnatal exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate in male Long Evans rats. *PLoS One*. 2014,9(10):e109522.
106. Dai Y, Yang Y, Xu X, Hu Y. Effects of uterine and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate on spatial memory and NMDA receptor of hippocampus in mice. *Horm Behav*. 2015,71:41-8.
107. Li XJ, Jiang L, Chen L, Chen HS, Li X. Neurotoxicity of dibutyl phthalate in brain development following perinatal exposure: a study in rats. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2013,36(2):392-402.
108. Betz A, Jayatilaka S, Joshi J, Ramanan S, Debartolo D, Pylypiw H, Franke E. Chronic exposure to benzyl butyl phthalate (BBP) alters social interaction and fear conditioning in male adult rats: alterations in amygdalar MeCP2, ERK1/2 and ER α . *Neuro Endocrinol Lett*. 2013,34(5):347-58.
109. Lin H, Yuan K, Li L, Liu S, Li S, Hu G, Lian QQ, Ge RS. In Utero Exposure to Diethylhexyl Phthalate Affects Rat Brain Development: A Behavioral and Genomic Approach. *Int J Environ Res Public Health*. 2015,12(11):13696-710.
110. Diagnosis and classification of diabetes mellitus. *Diabetes Care*. 2011,34 Suppl 1(Suppl 1):S62-9.
111. Hinault C, Caroli-Bosc P, Bost F, Chevalier N. Critical Overview on Endocrine Disruptors in Diabetes Mellitus. *Int J Mol Sci*. 2023,24(5).
112. Alonso-Magdalena P, Quesada I, Nadal A. Endocrine disruptors in the etiology of type 2 diabetes mellitus. *Nat Rev Endocrinol*. 2011,7(6):346-53.
113. Alonso-Magdalena P, Morimoto S, Ripoll C, Fuentes E, Nadal A. The estrogenic effect of bisphenol A disrupts pancreatic beta-cell function in vivo and induces insulin resistance. *Environ Health Perspect*. 2006,114(1):106-12.
114. Batista TM, Alonso-Magdalena P, Vieira E, Amaral ME, Cederroth CR, Nef S, Quesada I, Carneiro EM, Nadal A. Short-term treatment with bisphenol-A leads to metabolic abnormalities in adult male mice. *PLoS One*. 2012,7(3):e33814.
115. La Merrill M, Karey E, Moshier E, Lindtner C, La Frano MR, Newman JW, Buettner C. Perinatal exposure of mice to the pesticide DDT impairs energy expenditure and metabolism in adult female offspring. *PLoS One*. 2014,9(7):e103337.
116. Mohammed MS, Sendra S, Lloret J, Bosch I. Systems and WBANs for Controlling Obesity. *J Healthc Eng*. 2018,2018:1564748.

117. Bastien M, Poirier P, Lemieux I, Després J-P. Overview of epidemiology and contribution of obesity to cardiovascular disease. *Progress in cardiovascular diseases*. 2014,56(4):369-81.
118. Principi N, Esposito S. Antibiotic administration and the development of obesity in children. *Int J Antimicrob Agents*. 2016,47(3):171-7.
119. Casals-Casas C, Desvergne B. Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annu Rev Physiol*. 2011,73:135-62.
120. Baillie-Hamilton PF. Chemical toxins: a hypothesis to explain the global obesity epidemic. *J Altern Complement Med*. 2002,8(2):185-92.
121. Dabeer S, Afjal MA, Ahmad S, Fatima M, Habib H, Parvez S, Raisuddin S. Transgenerational effect of parental obesity and chronic parental bisphenol A exposure on hormonal profile and reproductive organs of preadolescent Wistar rats of F1 generation: A one-generation study. *Hum Exp Toxicol*. 2020,39(1):59-76.
122. Micić D, Polovina S, Micić D, Macut D. Endocrine disrupting chemicals and obesity: the evolving story of obesogens. *Acta Endocrinol (Buchar)*. 2021,17(4):503-8.
123. Grün F, Blumberg B. Endocrine disrupters as obesogens. *Mol Cell Endocrinol*. 2009,304(1-2):19-29.
124. Grün F, Blumberg B. Environmental obesogens: organotins and endocrine disruption via nuclear receptor signaling. *Endocrinology*. 2006,147(6 Suppl):S50-5.
125. Griffin MD, Pereira SR, DeBari MK, Abbott RD. Mechanisms of action, chemical characteristics, and model systems of obesogens. *BMC Biomed Eng*. 2020,2:6.
126. Cai D, Liu T. Hypothalamic inflammation: a double-edged sword to nutritional diseases. *Ann N Y Acad Sci*. 2011,1243:E1-39.
127. Ventura HO. "Read Guyton". *Am J Cardiol*. 2004,93(4):516-7.
128. AC. G. Tıbbi Fizyoloji İstanbul: Nobel Tıp Kitapevi; 2006.
129. Elmquist JK, Elias CF, Saper CB. From lesions to leptin: hypothalamic control of food intake and body weight. *Neuron*. 1999,22(2):221-32.
130. Myers MG, Jr., Olson DP. Central nervous system control of metabolism. *Nature*. 2012,491(7424):357-63.

131. Benoit SC, Air EL, Coolen LM, Strauss R, Jackman A, Clegg DJ, Seeley RJ, Woods SC. The catabolic action of insulin in the brain is mediated by melanocortins. *J Neurosci.* 2002,22(20):9048-52.
132. Bouret SG, Draper SJ, Simerly RB. Formation of projection pathways from the arcuate nucleus of the hypothalamus to hypothalamic regions implicated in the neural control of feeding behavior in mice. *J Neurosci.* 2004,24(11):2797-805.
133. Toda C, Santoro A, Kim JD, Diano S. POMC Neurons: From Birth to Death. *Annu Rev Physiol.* 2017,79:209-36.
134. Cui H, López M, Rahmouni K. The cellular and molecular bases of leptin and ghrelin resistance in obesity. *Nat Rev Endocrinol.* 2017,13(6):338-51.
135. Carter S, Caron A, Richard D, Picard F. Role of leptin resistance in the development of obesity in older patients. *Clin Interv Aging.* 2013,8:829-44.
136. Waseem R, Shamsi A, Mohammad T, Hassan MI, Kazim SN, Chaudhary AA, Rudayni HA, Al-Zharani M, Ahmad F, Islam A. FNDC5/Irisin: Physiology and Pathophysiology. *Molecules.* 2022,27(3).
137. Luo Y, Qiao X, Ma Y, Deng H, Xu CC, Xu L. Disordered metabolism in mice lacking irisin. *Sci Rep.* 2020,10(1):17368.
138. Xiong XQ, Geng Z, Zhou B, Zhang F, Han Y, Zhou YB, Wang JJ, Gao XY, Chen Q, Li YH, Kang YM, Zhu GQ. FNDC5 attenuates adipose tissue inflammation and insulin resistance via AMPK-mediated macrophage polarization in obesity. *Metabolism.* 2018,83:31-41.
139. Huh JY, Panagiotou G, Mougios V, Brinkoetter M, Vamvini MT, Schneider BE, Mantzoros CS. FNDC5 and irisin in humans: I. Predictors of circulating concentrations in serum and plasma and II. mRNA expression and circulating concentrations in response to weight loss and exercise. *Metabolism.* 2012,61(12):1725-38.
140. Timmons JA, Baar K, Davidsen PK, Atherton PJ. Is irisin a human exercise gene? *Nature.* 2012,488(7413):E9-10; discussion E-1.
141. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Boström EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Højlund K, Gygi SP, Spiegelman BM. A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature.* 2012,481(7382):463-8.

142. Xiong XQ, Chen D, Sun HJ, Ding L, Wang JJ, Chen Q, Li YH, Zhou YB, Han Y, Zhang F, Gao XY, Kang YM, Zhu GQ. FNDC5 overexpression and irisin ameliorate glucose/lipid metabolic derangements and enhance lipolysis in obesity. *Biochim Biophys Acta*. 2015,1852(9):1867-75.
143. Liu TY, Shi CX, Gao R, Sun HJ, Xiong XQ, Ding L, Chen Q, Li YH, Wang JJ, Kang YM, Zhu GQ. Irisin inhibits hepatic gluconeogenesis and increases glycogen synthesis via the PI3K/Akt pathway in type 2 diabetic mice and hepatocytes. *Clin Sci (Lond)*. 2015,129(10):839-50.
144. Guo Y, Wang L, Kannan K. Phthalates and parabens in personal care products from China: concentrations and human exposure. *Arch Environ Contam Toxicol*. 2014,66(1):113-9.
145. Benjamin S, Masai E, Kamimura N, Takahashi K, Anderson RC, Faisal PA. Phthalates impact human health: Epidemiological evidences and plausible mechanism of action. *J Hazard Mater*. 2017,340:360-83.
146. Heudorf U, Mersch-Sundermann V, Angerer J. Phthalates: toxicology and exposure. *Int J Hyg Environ Health*. 2007,210(5):623-34.
147. Abe Y, Sugita T, Wakui C, Niino T, Yomota C, Ishiwata H, Tanamoto K, Maitani T. [Material labeling of soft plastic toys and plasticizers in polyvinyl chloride products]. *Shokuhin Eiseigaku Zasshi*. 2003,44(3):168-74.
148. Silva MJ, Reidy JA, Preau JL, Jr., Needham LL, Calafat AM. Oxidative metabolites of diisononyl phthalate as biomarkers for human exposure assessment. *Environ Health Perspect*. 2006,114(8):1158-61.
149. Elsis AE, Carter DE, Sipes IG. Dermal absorption of phthalate diesters in rats. *Fundam Appl Toxicol*. 1989,12(1):70-7.
150. Wang R, Chen J, Cui Z, Li Y, Gao Q, Miao Y, Wang H, Xiong B. Exposure to diisononyl phthalate deteriorates the quality of porcine oocytes by inducing the apoptosis. *Ecotoxicol Environ Saf*. 2023,254:114768.
151. Nogueira G, Solon C, Carraro RS, Engel DF, Ramalho AF, Sidarta-Oliveira D, Gaspar RS, Bombassaro B, Vasques AC, Geloneze B, Vinolo MA, Donato Junior J, Velloso LA. Interleukin-17 acts in the hypothalamus reducing food intake. *Brain Behav Immun*. 2020,87:272-85.
152. Obradovic M, Sudar-Milovanovic E, Soskic S, Essack M, Arya S, Stewart AJ, Gojobori T, Isenovic ER. Leptin and Obesity: Role and Clinical Implication. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2021,12:585887.

153. Horvath TL. The hardship of obesity: a soft-wired hypothalamus. *Nat Neurosci.* 2005,8(5):561-5.
154. Morton GJ, Cummings DE, Baskin DG, Barsh GS, Schwartz MW. Central nervous system control of food intake and body weight. *Nature.* 2006,443(7109):289-95.
155. Rossi M, Kim M, Morgan D, Small C, Edwards C, Sunter D, Abusnana S, Goldstone A, Russell S, Stanley S. A C-terminal fragment of Agouti-related protein increases feeding and antagonizes the effect of alpha-melanocyte stimulating hormone in vivo. *Endocrinology.* 1998,139(10):4428-31.
156. Wagoner B, Hausman DB, Harris RB. Direct and indirect effects of leptin on preadipocyte proliferation and differentiation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2006,290(6):R1557-64.
157. Ahima RS. Revisiting leptin's role in obesity and weight loss. *J Clin Invest.* 2008,118(7):2380-3.
158. Fruhwürth S, Vogel H, Schürmann A, Williams KJ. Novel Insights into How Overnutrition Disrupts the Hypothalamic Actions of Leptin. *Front Endocrinol (Lausanne).* 2018,9:89.
159. Cummings DE, Purnell JQ, Frayo RS, Schmidova K, Wisse BE, Weigle DS. A preprandial rise in plasma ghrelin levels suggests a role in meal initiation in humans. *Diabetes.* 2001,50(8):1714-9.
160. Lucidi P, Murdolo G, Di Loreto C, Parlanti N, De Cicco A, Fatone C, Taglioni C, Fanelli C, Broglio F, Ghigo E, Bolli GB, Santeusano F, De Feo P. Metabolic and endocrine effects of physiological increments in plasma ghrelin concentrations. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2005,15(6):410-7.
161. Buser MC, Murray HE, Scinicariello F. Age and sex differences in childhood and adulthood obesity association with phthalates: analyses of NHANES 2007-2010. *Int J Hyg Environ Health.* 2014,217(6):687-94.
162. Majeed KA, Ur Rehman H, Yousaf MS, Zaneb H, Rabbani I, Tahir SK, Rashid MA. Sub-chronic exposure to low concentration of dibutyl phthalate affects anthropometric parameters and markers of obesity in rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2017,24(32):25462-7.
163. Xu J, Zhou L, Wang S, Zhu J, Liu T, Jia Y, Sun D, Chen H, Wang Q, Xu F, Zhang Y, Liu H, Zhang T, Ye L. Di-(2-ethylhexyl)-phthalate induces glucose metabolic disorder in adolescent rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2018,25(4):3596-607.

164. Marsman D. NTP technical report on the toxicity studies of Dibutyl Phthalate (CAS No. 84-74-2) Administered in Feed to F344/N Rats and B6C3F1 Mice. *Toxic Rep Ser.* 1995,30:1-g5.
165. Boberg J, Metzдорff S, Wortziger R, Axelstad M, Brokken L, Vinggaard AM, Dalgaard M, Nellemann C. Impact of diisobutyl phthalate and other PPAR agonists on steroidogenesis and plasma insulin and leptin levels in fetal rats. *Toxicology.* 2008,250(2-3):75-81.
166. Hayashi Y, Ito Y, Naito H, Tamada H, Yamagishi N, Kondo T, Ishikawa T, Gonzalez FJ, Nakajima T. In utero exposure to di(2-ethylhexyl)phthalate suppresses blood glucose and leptin levels in the offspring of wild-type mice. *Toxicology.* 2019,415:49-55.
167. Nieminen P, Lindström-Seppä P, Mustonen AM, Mussalo-Rauhamaa H, Kukkonen JV. Bisphenol A affects endocrine physiology and biotransformation enzyme activities of the field vole (*Microtus agrestis*). *Gen Comp Endocrinol.* 2002,126(2):183-9.
168. MacKay H, Patterson ZR, Abizaid A. Perinatal Exposure to Low-Dose Bisphenol-A Disrupts the Structural and Functional Development of the Hypothalamic Feeding Circuitry. *Endocrinology.* 2017,158(4):768-77.
169. Bao JF, She QY, Hu PP, Jia N, Li A. Irisin, a fascinating field in our times. *Trends Endocrinol Metab.* 2022,33(9):601-13.
170. Moreno-Navarrete JM, Ortega F, Serrano M, Guerra E, Pardo G, Tinahones F, Ricart W, Fernández-Real JM. Irisin is expressed and produced by human muscle and adipose tissue in association with obesity and insulin resistance. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013,98(4):E769-78.
171. Tekin S, Erden Y, Ozyalin F, Cigremis Y, Colak C, Sandal S. The effects of intracerebroventricular infusion of irisin on feeding behaviour in rats. *Neuroscience letters.* 2017,645:25-32.
172. Al-Obaidi ZAF, Erdogan CS, Sümer E, Özgün HB, Gemici B, Sandal S, Yilmaz B. Investigation of obesogenic effects of hexachlorobenzene, DDT and DDE in male rats. *Gen Comp Endocrinol.* 2022,327:114098.
173. Liu X, Li G, Zhong J, Rang O, Ou G, Qin X, Tang Y, Wang M. Impact of combined chronic exposure to low-dose bisphenol A and fructose on serum adipocytokines and the energy target metabolome in white adipose tissue. *Hum Exp Toxicol.* 2023,42:9603271231217992.

174. Marraudino M, Bo E, Carlini E, Farinetti A, Ponti G, Zanella I, Di Lorenzo D, Panzica GC, Gotti S. Hypothalamic Expression of Neuropeptide Y (NPY) and Pro-OpioMelanoCortin (POMC) in Adult Male Mice Is Affected by Chronic Exposure to Endocrine Disruptors. *Metabolites*. 2021,11(6).
175. Eckstrum KS, Edwards W, Banerjee A, Wang W, Flaws JA, Katzenellenbogen JA, Kim SH, Raetzman LT. Effects of Exposure to the Endocrine-Disrupting Chemical Bisphenol A During Critical Windows of Murine Pituitary Development. *Endocrinology*. 2018,159(1):119-31.
176. Tanbek K, Yilmaz U, Gul S, Koç A, Gul M, Sandal S. Effects of glucagon as a neurohormone on the central nervous system and glucose homeostasis. *Eur Rev Med Pharmacol Sci*. 2024,28(1):163-79.