



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI

YÜKSEK LİSANS TEZİ

BİSFENOL A'YA KARŞI VANİLİK ASİT UYGULAMASININ
KORUYUCU ETKİSİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'LERDE
GELİŞİMSEL, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE
BELİRLENMESİ

GAMZE ATAMAN

DANIŞMAN

DOÇ. DR. FAHRİYE ZEMHERİ NAVRUZ

BARTIN-2024



T.C.

BARTIN ÜNİVERSİTESİ

LİSANSÜSTÜ EĞİTİM ENSTİTÜSÜ

MOLEKÜLER BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

BİSFENOL A'YA KARŞI VANİLİK ASİT UYGULAMASININ KORUYUCU
ETKİSİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*'LERDE GELİŞİMSEL,
BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Gamze ATAMAN

JÜRİ ÜYELERİ

Danışman :

Üye :

Üye :

BARTIN-2024

KABUL VE ONAY

Gamze ATAMAN tarafından hazırlanan “BİSFENOL A’YA KARŞI VANİLİK ASİT UYGULAMASININ KORUYUCU ETKİSİNİN *DROSOPHILA MELANOGASER*'LERDE GELİŞİMSEL, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ” başlıklı bu çalışma, 28.11.2024 tarihinde yapılan savunma sınavı sonucunda oy birliği ile başarılı bulunarak jürimiz tarafından yüksek lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan :

Üye :

Üye :

Bu tezin kabulü Lisansüstü Eğitimi Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun/...../20... tarih ve 20...../.....-..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Mustafa Sabri GÖK
Enstitü Müdürü

BEYANNAME

Bartın Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü tez yazım kılavuzuna göre Doç. Dr. Fahriye ZEMHERİ NAVRUZ danışmanlığında hazırlamış olduğum “BİSFENOL A’YA KARŞI VANİLİK ASİT UYGULAMASININ KORUYUCU ETKİSİNİN *DROSOPHILA MELANOGASTER*’LERDE GELİŞİMSEL, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ” başlıklı yüksek lisans tezimin bilimsel etik değerlere ve kurallara uygun, özgün bir çalışma olduğunu, aksinin tespit edilmesi halinde her türlü yasal yaptırımını kabul edeceğimi beyan ederim.

29.11.2024

Gamze ATAMAN

ÖN SÖZ

Tezimin ve çalışmalarımın tüm aşamalarında bana her türlü desteğini, yardımını esirgemeyen, bilgi birikimi ve tecrübesiyle bana yol gösterirken aynı zamanda bana göstermiş olduğu hoşgörü ve sabrından dolayı değerli danışman hocam Doç. Dr. Fahriye ZEMHERİ NAVRUZ' a en içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez sürecim boyunca değerli Hocam Doç. Dr. Yavuz ERDEN'e gösterdiği anlayış, bilgi ve deneyim paylaşımı için teşekkürlerimi sunarım.

Hayatım boyunca her sıkıntıda, zorlukta yanımda olan, el ele yürüdüğüm ve bana olan desteğini esirgemeyen var oluşumun sebebi, fedakarlıklarını asla ödeyemeyeceğim, beni bugünlere getiren, sabırla, sevgiyle büyüten, bana inanıp güvenen en değerli kaynağım canım annem İlknur ATAMAN' a ve canım babam Erdoğan ATAMAN' a desteğini hiç esirgemeyen, yanımda olan canım kardeşim Gizem ATAMAN' a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu tez çalışmasını 223Z168 numaralı ve “Bisfenol A'ya Karşı Vanilik Asit Uygulamasının Koruyucu Etkisinin *Drosophila melanogaster*'lerde Gelişimsel, Biyokimyasal ve Moleküler Düzeyde Belirlenmesi” isimli projesi ile TÜBİTAK 1002-A Hızlı Destek Projeleri Birimi tarafından desteklenmiştir, teşekkürlerimi ve saygılarımı sunarım.

Gamze ATAMAN

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

BİSFENOL A'YA KARŞI VANİLİK ASİT UYGULAMASININ KORUYUCU ETKİSİNİN DROSOPHİLA MELANOGASTER'LERDE GELİŞİMSEL, BİYOKİMYASAL VE MOLEKÜLER DÜZEYDE BELİRLENMESİ

Gamze ATAMAN

Bartın Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

Tez Danışmanı: Doç. Dr. Fahriye ZEMHERİ NAVRUZ

Bartın-2024, sayfa: 63

Sanayi ve teknolojinin gelişimiyle birlikte çevre kirliliği artmakta ve bunun canlı sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri endişe yaratmaktadır. Bisfenol A (BFA), modern üretim uygulamaları yoluyla çevreye salınan ve tüm canlı organizmaları, bakterilerden ökaryotlara kadar etkileyen, yaygın bir toksik endokrin bozucudur. Vanilik asit (VA), çeşitli gıdalarda ve tıbbi bitkilerde bulunan, kozmetik, aroma verici ve polimer sektörlerinde geniş bir kullanım alanına sahip fenolik bir bileşiktir. Özellikle antioksidan, anti-enflamatuar ve nöroprotektif özellikleriyle dikkat çeken VA'nın biyolojik etkileri üzerine yapılan çalışmalar sınırlıdır. Bu çalışmada, bir model organizma olan *Drosophila melanogaster* (meyve sineği) üzerinde BFA ile indüklenen oksidatif strese karşı VA'nın koruyucu etkisinin çeşitli parametrelerle belirlenmesi amaçlandı. Bu kapsamda, endokrin bozucu kimyasal BFA (25 mM) ve bilinen antioksidan koruyucu VA'nın (0.1, 0.5 ve 1 mg/L) çeşitli dozlarına tek başına ve kombinasyon halinde maruz bırakıldı. BFA ile muamale edilen ortamda yetişen *D. melanogaster* bireylerinde; reaktif oksijen türlerinde (ROS) ve lipid peroksidasyonunda (LPO) artış gözlenirken, antioksidan enzim aktivitelerinde (SOD, CAT, GSH) azalma; Comet testi ile DNA hasarında artış; çeşitli immün ve hücresel stres genleri (SOD, CAT, *gclc* ve *hsp70*) ile detoksifikasyon yolunda rol oynayan *Keap1* ve

CncC=Nrf2 gen ekspresyon seviyelerinde artış; gelişimsel parametrelerde (larval toksisite, larva sürünme testi, tırmanma testi, hayatta kalma oranı, gıda alım analizi ve larva vücut ağırlığı ve uzunluğu değişimlerinde azalma olduğu ortaya çıkarıldı.

BFA'ya maruz kalan gruba 0.1, 0.5 ve 1 mg/L dozlarında uygulanan VA tedavisi sonucunda artan VA dozlarına bağlı olarak lipid peroksidasyonunun azaldığı, antioksidan enzim aktivitelerinin iyileştiği ve DNA hasarında düzelme olduğu gözlemlendi. VA ayrıca larvaların gelişim parametrelerinde de iyileştirici etkiler gösterdi. Bu çalışma, çevresel toksinlere karşı doğal bileşiklerin potansiyel koruyucu etkilerini ortaya koymakta ve BFA'nın zararlı etkilerinin doğal bir antioksidan olan VA'nın azaltabildiği gözlemlendi. Bu bulgular, hem çevre hem de insan sağlığı için önem arz etmekte ve doğal bileşiklerin endüstriyel toksinlere karşı koruyucu bir rol üstlenebileceğini desteklemektedir.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A, *D. melanogaster*, comet analizi, gen ekspresyonu, genotoksisite, gelişimsel parametreler, vanilik asit

ABSTRACT

M.Sc. Thesis

VANILLIC ACID AS A PROTECTIVE AGENT AGAINST BISPHENOL A: EFFECTS ON DEVELOPMENTAL, BIOCHEMICAL, AND MOLECULAR PARAMETERS IN *DROSOPHILA MELANOGASTER*

Gamze ATAMAN

Bartın University

Graduate School

Department of Molecular Biology and Genetics

Thesis Advisor: Assoc. Prof. Dr. Fahriye ZEMHERİ NAVRUZ

Bartın-2024, pp: 63

The progression of industry and technology has exacerbated environmental pollution, prompting concerns regarding its detrimental effects on biological health. Bisphenol A (BPA), a prevalent toxic endocrine disruptor, is widely disseminated into the environment via industrial practices, impacting a vast spectrum of organisms from bacteria to eukaryotes. Vanillic acid (VA), a phenolic compound with a broad application in cosmetics, flavoring agents, and polymer industries, is notable for its antioxidant, anti-inflammatory, and neuroprotective properties, although its biological effects remain underexplored. This study aimed to evaluate the protective effects of VA against BPA-induced oxidative stress in the model organism *Drosophila melanogaster* through various biological and molecular parameters.

In this research, *D. melanogaster* was exposed to BPA (25 mM) both independently and in conjunction with VA at different concentrations (0.1, 0.5, and 1 mg/L). BPA exposure led to increased levels of reactive oxygen species (ROS) and lipid peroxidation (LPO), along with reduced antioxidant enzyme activities (SOD, CAT, GSH). Additionally, significant DNA damage was observed via the Comet assay, along with upregulated expression of immune and cellular stress-related genes (SOD, CAT, gclc, and hsp70) and detoxification-

related genes (Keap1 and CncC=Nrf2). Developmental parameters, including larval toxicity, larval crawling and climbing behaviors, survival rate, food intake, and changes in body weight and length, also demonstrated adverse effects.

The application of VA at varying doses resulted in a dose-dependent reduction in LPO, enhancement of antioxidant enzyme activities, and an improvement in DNA integrity, while ameliorating the developmental impacts on larvae. This study suggests that VA may mitigate the harmful effects of BPA, offering potential as a natural protective agent against industrial toxins. These findings are relevant for both environmental and public health, underscoring the role of natural compounds in counteracting the impact of pervasive environmental toxins.

Keywords: Bisphenol A, *Drosophila melanogaster*, comet assay, gene expression, genotoxicity, developmental parameters, vanillic acid

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY.....	ii
BEYANNAME	iii
ÖN SÖZ	iv
ÖZET	v
ABSTRACT	vii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xii
TABLolar DİZİNİ.....	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	xvi
1. GİRİŞ.....	1
1.1 Endokrin Bozucu Kimyasallar.....	1
1.2 Bisfenol A	3
1.2.1. BFA'nın Kimyasal Yapısı.....	4
1.2.2 BFA'nın Kullanım Alanları ve Maruz Kalma Yolları.....	5
1.2.3. BFA'nın olası zararlı etkileri.....	8
1.3 VANİLİK ASİT	9
1.3.1. Vanilik Asit'in Kimyasal Yapısı.....	10
1.3.2 Vanilik Asit'in Uygulama Alanları	11
1.3.3 Vanilik Asit'in İyileştirici Etkileri	12
1.3.4 Vanilik Asit'in Biyolojik İşlevselliği	13
1.4 <i>Drosophila melanogaster</i>	14
1.4.1 <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Sistematığı.....	15
1.4.2 <i>Drosophila melanogaster</i> ' in Yaşam Döngüsü.....	15
1.4.3 <i>Drosophila melanogaster</i> 'in Morfolojik Yapısı.....	16
1.5 Genetik Toksikoloji.....	18
2. LİTERATÜR ÖZETİ.....	21
3. MATERYAL METOD	23
3.1 Kimyasallar	23
3.2 <i>Drosophila melanogaster</i> Stoğu ve Kültür	23
3.3 Deney Düzenneği.....	24

3.4 Gelişimsel Parametreler.....	25
3.4.1 Larval Toksisite	25
3.4.2 Larva Sürünme Testi	25
3.4.3 Tırmanma Testi	26
3.4.4 Hayatta kalma testi	27
3.4.5. Larva Gıda Alım Analizi	27
3.4.6 Larva Vücut Ağırlığı ve Uzunluğu.....	28
3.5 Biyokimyasal Analizler	28
3.5.1 MDA.....	28
3.5.2 GSH.....	29
3.5.3 SOD	29
3.5.4 CAT	29
3.5.5 Protein.....	29
3.6 Moleküler Analizler	30
3.6.1 Comet Testi	30
3.6.2 Gen Ekspresyonu Analizi	32
3.7 İstatistiksel analiz	33
4. BULGULAR VE TARTIŞMA	34
4.1 Bulgular.....	34
4.1.1 Gelişimsel Parametre Bulguları	34
4.1.1.1 Larval Toksisite Bulguları.....	34
4.1.1.2 Larval sürünme Testi Bulguları.....	36
4.1.1.3 Tırmanma Testi Bulguları.....	37
4.1.1.4 Hayatta kalma Testi Bulguları.....	38
4.1.1.5 Larva Gıda alım Analizi Bulguları	39
4.1.1.6 Larva Vücut Ağırlığı ve Uzunluğu Bulguları	40
4.1.2 Biyokimyasal analiz Bulguları	41
4.1.2.1 MDA Bulguları	42
4.1.2.2 GSH Bulguları	42
4.1.2.3 SOD Bulguları.....	43
4.1.2.4 CAT Bulguları	44
4.1.3 Moleküler Analiz Bulguları.....	45

4.1.3.1 Comet Testi Bulguları.....	45
4.1.3.2 Gen ekspresyonu Bulguları	46
4.2 Tartışma	50
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	52
6. KAYNAKLAR.....	53
ÖZGEÇMİŞ.....	63



ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
No	No
1.1: Endokrin bozuculara maruz kalma yollarından bazıları gösterilmiştir	1
1.2: Endokrin bozucu kimyasalların etki ettiği mekanizmalar	2
1.3: Bisfenol A'nın sentezi	5
1.4: Termal kağıtlarda BFA salınımı üzerine sürenin etkisi	7
1.5: BFA'nın etki ettiği hücresel mekanizmalar	9
1.6: Oksidasyon reaksiyonunun sulu çözelti ortamında gerçekleşmesi	10
1.7: <i>D. melanogaster</i> ve insanlar arasındaki yapıları ve işlevleri ile ilgili benzer yapılar veya organlar	14
1.8: <i>D. melanogaster</i> 'in gelişim evreleri	16
1.9: Dişi (A, B, C) ve erkek (D, E, F) <i>D. melanogaster</i> 'in morfolojik yapısı	17
1.10: Doğrudan ve dolaylı etkili genotoksik maddelerin ve diğer moleküllerin karsinogenezde rol oynayabildiği mekanizmalara genel bir bakış	19
3.1: BFA ve VA'nın <i>D. melanogaster</i> 'lere verilme sırası ve deney grupları	24
3.2: Larval toksisite aşaması	25
3.3: Larva sürünme testi aşamaları	26
3.4: Tırmanma testi aşamaları	26
3.5: Hayatta kalma deneyi aşamaları	27
3.6: Yiyecek alımı analizi aşamaları	27
4.1: Bisfenol A (BFA; 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen pupa oluşum sayıları	35
4.2: Bisfenol A (BFA; 25mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen dişi sinek oluşum sayıları	35
4.3: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen erkek sinek oluşum sayıları	36
4.4: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen larval sürünme mesafesi	37

4.5: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile tırmanma gösteren sinek sayıları.....	38
4.6: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen ömür uzunluğu süresi.	39
4.7: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gıda alım absorbans sonuçları.	40
4.8: Bisfenol A (BFA; 25mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen larva uzunlukları	41
4.9: Bisfenol A (BFA; 25mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen larva ağırlıkları.....	41
4.10: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin MDA seviyeleri üzerine etkileri.	42
4.11: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin GSH seviyeleri üzerine etkileri.	43
4.12: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin SOD aktivitesi üzerine etkileri.	44
4.13: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin CAT aktivitesi üzerine etkileri.	45
4.14: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin DNA hasarı üzerine etkileri.	46
4.15: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin SOD mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri.....	47

4.16: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin <i>CAT</i> mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri.....	47
4.17: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin <i>gclc</i> mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri.....	48
4.18: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin <i>hsp70</i> mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri.....	48
4.19: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin <i>Nrf2</i> mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri.....	49
4.20: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin <i>Keap1</i> mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri.....	49

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo	Sayfa
No	No
1.1: BFA'nın genel özellikleri.....	5
1.2: Aldehitin (Vanilin) kuvvetli karıştırma ile hava altında oksidasyonu sonucu VA oluşumu.....	10
1.3: VA'nın genel özellikleri.....	11
1.4: <i>D. melanogaster</i> 'in sistematik sınıflandırılması	15

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

°C	: santigrat derece
µL	: mikrolitre
♀♀	: dişi
♂♂	: erkek
Cm	: santimetre
Dk	: dakika
g	: gram
g/mol	: gram/mol
kg	: kilogram
M	: molar
mL	: mililitre
mM	: milimolar
mm	: milimetre
pH	: power of hydrogen
H ₂ O	: su
%	: yüzde
mg/L	: miligram/litre
µg/kg	: mikrogram/kilogram
mg/kg	: miligram/kilogram
Pd/C	: karbon üzerinde paladyum
NaBH ₄	: sodyum borhidrür
KOH	: potasyum hidroksit
OH·	: hidroksil molekülü

KISALTMALAR

ANOVA	: Analysis of Variance
DMSO	: Dimetilsülfoksit
BFA	: Bisfenol A
IUPAC	: International Union of Pure and Applied Chemistry
CAS	: Chemical Abstracts Service
Va	: Vanilik Asit
AB	: Avrupa Birliği
ROS	: Reaktif oksijen türleri
DDT	: Pestisitler
AMPK	: Adenosin Monofosfatla Aktive Edilen Protein Kinaz
NF-κB	: Nükleer Faktör Kappa B
JAK	: Januz Kinaza
STAT	: Sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü
NLRP	: Nod128; benzeri reseptör ailesi proteini
TLR'ler	: Toll benzeri reseptörler
GSH- Px	: Glutasyon peroksidaz
GSH	: Glutasyon
HO-1	: Heme oksijenaz
iNOS	: Nitrit oksijen sentaz
SOD	: Süperoksit dismutaz
mTOR	: Rapamisinin Memeli Hedefi
MAPK	: Mitojenle Aktifleştirilen Sinyal Proteinleri

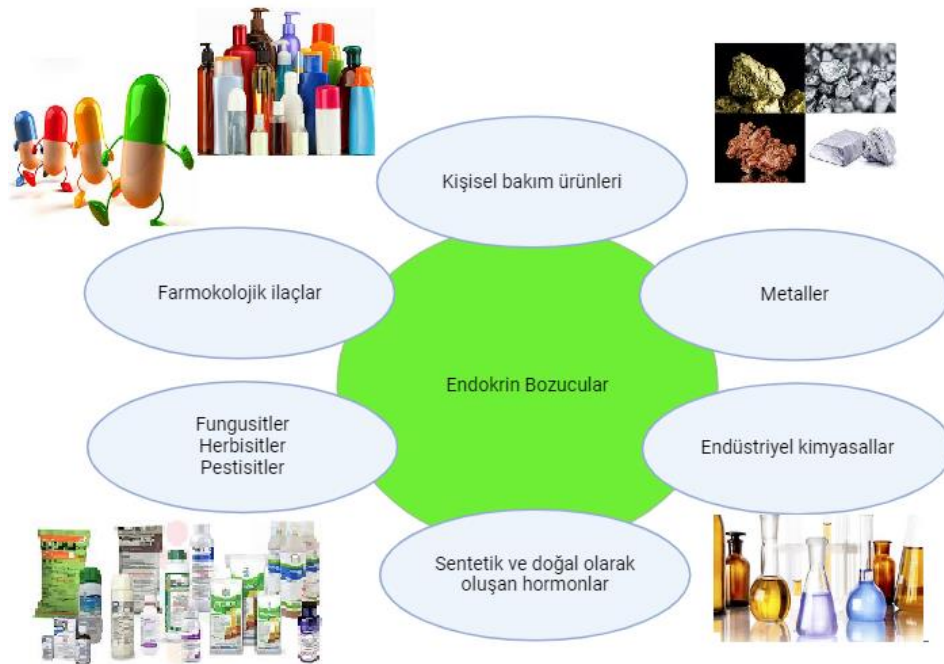
1. GİRİŞ

Çevresel faktörler, canlı organizmaların genetik yapısını ve biyolojik süreçlerini etkileyerek, sağlık ve gelişim üzerinde önemli etkilere yol açabilmektedir. Bu çevresel faktörlerden biri endokrin bozucu kimyasallardır (Vandenberg vd., 2012).

1.1 Endokrin Bozucu Kimyasallar

Günümüzde endokrin bozucu kimyasalların çevre ve insan sağlığı üzerindeki etkilerini araştıran çalışmalar büyük ilgi görmektedir. Bu tür kimyasallar, endokrin sistemin normal işleyişini bozarak hem bireylerde hem de sonraki kuşaklarda olumsuz etkiler yaratabilir (Vandenberg, 2021). Endokrin bozucu kimyasalların çoğu lipofilik özellik gösterir ve yağ dokusunda birikebilir, bu nedenle vücutta uzun bir yarı ömre sahiptir ve toksik etkileri zamanla birikebilir (Yılmaz, 2020).

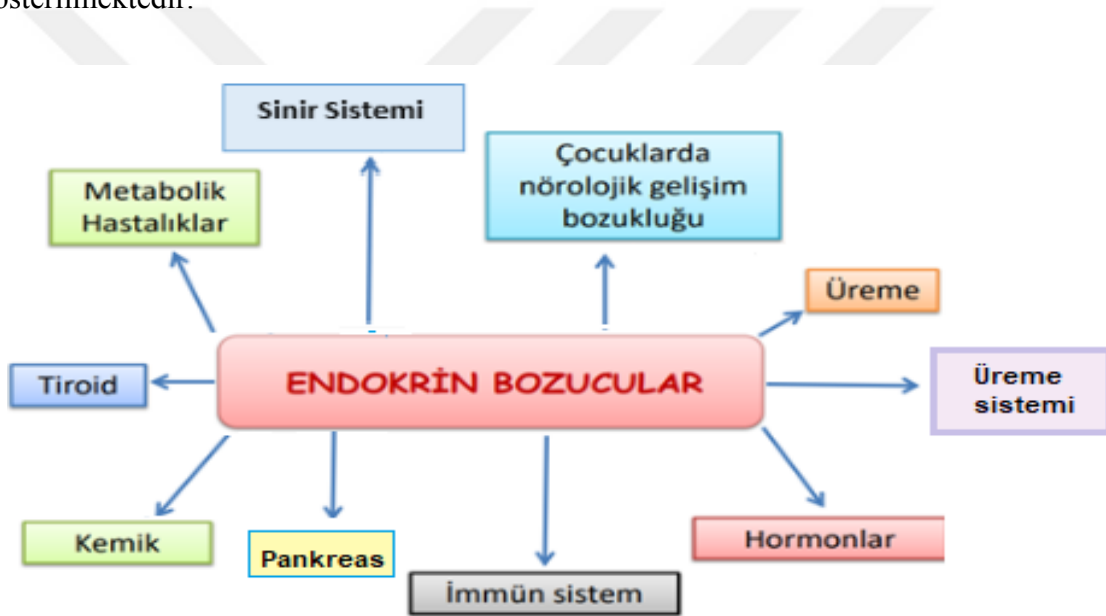
İnsanlar, çeşitli kaynaklardan endokrin bozucu kimyasallara maruz kalmaktadır. Bu kaynaklar arasında gıdalar, ambalaj malzemeleri, kozmetikler, ilaçlar ve daha birçok ürün yer almaktadır (Yang vd., 2015). Şekil 1.1'de gösterildiği üzere, bu kaynakların yaygınlığı ve günlük yaşamda sık kullanımı maruziyet riskini artırmaktadır.



Şekil 1.1: Endokrin bozuculara maruz kalma yollarından bazıları gösterilmiştir.

Endokrin bozucu kimyasallara karşı gösterilen toksik tepkilerde en kritik faktörlerden biri maruziyet yaşıdır. Özellikle prenatal ve erken postnatal dönemlerde maruziyet, toksik etkilerin daha ciddi boyutlarda ortaya çıkmasına yol açabilir (Svensson vd., 2021). Bu dönemlerde biyolojik sistemlerin hızla gelişmesi ve olgunlaşmamış olması, endokrin bozucu kimyasalların zararlı etkilerine karşı daha savunmasız hale getirir.

Bununla birlikte, endokrin bozucu kimyasalların toksik etki mekanizmaları tam olarak anlaşılmamış olsa da, oksidatif stres, genotoksik etkiler, epigenetik değişimler, nükleer reseptörlerle etkileşim ve endojen hormonlara duyarlılığın artması gibi çeşitli mekanizmalar aracılığıyla toksik etki yaratabilecekleri düşünülmektedir (Fendoğlu vd., 2019). Şekil 1.2'de endokrin bozucu kimyasalların etkilediği bazı mekanizmalar gösterilmektedir.



Şekil 1.2: Endokrin bozucu kimyasalların etki ettiği mekanizmalar.

Çevreye salınan bazı kimyasallar, hayvanların ve insanların endokrin fonksiyonlarını etkileyen doğal hormonları taklit ettikleri için endokrin bozucu kimyasallar olarak bilinirler (Markey vd., 2003). Yakın zamanda Avrupa Birliği, yaklaşık 900 kimyasal maddeyi endokrin bozucu olarak tanımlamış veya değerlendirmiştir (Czarny vd., 2023). Endokrin aktiviteye sahip iyi bilinen maddeler arasında şunlar bulunmaktadır:

- Hava kirliliğine neden olan maddeler
- Arsenik
- Parabenler

- Fitalatlar
- Alev geciktiriciler
- Dioksin, kalıcı organik kirleticiler (POPs), PCB'ler
- Pestisitler (ör. DDT)
- Organotinler (hidrokarbon içeren maddeler)
- Antropojenik kimyasallar (ör. sentetik hormonlar, dietilstilbestrol, 17- α -etinilestradiol)
- Polisiklik aromatik hidrokarbonlar ve poliklorlu bifeniller
- Bisfenol A ve türevleri
- Doğal olarak oluşan hormonlar (estron, estradiol, estriol, progesteron, testosteron) ve fitoöstrojenler (Şahin, 2014).

Bisfenol A (BFA), dünya genelinde en yüksek üretim hacmine sahip kimyasallardan biri olup, çeşitli endüstriyel uygulamalarda geniş ölçüde kullanılmaktadır (Deniz ve Yavuz, 2015). Yüksek üretim hacmi ve birçok alanda yaygın kullanımı, çevre kirliliğine yol açarak insanları kaçınılmaz olarak BFA maruziyetine maruz bırakmaktadır (Correia-Sá vd., 2017). İnsanlar üzerinde yaygın bir maruziyet yaratması nedeniyle, bu kimyasal bilimsel araştırmalarda büyük ilgi görmektedir (Izzotti vd., 2009). BFA ayrıca su (yeraltı, deniz, okyanus ve içme suları), toz, toprak, kanalizasyon, iç ve dış hava örnekleri gibi çeşitli çevresel örneklerde de tespit edilmiştir (Vandenberg vd., 2007). BFA gibi bileşikler, çeşitli organizmalar için yaşamsal kaynaklar olan toprak ve su kaynaklarını kirleten yaygın çevresel toksinler haline gelmiştir (Liu vd., 2021). Örneğin, BFA konsantrasyonları su kütlelerinde yaklaşık 15 ng/ml, havada ise 100 ng/m³'ün üzerindedir (Nath vd., 2022). Bu durum, BFA'nın çevre ve sağlık üzerindeki potansiyel etkileri konusunda ciddi endişelere yol açmaktadır.

1.2 Bisfenol A

BFA veya 4,4'-(propane-2,2-diyl)diphenol, ilk kez 1891 yılında Rus kimyager A. P. Dianin tarafından sentezlenmiştir (Küçükbasmacı, 2022). Polikarbonat plastikler ve epoksi reçinelerin üretiminde geniş endüstriyel uygulama alanlarına sahip olan BFA, 50 yılı aşkın süredir kullanılan sentetik bir kimyasaldır (Bousoumah vd., 2021).

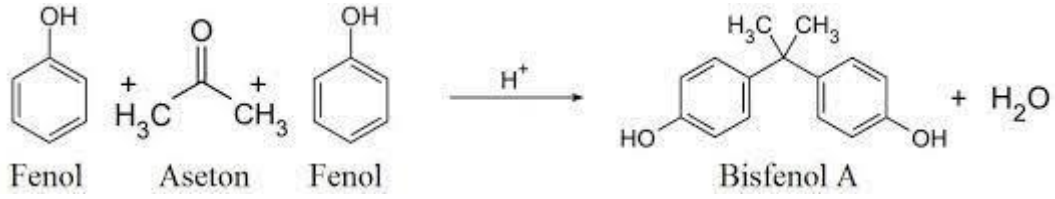
Başlangıçta kemirgenlerde yapay östrojen olarak kullanılmak üzere tasarlanan BFA, yapılan çalışmalarla yapısındaki dietilstilbestrol molekülünün bu etkiyi sağlamakta daha etkili olduğu anlaşıncı bu amaçla kullanılmaktan vazgeçilmiştir. Ancak, ilerleyen yıllarda BFA, çapraz bağlayıcı özellikleri nedeniyle polikarbonat üretiminde, yapıştırıcı kimyasal reçinelerde ve çeşitli plastiklerin imalatında diğer kimyasallarla birleştirilerek yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır (Küçükbasmacı, 2022).

BFA'nın tarihsel gelişimine bakıldığında:

- **1891 yılında** Rus kimyager A. P. Dianin tarafından ilk sentezi gerçekleştirilmiştir.
- **1930'larda** kimyager Charles Edward Dodds, BFA'yı yapay bir östrojen olarak tanımlamıştır.
- **1950'lerden itibaren**, sert polikarbonat plastik ve epoksi reçine üretiminde kullanılmaktadır (Vogel, 2009).
- **1960'lardan beri**, gıda ambalajlarında yaygın olarak kullanılan BFA, 1996 yılında endokrin bozucu özellikleri nedeniyle dikkat çekmeye başlamıştır (Tan vd., 2022).
- **1980'lerde**, BFA'nın yıllık üretimi 1 milyon ton iken, günümüzde bu miktar 8 milyon tona ulaşmıştır (Kim vd., 2020).
- **2008 yılında**, Kanada Çevre Departmanı, Bisfenol A'yı toksik bir madde olarak ilan etmiştir (Vogel, 2009).
- **2010 yılında** Kanada, BFA'nın biberonlarda kullanımını yasaklayan ilk ülke olarak bu konuda öncülük etmiştir (Usman ve Ahmad, 2016).
- **2011 yılında**, Avrupa Birliği, bebek biberonlarında BFA kullanımını yasaklayan kanunu yürürlüğe koymuştur (Pedersen vd., 2015).
- **2012 yılında** BFA üretimi, 4,7 milyon ton sınırını aşarak yıllık 372.000 tonluk bir artış göstermiştir (Tan vd., 2022).

1.2.1. BFA'nın Kimyasal Yapısı

Kapalı formülü $C_{15}H_{16}O_2$ ve molekül ağırlığı 228,29 g/mol olan BFA'nın kimyasal yapısı, Şekil 1.3'te gösterildiği üzere, iki fenol grubunun bir aseton birimi ile düşük pH'da gerçekleştirilen kondensasyon reaksiyonu sonucunda birbirine bağlanmasıyla oluşan bir moleküldür. Bu reaksiyon sonucunda %99-99,8 saflık aralığında, beyaz renkli ve katı halde BFA elde edilebilmektedir (Prokop vd., 2004).



Şekil 1.3: Bisfenol A'nın sentezi (Prokop vd., 2004).

Bilimsel literatüre göre, BFA'nın oda sıcaklığındaki yoğunluğu genellikle 1,1 ile 1,2 g/cm³ arasında değişmektedir. BFA, etanol, aseton ve dimetilsülfoksit (DMSO) gibi organik çözücülerde oldukça iyi çözünme özelliğine sahipken (Tsai, 2006), su içerisindeki çözünürlüğü yaklaşık 120 mg/L'dir (Johnson ve Harvey, 2002). Tablo 1.1'de BFA'nın genel özellikleri listelenmiştir.

Tablo 1.1: BFA'nın genel özellikleri

Genel adı	Bisfenol A
IUPAC adlandırması	2,2-bis(4-hidroksifenil)propan
CAS numarası	80-05-7
Kimyasal formülü	C ₁₅ H ₁₆ O ₂
Yapısal formülü	(CH ₃) ₂ -C-(C ₆ H ₄ -OH) ₂
Moleküler ağırlığı	228,29 g/mol
Erime sıcaklığı	153-156°C
Kaynama sıcaklığı	220°C
Alevlenme sıcaklığı	270
Uçuculuğu	193 (1 atm basınçta)
Log Kow	3,32
Log Pow	3,32
Sudaki çözünürlüğü (25°C)	120 mg/L

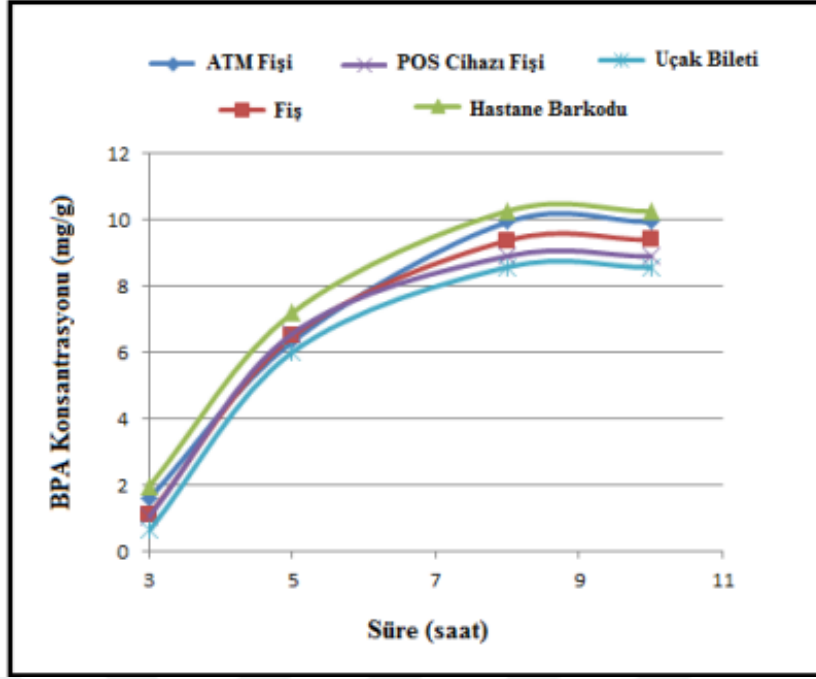
1.2.2 BFA'nın Kullanım Alanları ve Maruz Kalma Yolları

BFA, hava, su ve toprak dahil olmak üzere tüm çevresel unsurlarda bulunur (Jang ve Wilkie, 2005; Ying ve Kookana, 2005; Inoue vd., 2008). Özellikle sert ve şeffaf plastikler ile yiyecek ve içecek kutularının astarlarında kullanılan epoksi reçinelerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. BFA, plastik ürünlerden, konserve kutularından ve yiyecek-içecek ambalajlarından gıdalara geçerek bu ürünleri kontamine edebilir (Kang vd., 2003; Errico vd., 2014).

Ksenoöstrojen özellik gösteren bu kimyasal, günlük yaşamda sıklıkla karşılaşılan birçok üründe yer almaktadır. Bunlar arasında:

- Diş macunları,
- Yapıştırıcılar,
- Konserve kutuları,
- Oyuncaklar,
- Otomotiv ürünleri,
- Güvenlik ekipmanları,
- Sağlık ekipmanları,
- Mikrodalga fırın kapları,
- Tıbbi cihazlar,
- Toz boyalar,
- Ambalaj paketleri
- Bebek biberonları
- Su şişeleri
- Termal kağıtlar,
- Güneş gözlükleri,
- Yiyecek ve içecek kapları bulunmaktadır.

Örnek olarak yapılan bir çalışmada, sıkça karşılaşılabileceğimiz beş farklı termal kağıt türünden (kasa fişi, POS cihaz fişi, hastane barkodu, ATM fişi, uçak bileti) BFA'nın ekstrakte edilmesi ve süre ile ilişkisi grafiksel olarak Şekil 1.4'te gösterilmiştir (Sungur ve Kanan, 2019). Süre arttıkça, termal kağıtlardan ortama salınan BFA miktarında bir artış gözlemlenmiştir. Ayrıca, kağıtların yıpranması ve sıcaklık artışı, BFA salınımını daha da artırmaktadır.



Şekil 1.4: Termal kağıtlarda BFA salınımı üzerine sürenin etkisi.

Isıl işlem, BFA'nın bu tür malzemelerle temas eden gıdalara veya çevreye sızmasına neden olabilir. Her yıl yaklaşık 100 tondan fazla BFA'nın çevreye salındığı tahmin edilmektedir (Sun vd., 2016).

BFA'nın polikarbonatlardan salınımı şu faktörlere bağlı olarak hızlanmaktadır:

- UV ışığı,
- Plastik yaşı,
- Isıtma,
- Asidik veya bazik bileşiklerle temas (Kang vd., 2003; Diepens vd., 2007).

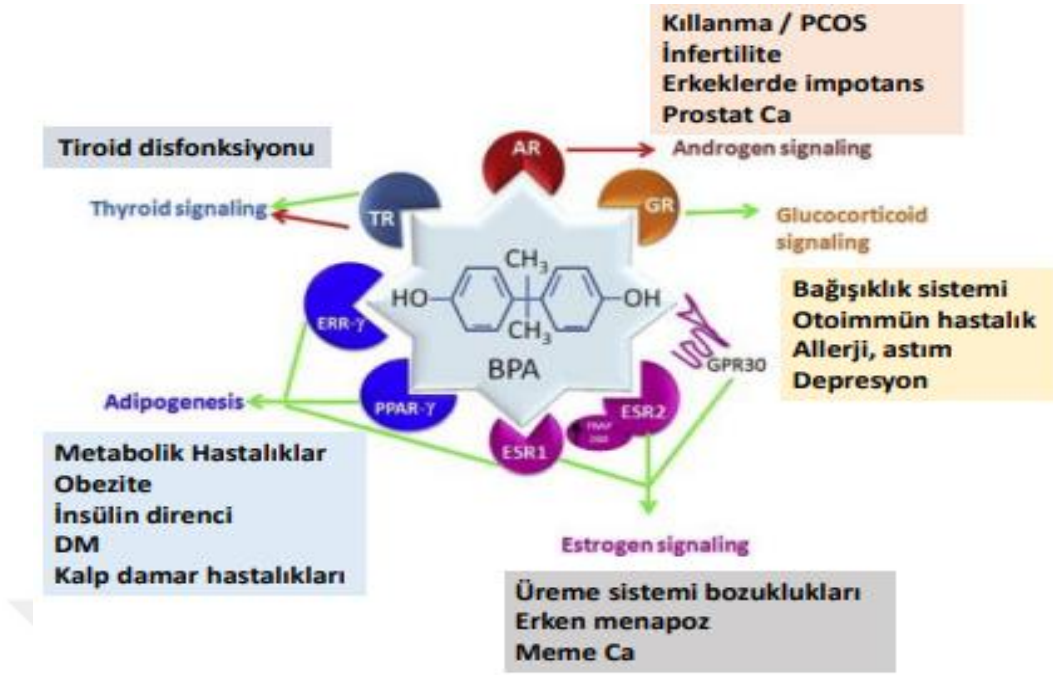
BFA maruziyetinin yetişkinler ve çocuklar için sırasıyla 0,48 ila 1,6 $\mu\text{g/kg}$ vücut ağırlığı/gün olduğu tahmin edilmektedir (Flint vd., 2012). Endokrin bozucu özellikleri nedeniyle, BFA'nın birçok tüketici ürününde kullanımı dünya genelinde pek çok ülkede kısıtlanmış veya yasaklanmıştır (Czarny-Krzyńska vd., 2023). BFA'nın insan ve hayvan sağlığı üzerindeki olumsuz etkileri, özellikle hormon sistemi üzerindeki bozucu etkileri, bu yasakların temel nedenini oluşturmaktadır. Doğal hormonları taklit ederek hormonal dengeyi bozan bu kimyasalın kullanımının sınırlandırılması ve alternatif maddelerin geliştirilmesi, halk sağlığı açısından büyük önem taşımaktadır (Tutanç vd., 2021).

1.2.3. BFA'nın olası zararlı etkileri

BFA, östradiol ve dietilstilbestrol gibi doğal hormonlara yapısal olarak oldukça benzer. Östrojen reseptörlerine bağlanarak östrojen hormonunun işlevlerini taklit edebilir ve doğal bağlanma süreçlerini bozabilir (Vandenberg, 2009). BFA, çok düşük dozlarda (pikogram seviyelerinde) bile toksik etkilere sahip olabilir (Vom Saal ve Hughes, 2005). Yapılan çalışmalar, BFA'nın çeşitli fizyolojik fonksiyonları etkileyebildiğini göstermiştir; bunlar arasında:

- Tiroid,
- Beyin,
- Endokrin sistem,
- Pankreas,
- Üreme organları,
- Bağışıklık sisteminin işlevleri (Rubin, 2011; Cabaton vd., 2011).

Son yıllarda bazı yeni araştırmalar, Şekil 1.5'te gösterildiği gibi, BFA'nın obezite, diyabet, kardiyovasküler hastalıklar, hepatotoksisite, nörotoksisite ve davranış sorunları ile ilişkili olabileceğini öne sürmektedir (Michałowicz, 2014; Rochester, 2013). Bir kişinin ciddi sağlık riski olmaksızın günlük olarak tolere edebileceği BFA miktarının, kilogram başına 0,005 mg olduğu tahmin edilmektedir. Gıdayla temas eden malzemelerde izin verilen maksimum BFA migrasyon seviyeleri Avrupa Birliği ve Çin'de 0,6 mg/L, Japonya'da ise 2,5 mg/kg olarak belirlenmiştir (EFSA, 2014).



Şekil 1.5: BFA'nın etki ettiği hücresel mekanizmalar.

1.3 Vanilik Asit

Vanilik asit (VA), ilk kez 1858 yılında T. N. Gobley tarafından nispeten saf bir madde olarak izole edilmiştir (Civolani vd., 2020). Vanilinin oksitlenmiş bir formu olan VA, aynı zamanda ferulik asitten vanilin üretiminde bir ara basamaktır (Ingole vd., 2021). Kimyasal formülü $C_8H_8O_4$ ve molekül ağırlığı 168.15 g/mol olan VA, fenolik bir bileşiktir (Yalameha vd., 2023).

VA, çeşitli tahıllardan, meyvelerden, meyve sularından, biralardan ve şaraplardan elde edilebilir (Yalameha vd., 2023). Bitkilerdeki en yüksek VA miktarı genellikle vanilya fasulyesinde bulunurken (Dandekar ve Wasewar, 2020), geleneksel Çin tıbbında kullanılan *Angelica sinensis* bitkisinin köklerinde de bol miktarda bulunur (Kim vd., 2010). Yeşil bitkilerde de sıkça bulunan VA, hoş ve kremi bir koku yayan beyaz/sarı toz veya kristal formundadır; bu özelliklerinden dolayı koku ve tatlandırıcı madde olarak kullanılmaktadır (Dandekar ve Wasewar, 2020).

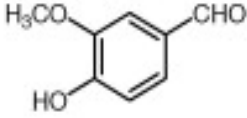
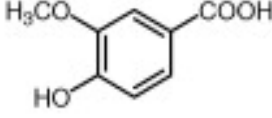
Ayrıca, yeşil çay ve kahve tüketen kişilerin idrarında VA, önemli bir metabolik yan ürün olarak bulunur (Dupuis vd., 2017).

Tatlandırıcı madde olarak kullanılan bir dihidroksibenzoik asit analogu olan VA, kozmetik sektöründe, gıdalarda, meyve tatlandırıcılarında, sigara, alkol, içecek ve polimer sektörlerinde de yaygın olarak kullanılmaktadır (Ingole vd., 2021).

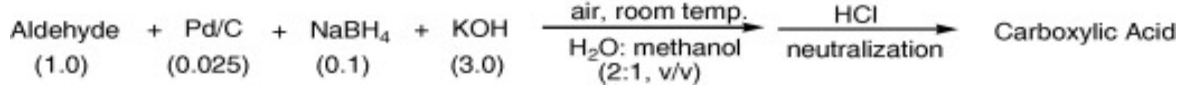
1.3.1. Vanilik Asit'in Kimyasal Yapısı

VA, vanilinin çeşitli oksitleyici maddelerle oksidasyonundan elde edilebilir. Oksitleyici ajan olarak Pd/C, NaBH₄ ve KOH kullanılabilir, ve bu dönüşümler Tablo 1.2'de gösterilmiştir. Bu yöntemin, yüksek saflıkta yaklaşık %89 verimle gerçekleştiği rapor edilmiştir (Lim vd., 2007).

Tablo 1.2: Aldehitin (Vanilin) kuvvetli karıştırma ile hava altında oksidasyonu sonucu VA oluşumu

Giren Madde (Vanilin)	Reaksiyon Süresi (saat)	Ürün (Vanilik Asit)	Verim (%)
	24		89

Vanilin maddesinin oksitleyici ajanlarla (Pd/C, NaBH₄ ve KOH) oda sıcaklığında sıvı bir ortamda tepkimeye girmesi sonucu oluşan VA'nın tepkimesi Şekil 1.6'da gösterilmiştir.



Şekil 1.6: Oksidasyon reaksiyonunun sulu çözelti ortamında gerçekleşmesi (Lim vd., 2007).

Fenolik bileşikler kendi aralarında ikiye ayrılmaktadır; fenolik asitler ve flavonoidler olarak. Fenolik asitlerde hidrokssisinnamik asitler ve hidroksibenzoik asitler olarak iki alt gruba ayrılmaktadır. VA hidroksibenzoik asit grubuna dahil bir asittir ve genel özellikleri Tablo 1.3'te verilmiştir.

Tablo 1.3: VA'nın genel özellikleri.

Genel adı	Vanilik Asit
IUPAC adlandırması	4-Hidroksi-3-metoksibenzoik asit
CAS numarası	121-34-6
Kimyasal formülü	$C_8H_8O_4$
Moleküler ağırlığı	168.148 g/mol
Erime sıcaklığı	210-213°C

1.3.2 Vanilik Asit'in Uygulama Alanları

VA, vanilin üretiminde önemli bir ara reaktif olarak (Li ve Rosazza, 2000) ve biyobazlı polimerlerin sentezinde öncü molekül olarak kullanılması nedeniyle büyük bir pazar potansiyeline sahiptir (Gioia vd., 2016). Bu çeşitli endüstriyel sektörlerden bazıları şunlardır:

- Değerli bir koku ve tatlandırıcı madde olarak kullanılır.
- Antimikrobiyal, antifilarial, antibakteriyel, kardiyoprotektif, hepatoprotektif ve kemopreventif etkiler içerir; bu nedenle VA, Avrupa'da analeptik bir ilaç olarak kullanılmaktadır.
- Karsinogenezin önlenmesi, yılan zehiri aktivitesinin inhibisyonu, apoptoz, inflamasyon ve kardiyovasküler hastalıkların patogeneze bağlı oksidatif stresin azaltılması gibi önemli farmakolojik aktivitelere sahiptir.
- Kimyasal sentezlerde, örneğin vanilin, tolkapon ve çeşitli baharatların sentezinde kullanılır.
- Gıda endüstrisinde ekstraktlar, aromalar, renklendiriciler gibi alanlarda gıda katkı maddesi olarak değerlendirilir ve potansiyel bir gıda koruyucusu olarak da kullanılır.
- Polimer sentezinde kullanım alanı bulur (Dandekar ve Wasewar, 2020).

1.3.3 Vanilik Asit'in İyileştirici Etkileri

Mevcut literatüre göre VA, antioksidan yapısı sayesinde lipit peroksil ve $OH\bullet$ gibi reaktif oksijen türlerini (ROS) etkili bir şekilde temizleme kapasitesine sahiptir (Kaur vd., 2022). Bunu serbest radikallere hidrojen atomu vererek gerçekleştirmektedir (Atnip, 2010).

VA üzerine yapılan çalışmalarda, çeşitli farmakolojik etkiler gözlemlenmiştir. Bu etkiler şunlardır:

- **Sakinleştirici Aktivite:** VA'nın sakınleştirici etkiler sunduğu çeşitli in vivo modellerde test edilmiştir ve ayrıca ağrı giderici özellikler gösterdiği tespit edilmiştir (Siraj vd., 2021).
- **Antidepresan Etkiler:** VA, depresyon tedavisinde potansiyel bir ajan olarak incelenmiştir. Yapılan bir çalışmada, farelerin yüzme davranışlarında, davranışsal umutsuzluğu önemli ölçüde azaltarak antidepresan etkiler gösterdiği, ancak tedavilerin lokomotor aktiviteyi değiştirmedığı gözlemlenmiştir (Chuang vd., 2020).
- **Antinosiseptif Etkiler:** Bu bileşik, ağrı yönetiminde etkili olup antinosiseptif özellikleri ile dikkat çekmiştir. Ağrı algısını azaltmada rol oynayan yollar üzerinde etkili olduğu görülmüştür (de los Angeles vd., 2015; Siraj vd., 2021).
- **Diyabetik Hipertansiyon:** Fareler üzerinde yapılan bir çalışmada, VA'nın kan glukozu ve insülin seviyelerinde düşüşe neden olduğu ve kan basıncını azaltarak diyabetik hipertansiyonun kontrolünde modülatör bir etki sunduğu belirlenmiştir (Vinothiya ve Ashokkumar, 2017).
- **Ülseratif Kolit:** VA'nın ülseratif kolit üzerindeki olumlu etkileri, bağırsak iltihabını azaltma ve bağırsak mukozasını koruma kapasitesine dayanmaktadır (Kim vd., 2010).
- **Antikanser Etkiler:** VA, kanser hücrelerinin proliferasyonunu inhibe edebilir ve apoptotik yolları aktive ederek antikanser etkiler gösterebilir. Örneğin, kolon kanseri üzerine yapılan bir çalışmada, VA'nın mTOR/Ras yolunu, HIF-1 α inhibisyonunu, NF- κ B ve Nrf2'yi hedef alarak antikanser potansiyel sergilediği görülmüştür (Kaur vd., 2021).
- **Antifungal Faaliyetler:** VA'nın antifungal özellikleri, çeşitli mantar türlerinin büyümesini önemli ölçüde azalttığı ve mantar morfolojisini bozduğu gözlemlenmiştir (Yousaf vd., 2023).
- **Hepatoprotektif Aktivite:** VA, karaciğer hasarına karşı koruyucu etki göstermiş ve karaciğer fonksiyonlarını iyileştirme potansiyeli sunmuştur (Itoh vd., 2010).

- **Yara İyileştirme Etkinliği:** VA'nın yara iyileşme süreçlerinde hücre yenilenmesini hızlandırarak olumlu etkiler sağladığı belirtilmiştir (Ingole vd., 2021).
- **Antioksidan Aktivite:** VA, serbest radikalleri nötralize etme kapasitesi ile güçlü bir antioksidan olarak bilinmektedir. Doku antioksidanlarını aktive ederek oksidatif stresle mücadele eder ve bu sayede hücresel hasarı önleyebilir (Vinothiya ve Ashokkumar, 2017).

VA'nın ayrıca kardiyovasküler fonksiyon bozukluklarını iyileştirebileceği, özellikle miyokardiyal hücre hasarı ve iskemi-reperfüzyon hasarı gibi durumlarda etkili olabileceği gösterilmiştir. Bu bulgular, VA'nın çeşitli terapötik potansiyellere sahip olduğunu ve farklı sağlık durumlarının tedavisinde kullanılabileceğini göstermektedir. Ancak, bu bileşiğin terapötik uygulamalarını daha iyi anlamak için daha fazla klinik çalışma gereklidir (Ingole vd., 2021).

1.3.4 Vanilik Asit'in Biyolojik İşlevselliği

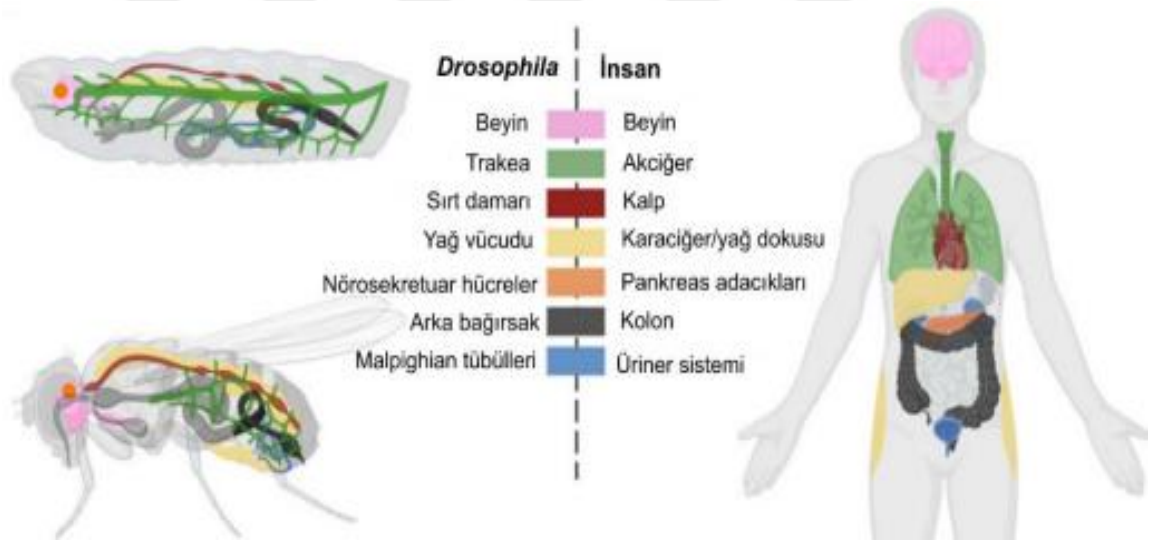
Fenolik yapısı göz önüne alındığında, VA'nın anti-inflamatuar ve antioksidan özelliklerinin şu sinyal yollarına karşı güçlü inhibitör aktivite gösterdiği belirlenmiştir:

- Adenozin Monofosfatla Aktive Edilen Protein Kinaz (AMPK)
- Nükleer Faktör Kappa B (NF-κB)
- Janus kinaz (JAK)
- Sinyal Dönüştürücü ve Transkripsiyon Aktivatorü (STAT)
- Nod128; benzeri reseptör ailesi proteini (NLRP)
- Toll benzeri reseptörler (TLR'ler)
- Mitojenle Aktifleştirilen Sinyal Proteinleri (MAPK)
- Rapamisinin Memeli Hedefi (mTOR) (Huang vd., 2019; Jung vd., 2018; Lashgari vd., 2023).

VA'nın pro-inflamatuar sitokinleri bloke ettiği ve inflammatuar yolları baskıladığı gösterilmiştir. Ayrıca, VA'nın reaktif oksijen türleri (ROS) ve nitrik oksit sentaz (iNOS) ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkisi de saptanmıştır. Vanilik asit, süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon (GSH), Heme Oksijenaz 1 (HO-1) ve glutatyon peroksidaz (GSH-Px) gibi oksidatif stresle ilişkili belirteçlerin seviyelerini azaltmaktadır (Gong vd., 2019; Lashgari vd., 2023).

1.4 *Drosophila melanogaster*

Drosophila melanogaster, halk arasında sirke sineği veya meyve sineği olarak bilinir ve Diptera takımının Drosophilidae ailesine aittir. Afrika'daki atalarından dünya çapındaki laboratuvarlara yayılan bu sinek, bilimsel araştırmalarda yüz yılı aşkın süredir değerli bir model organizma olarak kullanılmaktadır (Markow, 2015; Aksoy ve Çuhadar, 2024). Kısa yaşam döngüsü ve bakımının kolaylığı nedeniyle, ilk olarak William Castle ve ardından Thomas Hunt Morgan tarafından laboratuvar model organizması olarak benimsenmiştir (Haudry vd., 2020). *D. melanogaster*, genetik çalışmalar ve biyolojik süreçlerin anlaşılmasına önemli katkılar sağlamıştır.



Şekil 1.7: *D. melanogaster* ve insanlar arasındaki yapıları ve işlevleri ile ilgili benzer dokular veya organlar (Jiang vd., 2022).

Genom yapısı nedeniyle *D. melanogaster*, genetik manipülasyonlar için oldukça uygun bir organizmadır. Genom çapında yapılan çalışmalar, yaşam süresi ve enfeksiyonla ilişkili kritik genlerin belirlenmesine olanak tanımaktadır (Harnish vd., 2021). İnsan hastalıklarından sorumlu genlerin %75'inin *D. melanogaster* genomunda homologlarının bulunması, bu organizmanın memeli hastalıklarının incelenmesinde uygun bir model olabileceğini göstermektedir. Ayrıca, insanlar ve *D. melanogaster* arasında organ ve doku yapıları açısından benzerlikler bulunması (Şekil 1.7), laboratuvar da genetik değişikliklerin yapılabilmesi ve genomun anlaşılabilir olması, *D. melanogaster*'in hastalık araştırmalarında değerini arttırmaktadır (Mpamhanga ve Kounatidis, 2024).

1.4.1 *Drosophila melanogaster*'in Sistematığı

Tablo 1.4: *Drosophila melanogaster*'in sistematik sınıflandırılması

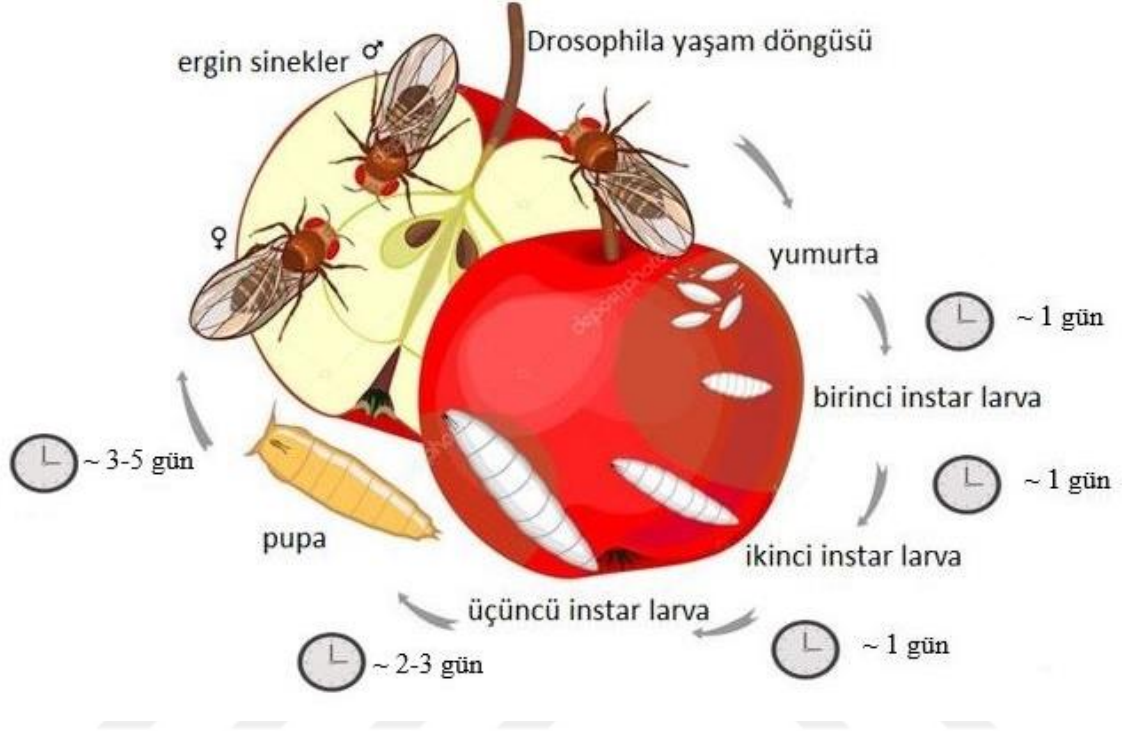
- Alem: Animalia (Hayvanlar Alemi)
- Şube: Arthropoda (=Eklem bacaklılar)
- Alt Şube: Mandibulata-Antennata.
- Sınıf: Insecta-Hexapoda (=Böcekler- Altı bacaklılar)
- Alt Sınıf: Pterygota (=Kanatlı böcekler)
- Üst Takım: Mecopteroidea-Panorpoidea (=Uzun kanatlılar)
- Takım: Diptera (Çift kanatlılar)
- Alt Takım: Brachycera (=Sinekler- Kısa antenliler)
- Aile: Drosophilidae (=Sirke sinekleri-Meyve sinekleri)
- Cins: <i>Drosophila</i>
- Tür: <i>Drosophila melanogaster</i> (Şahin, 2014:25).

1.4.2 *Drosophila melanogaster*' in Yaşam Döngüsü

D. melanogaster, ökaryotik hücre yapısına sahip bir organizmadır ve en iyi embriyonik gelişimi, 25°C sıcaklık ve %40-60 bağıl nem gibi optimum koşullarda göstermektedir (Keser, 2010).

Ergin dişi ve erkek sineklerin çiftleşmesinin ardından döllenmiş yumurtalar dış ortama (örneğin meyveler veya besiyerlerine) bırakılır. Embriyo, yaklaşık 24 saat içinde birinci evre larvaya dönüşür. Bu ilk larva evresinden sonra larvalar büyüyerek yaklaşık 24 saat süren ikinci evreye, ardından üçüncü evre larva aşamasına geçer (Şekil 1.8). Larva aşamalarında, *D. melanogaster* metamorfoz için gerekli olan yüksek glikolitik akı, laktat üretimi, yoğun glikojen sentezi ve trigliserit birikimi gibi süreçler gerçekleşir. Üçüncü evrede, pupa aşaması başlar ve yaklaşık 3,5 ila 5 gün süren bu evrede metamorfoz

gerçekleşir; bu süreçte ergin sinek dokuları oluşur. Metamorfozun sonunda, pupa üst kısmından yırtılarak ergin sinek dışarı çıkar. Çıkan ergin sinekler yaklaşık 8-12 saat içinde cinsel olgunluğa ulaşır. Sıcaklık ve diyet bileşimine bağlı olarak, *D. melanogaster* erginleri 60 ila 90 gün arasında bir yaşam süresine sahiptir (Brischigliaro vd., 2023).



Şekil 1.8: *D. melanogaster*'in gelişim evreleri.

D. melanogaster'in yaşam döngüsünde yumurta ve pupa evreleri tamamen hareketsizdir. Bu hareketsizlik dikkate alındığında, bu evrelerin çeşitli çevresel stres faktörlerine karşı uyum sağlama yeteneğinin gelişmiş olması beklenir. Bu stres faktörleri arasında yırtıcılar, parazitler, aşırı sıcaklık, ultraviyole ışık (UV) ve kuruma gibi etkenler bulunur. Dolayısıyla, yumurtlama ve yavrulama yeri seçimi gibi davranışlar üzerinde doğal seçilimin etkisinin güçlü olduğu düşünülmektedir (Haudry vd., 2020).

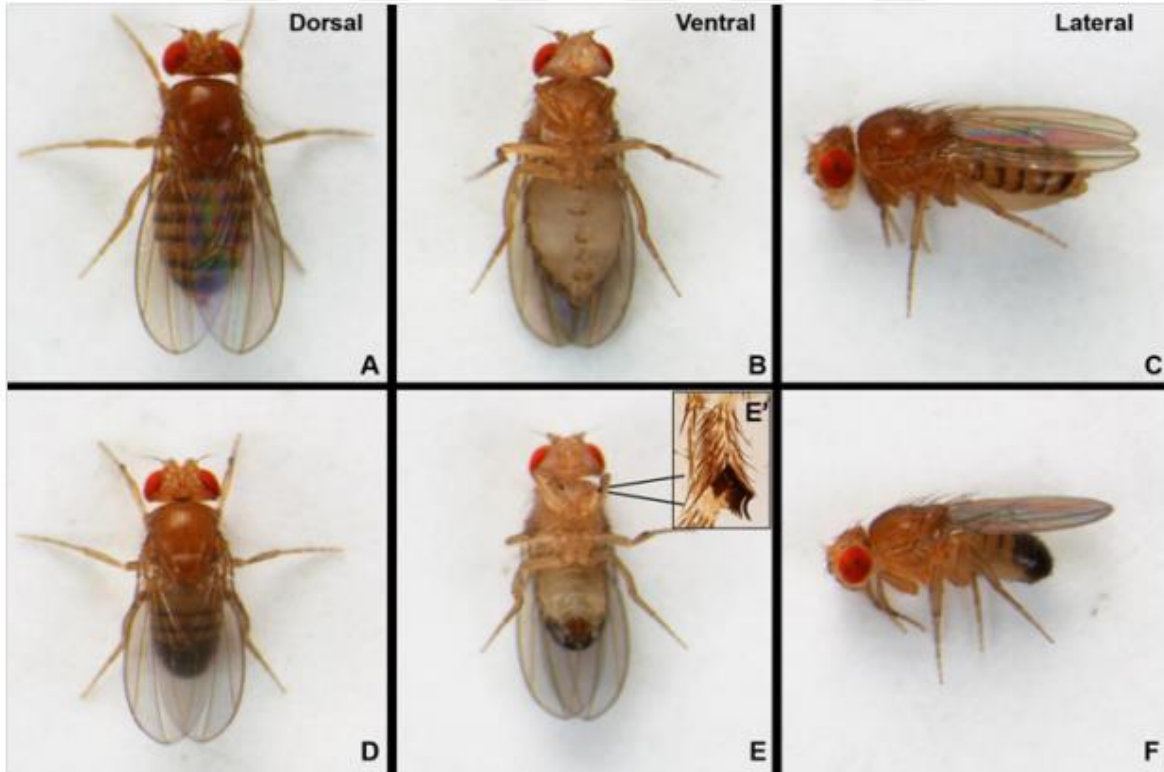
1.4.3 *D. melanogaster*'in Morfolojik Yapısı

D. melanogaster dört çift kromozoma ve 180 Mb boyutunda bir genomu sahiptir. Genomunun yaklaşık %67'si spesifik dizilerden, %3'ü rRNA ve 5S RNA'dan, %21'i tekrarlı bölgelerden ve %9'u transpozonlardan oluşmaktadır. Yaklaşık 120 Mb'lık kısmı ökromatin yapısındadır (Adams vd., 2000) ve kalan kısmı heterokromatin olarak bilinir. Ökromatin bölgenin %98'i protein kodlayan genleri içerirken, heterokromatin bölge basit

tekrarlayan dizilerden meydana gelir. Bu özellikler, *D. melanogaster* 'i genetik araştırmalar için ideal bir model organizma yapmaktadır (URL-1, 2024).

D. melanogaster 'in DNA sekansı 2001 yılında tamamlanmış olup yaklaşık 165 milyon baz çifti ve yaklaşık 14.000 gene sahiptir. Bu organizmanın hücreleri diploid olup toplamda 8 kromozom içerir; bunlardan 6'sı otozomal, 2'si ise gonozomaldır. Dişi bireylerde iki çubuk şeklinde X kromozomu bulunurken, erkeklerde bir X ve bir Y kromozomu vardır (Kaufman, 2017).

D. melanogaster dişilerinin karın bölgesinde 7, erkeklerde ise yalnızca 5 abdomen segmenti bulunur. Şekil 1.9'da dişi ve erkek bireyler arasındaki farklılıklar gösterilmektedir. Erkeklerin abdomeninin son kısmı siyahtır, çünkü son segmentlerde yoğun pigment birikimi vardır. Diřilerde abdomen segmentleri uç kısma kadar açık ve koyu bantlar halinde uzanır. Genel olarak, dişiler erkeklerden daha büyüktür ve dişi kanatları erkeklerin kanatlarına göre daha uzundur. Bu farklılıklar, cinsiyet ayrımını kolaylaştırarak araştırmalarda önemli bir avantaj sağlar (Tamtürk ve Atlı, 2019; URL-1, 2024).



Şekil 1.9: Dişi (A, B, C) ve erkek (D, E, F) *D. melanogaster* 'in morfolojik yapısı (Chaudhary vd., 2021).

D. melanogaster 'in farklı özellikler açısından birçok mutant tipi vardır. Bu farklılıklar

kanat şekli, vücut rengi ve göz rengi kombinasyonlarının farklı olmasından kaynaklanmaktadır.

Kanat şekline göre;

- ✓ Kısa kanatlı,
- ✓ Uzun kanatlı
- ✓ Normal kanatlı,
- ✓ Kıvrımlı kanatlı;

Vücut rengine göre;

- ✓ Normal,
- ✓ Kahverengi,
- ✓ Siyahi sinekler.

Göz rengine göre

- ✓ Beyaz
- ✓ Kırmızı sinekler

D. melanogaster'de kırmızı göz rengi, doğal popülasyonlarda en yaygın bulunan fenotip olup, bu fenotipe sahip bireyler yabanıl tip olarak adlandırılır. Mutant tipler ise yabanıl tip alellerin mutasyonları veya değişimleri sonucu ortaya çıkar. Yabanıl ve mutant tipler arasındaki bu farklılıklar, genetik araştırmalarda önemli bilgiler sağlar ve genetik çeşitliliğin anlaşılmasına katkıda bulunur (Kim vd., 2013; URL-1, 2024).

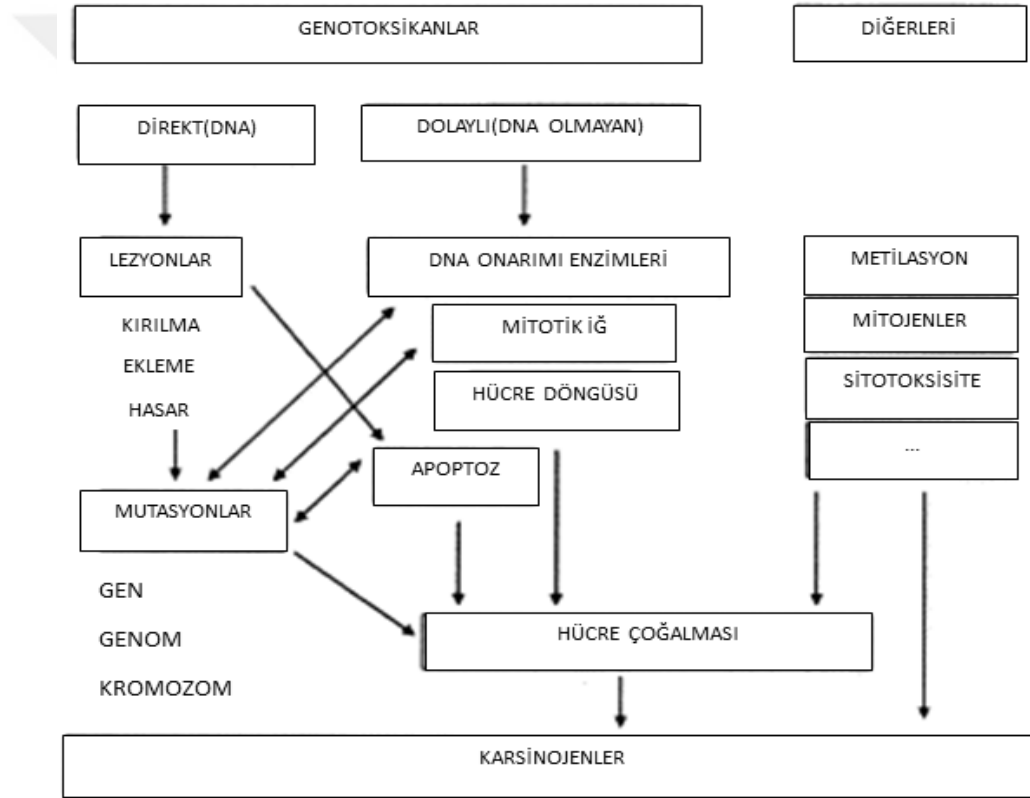
D. melanogaster'in kolay bakımı, hızlı üremesi ve çok sayıda yumurta bırakabilmesi, aynı gruptaki bireylerin genetik olarak neredeyse özdeş olması ve büyük ölçekli tarama çalışmalarına uygunluğu, onu genetik araştırmalar için ideal bir model organizma yapmıştır. Ayrıca, *D. melanogaster*'in davranış, morfoloji ve fizyolojik özelliklerinin kolayca gözlemlenmesi, çalışma sonuçlarının güvenilirliğini artırmaktadır (Sabio vd., 2024). Günümüzde *D. melanogaster* üzerinde sıklıkla yapılan genotoksisite çalışmaları, bu model organizmanın bilimsel araştırmalardaki önemini daha da pekiştirmektedir.

1.5 Genetik Toksikoloji

Genotoksisite, test edilen maddenin kendisi, ekstraktları veya üretilen metabolitler yoluyla DNA molekülüne zarar verebilecek ajanların özelliklerini tanımlayan genel bir terimdir (de Souza vd., 2024). Bu zararlar; DNA ve kromozomlarda meydana gelen genetik değişimler

(baz eklenmesi veya eksilmesi), DNA kırıkları, klastojenik etkiler (kromozom kırılmaları) ve anojenik etkiler (kromozom değişiklikleri) gibi kromozomal anomalileri kapsar (Choy, 2021; Mortelmans ve Rupa, 2004).

Genotoksinler ise DNA veya kromozomlara zarar verebilen kimyasal maddeler veya ajanlardır (Mansoori vd., 2014). Bu ajanlar, doğrudan veya dolaylı olarak DNA hasarına yol açarak genetik değişimlere neden olabilir. Bu durum hücresel düzeyde doku hasarı, yaşlanma, fiziksel bozulma, oksidatif stres, epigenetik toksisite, DNA replikasyonu bozuklukları, kanser, infertilite ve genetik bozukluklar gibi çeşitli sorunlara katkıda bulunabilir (Wu ve Ouyang, 2021). Genotoksinlerin doğrudan ya da dolaylı bir şekilde rol oynadığı mekanizmalar Şekil 1.10'da gösterilmiştir.



Şekil 1.10: Doğrudan ve dolaylı etkili genotoksik maddelerin ve diğer moleküllerin karsinogenezde rol oynayabildiği mekanizmalara genel bakış (Kirsch-Volders vd., 2003).

Genetik toksikoloji alanındaki çalışmalar, 1927'de Müller'in çalışmalarıyla başlamış olup, günümüzde gelişen teknoloji ve yenilenen analiz yöntemleriyle birlikte mutajenik ve genotoksik maddelerin karsinojenik etkilerini belirlemek için önemli bir araştırma alanı haline gelmiştir. Bu çalışmaların temel amacı, model organizmalardan elde edilen verilerle

genotoksik maddelerin insan DNA'sına verdiği zararları ve bu hasarların insan sağlığı üzerindeki etkilerini ortaya koymaktır (Bedir vd., 2024).

Genotoksik ve karsinojenik etkiler; ekstraktlar, ilaçlar, gıda katkı maddeleri, nanomateryaller, parazitik enfeksiyonlar, sigara dumanı, UV ışınları ve pestisitler gibi çeşitli in vivo ve in vitro testler kullanılarak değerlendirilmektedir. Ayrıca, genotoksisite testleri ilaç güvenilirliği gibi çeşitli amaçlarla da kullanılmaktadır (Uysal ve Çelik, 2023).

Mikroorganizmalar, bitkiler, böcekler ve omurgalı hayvanların kullanılabileceği birçok kabul görmüş genotoksisite test yöntemi bulunmaktadır (Olaharski vd., 2006). En yaygın kullanılan testler arasında Allium testi, Mikrozoim mutajenite testi, Kromozom anomalisi testi, Mikronükleus testi, Kardeş kromatid değişimi testi, Comet testi ve Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi bulunmaktadır.

2. LİTERATÜR ÖZETİ

Feng ve arkadaşlarının (2007) bulgularına göre, vanilik asit (VA) türevlerinin protein-tirozin fosfataz 1B (PTP1B) aktivitesini inhibe ettiğini ve bu etkinin tip 2 diyabetli bireylerde insülin direncini azaltmaya katkı sağladığını bildirmişlerdir. Puttachary ve arkadaşları (2015) ve El-Hefnawy ve arkadaşları (2022), epilepsi modellenmiş sıçanlarda, VA uygulamasının astrositoz göstergesi olan glial fibriler asidik protein (GFAP) ekspresyonunu ve nöron kaybını anlamlı şekilde azalttığını gözlemlemiştir. Adamakis ve arkadaşları (2016), *Pisum sativum* ve *Zea mays* türlerinde hücre bölünmesi ve iğ iplikçiği işlevlerinde, BFA kaynaklı bozulmaların bölünmeyi imkânsız hale getirerek genetik materyalin yanlış dağılımına neden olabileceğini bulmuşlardır.

Vinotiya ve arkadaşlarının (2017) bulgularına göre, yüksek yağ içerikli diyet (HFD) verilen diyabetik hipertansif sıçanlarda, VA'nın antioksidan etkisini araştırmış ve VA takviyesinin sıçanların vücut ağırlığı, kan basıncı ve kan şekeri düzeylerini kontrol etmede olumlu rol oynadığını göstermiştir. Ma ve arkadaşları (2018), çevresel endokrin bozucu Bisfenol A (BFA)'nın ürik asit metabolizmasını etkileyerek, ksantin oksidaz aktivitesini artırdığını ve bu artışın serum ile karaciğer ürik asit düzeylerini yükselttiğini tespit etmişlerdir.

Li ve arkadaşlarının (2018) bulgularına göre, BFA'nın bitki kök büyümesine etkilerini endojen bitki hormonlarındaki değişiklikler yoluyla incelemiş; düşük BFA dozlarının kök ağırlığı ve hacmini artırdığı, yüksek dozların ise büyüme üzerinde olumsuz etki yaptığı sonucuna varmışlardır. Park ve arkadaşları (2020), VA'nın birçok kanser türü üzerinde antikanser potansiyele sahip olduğunu ve bu bileşiğin kanser tedavisinde değerlendirilmesi gerektiğini öne sürmüşlerdir. Ahmadi ve arkadaşları (2021) ise, VA'nın β -amiloid (A β) peptidi ile tedavi edilen sıçanlarda hafızayı iyileştirerek oksidatif stres azaltıcı etkiler sergilediğini göstermiştir.

Kumari ve arkadaşlarının (2021) bulgularına göre, VA'nın oksidatif stres düzeylerini düşürebileceğini ve özellikle poliol yolunu inhibe ederek ileri glikasyon son ürünlerinin sentezini azalttığını belirtmiştir. Bousoumah ve arkadaşları (2021), endokrin bozucular arasında sayılan BFA, BPS ve BPF gibi kimyasalların çalışma ortamındaki potansiyel sağlık risklerinin önemini vurgulamıştır. Wang ve arkadaşları (2023), BFA'nın *D. melanogaster*'de nörotoksik etkilerini inceleyerek gelişim gecikmeleri ve akson yönlendirme kusurları yarattığını bildirmiştir.

Frat ve arkadaşlarının (2023) bulgularına göre, öncelikli kirleticilerin *D. melanogaster*'in embriyo sonrası gelişim süreçleri üzerindeki etkilerini araştırmış ve yüksek konsantrasyonlardaki BFA'nın mortaliteye yol açtığını göstermiştir. Li ve arkadaşları (2023), BFA'nın sinir sistemi üzerindeki etkilerini inceleyerek, bu bileşiğin östrojen reseptörlerine bağlanarak sinirsel gelişim sırasında nörodavranışsal sorunlara neden olabileceğini bulmuşlardır.

Osorio-Paz ve arkadaşlarının (2023) bulgularına göre, VA *C. elegans*'ın stres direnci ve yaşam süresi üzerindeki etkilerini kapsamlı bir şekilde araştırmışlardır. Çalışmanın sonuçlarına göre, VA'nın ısı toleransını %19,4 oranında arttırdığı, protein birikimini %30 ila %40 arasında azalttığı, hareketliliği iyileştirdiği ve yaşam süresini neredeyse %50 oranında uzattığı bulunmuştur.

Zhang ve arkadaşlarının (2023) bulgularına göre, BFA'ya maruz kalmanın fare Leydig hücrelerinde oksidatif stres ve apoptoz etkilerini artırarak testis dokusunda yapısal hasar yarattığını ortaya koymuştur. Yalameha ve arkadaşları (2023), VA'nın kalp koruyucu potansiyelini araştırmış ve mitokondriyal fonksiyonu iyileştirerek ROS seviyelerini azalttığını göstermiştir.

Son olarak, Gao ve arkadaşlarının (2024) bulgularına göre, bisfenol maruziyetinin hiperürisemiye yol açabileceğini, Costa ve arkadaşları (2024) ise BFA'nın beyinde yapısal ve moleküler değişiklikler, oksidatif stres artışı, eksitotoksisite ve nörodejeneratif etkiler oluşturduğunu bildirmiştir. Bu çalışmalardan elde edilen bulgular, hem BFA'nın sağlık üzerindeki olumsuz etkilerini hem de VA'nın potansiyel koruyucu rollerini ortaya koymaktadır.

3. MATERİYAL METOD

Araştırmada kullanılan materyaller ve deneysel yöntemler, *D. melanogaster*'da vanilik asit uygulamasının bisfenol A kimyasalına karşı koruyucu etkisinin varlığını gelişimsel, biyokimyasal ve moleküler düzeyde incelemek amacıyla titizlikle seçilmiş olup, elde edilen verilerin geçerliliğini sağlamak için uygun teknikler uygulanmıştır.

3.1 Kimyasallar

BFA Alfa Aesar (Karlsruhe, Germany) ve Vanilik Asit Sigma (St. Louis, MO, USA)'dan temin edilmiştir. Diğer tüm kimyasallar ve reaktifler analitik reaktif derecesinde ve ticari kaynaklardan elde edilmiştir.

3.2 *D. melanogaster* Stoğu ve Kültür.

Bu çalışmada, Bartın Üniversitesi, Fen Fakültesi bünyesindeki Moleküler Biyoloji ve Genetik Araştırma Laboratuvarı'nda uzun yıllardır kullanılan genetik olarak homozigot ve mutant olmayan laboratuvar stoğunda *D. melanogaster*'ın Oregon-R yabani suşu kullanıldı. *D. melanogaster* kültürleri, laboratuvar koşullarında 24°C sabit sıcaklığa ayarlı, %60-70 nemde ve 12 saat aydınlık 12 saat karanlık soğutmalı inkübatörde kültür kaplarında yetiştirildi. Kültür kapları renksiz ve saydam seçilmiş sineklerin gelişimlerinin kolay izlenebilmesi amaçlandı.

D. melanogaster besiyeri hazırlarken kullanılan malzemeler (Sun vd., 2013; Anupama vd., 2017);

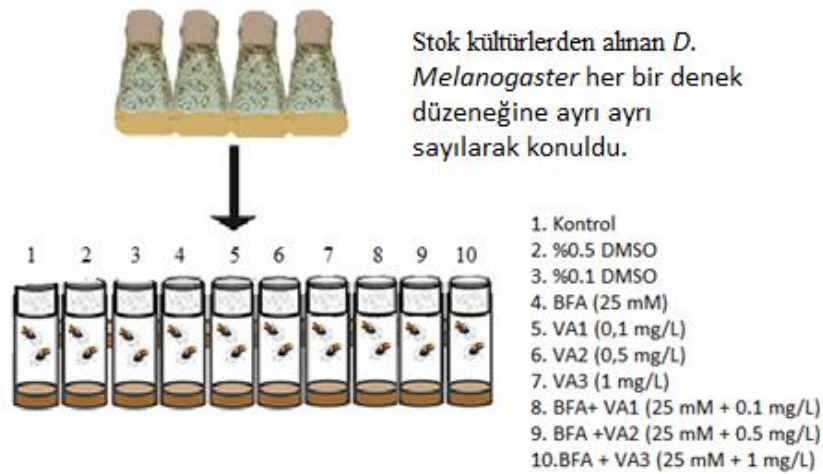
- ✓ 26 g mısır unu
- ✓ 23,5 g şeker
- ✓ 1,75 g bira mayası
- ✓ 3 g agar
- ✓ 240 ml distile su
- ✓ 1,5 ml asit karışımı (0,12 ml Ortofosforik asit + 1,25 ml Propiyonik asit + 0,13 ml distile su)

Mısır unu, şeker, bira mayası ve agar, her biri ayrı ayrı hassas terazide tartıldı, üzerine 240 ml distile su eklendi ve homojen bir karışım elde edilene kadar iyice karıştırıldı. Karışım,

manyetik karıştırıcı kullanılarak sürekli karıştırılmak suretiyle ısıtıcı üzerinde kaynama noktasına getirildi. Karışım tamamen homojen hale gelip kaynamaya başladığında, mantar ve bakteriyel kontaminasyonu önlemek amacıyla hazırlanan asidik çözelti dikkatlice eklendi ve dağılması için iyice karıştırıldı. Asit karışımının fazla miktarda eklenmesi maya ve sinek gelişimini olumsuz yönde etkileyebilir, az miktarda eklenmesi ise bakteri ve mantar gelişimini önleyemeyebilir bu nedenle yeterli miktarda asit ilave edilmelidir. Bu besiyerinde, mayalar hızla çoğalarak sinekler için besleyici bir ortam oluşturacaktır. Ancak, ortamda aşırı maya kullanımı, mayaların oksijen tüketimi nedeniyle sineklerin ihtiyaç duyduğu oksijen seviyesinin düşmesine neden olabileceğinden dikkat edilmelidir. Hazırlanan besiyeri, hala sıcakken steril kültür şişelerine yaklaşık 2 cm yüksekliğinde döküldü ve kapakları pamuk ile kapatıldı. Karışım, içeriğindeki agar sayesinde oda sıcaklığında soğuyarak katılaştırıldı. Bu besiyeri, kullanılabileceği kadar serin ve temiz bir ortamda muhafaza edildi (Quesada-Calderón ve vd., 2017).

3.3 Deney Düzenegi

Deney düzeneginde toplamda 10 grup belirlendi (Şekil 3.1). Gruplarda kullanılan solüsyonlar; DMSO'da çözödürölen 25 mM dozundaki BFA (Acaröz vd., 2019; Streifel vd., 2016) ve 0.1, 0.5 ve 1 mg/L dozlarındaki VA'tir (Jimenez-Del-Rio vd., 2010). BFA ve VA birlikte ve ayrı ayrı olacak şekilde gruplar hazırlandı ve deneye başlandı.



Şekil 3.1: BFA ve VA'nın *D. melanogaster*'lere verilme sırası ve deney grupları.

3.4 Gelişimsel Parametreler

D. melanogaster üzerinde gelişimsel parametrelere bakıldığında bisfenol A ve vanilik asit uygulamalarının; larvaların sürünme mesafesini, larvaların büyüme oranını ve hızını nasıl etkilediği, pupa ve ergin aşamalarındaki süreyi uzatıp uzatmadığı, bireylerin uçuş yeteneklerinin etkilenip etkilenmediği, üreme başarısı ve gıda alım oranlarının nasıl etkilendiği incelenmiştir.

3.4.1 Larval Toksisite

Larval toksisite deneyi için tüm deney gruplarında *D. melanogaster* 3. Evre instar larva kullanıldı. Standart besi yeri içeren kültür ortamında erkek ve dişi bireylerin çaprazlanarak oluşturduğu larvalardan her bir deney grubu için 50 adet larva sayılarak falkonlara konuldu (Şekil 3.2). Numaralandırılmış falkonlar 25°C ve %60 bağıl neme sahip etüve kaldırıldı. Larvaların gelişimi günlük olarak izlendi. Larva evresinden pupa evresine, pupa evresinden yetişkin sinek evresine geçebilen bireyler 10 günün sonunda not edildi. Deney iki kez tekrar edildi (Rumata vd., 2023; Halmenschelager vd., 2019).



Şekil 3.2: Larval toksisite aşamaları

3.4.2 Larva Sürünme Testi

Larva sürünme testi, Parimi ve arkadaşları (2019) ile Don ve arkadaşları (2019) tarafından tanımlanan yöntemle dayanarak gerçekleştirildi. Standart besiyerinden deney gruplarına alınan ergin bireyler, 1 gün boyunca etüve bekletildi. Yumurtlama sağlandıktan sonra ergin bireyler falkonlardan çıkarıldı. Tekrar etüve konulan numaralandırılmış falkonlar, 4 gün boyunca bekletildi ve üçüncü instar larvalar toplandı. Larvaların üzerinde yiyecek kalıntısı kalmaması için 1×PBS ile yıkandı.

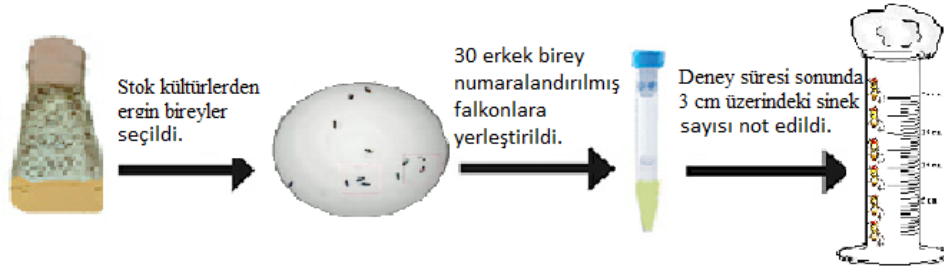
%2 agaroz ile kaplanmış bir cam petri kabı hazırlandı ve yıkanan larvalar, deney sırasına göre petrilere transfer edildi. Petri kabı bir grafik kağıdı üzerine yerleştirildi ve larvaların agar üzerinde sürünme mesafesi (Şekil 3.3), 1 dakika boyunca video kaydına alındı. Deney üç kez tekrarlandı. 1 dakika içinde geçilen ızgara çizgileri sayılarak, her bir deney grubundaki 9 larvanın kat ettiği mesafenin ortalaması alındı ve sonuçlar hesaplandı.



Şekil 3.3: Larva sürünme testi aşamaları.

3.4.3 Tırmanma Testi

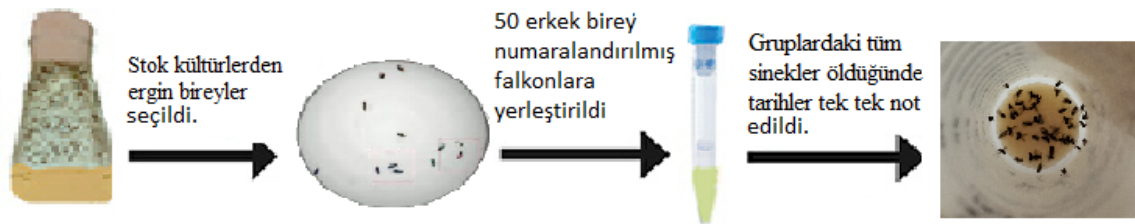
Tırmanma testi için stok kültürlerden alınan 30 yetişkin erkek sinek, her deney grubuna ayrı ayrı transfer edilerek 10 gün boyunca etüvde bekletildi. Sürenin sonunda sinekler, üzerinde 3 cm işareti bulunan 10 cm'lik tüplere alındı ve tüp ağzları pamukla kapatıldı. Tüm sineklerin tüpün alt kısmında kalmasını sağlamak için tüpe hafifçe vuruldu. Sonrasında, sineklere tırmanma imkanı verildi ve bu süreç 15 saniye boyunca video ile kaydedildi. Sürenin sonunda, 3 cm işaretinin üzerine tırmanabilen sineklerin sayısı video kaydından belirlenerek kaydedildi (Şekil 3.4). Deney üç kez tekrarlandı ve 3 cm işaretinin üzerine tırmanan sineklerin ortalaması alınarak sonuçlar hesaplandı (Don vd., 2019).



Şekil 3.4: Tırmanma Testi aşamaları.

3.4.4 Hayatta kalma testi

Hayatta kalma testi, hafif modifikasyonlarla daha önce tanımlanmış bir metoda göre gerçekleştirildi. 50 yetişkin erkek sinek, sinekler ölene kadar belirtilen deney düzeneklerine yerleştirildi. Deney düzeneklerinde her hafta besiyeri ortamı tazelandı ve sinekler yeni besiyerlere aktarıldı. Ölü sinek sayısını saymak için falkonlar her gün kontrol edildi. Kaçan ve yeme yapışan sinekler sayıdan hariç tutuldu. Tüm sinekler öldüğünde, yaşam süresi not edildi (Şekil 3.5). Deney iki kez tekrar edildi (Sheik Mohideen vd., 2015; Don vd., 2019).



Şekil 3.5: Hayatta kalma deneyi aşamaları

3.4.5 Larva Gıda Alım Analizi

Yiyecek alımı, daha önce anlatıldığı şekliyle modifiye edilmiş bir metoda göre ölçüldü (Tanimura vd., 1982; Kumar vd., 2022). Üçüncü instar larvalar (30 adet), 24 saat süreyle %1'lik brillent blue (BB) boyası ile birlikte oluşturulan deney gruplarına sayılarak konuldu. Larvalar tarafından alınan yiyecek, bağırsak bölgesinde göz ile değerlendirildi ve larvalar fosfat tamponunda (50 mM, pH 7.4) homojenize edilerek 15 dakika boyunca 12,000g'de santrifüj edildi. Supernatant, bir spektrofotometre kullanılarak 630 nm'de ölçüldü (Şekil 3.6). Optik yoğunluk değerleri kontrol grubuyla karşılaştırılarak sonuçlar elde edildi.



Şekil 3.6: Yiyecek alımı analizi aşamaları.

3.4.6 Larva Vücut Ağırlığı ve Uzunluğu

Larval vücut ağırlığı ve uzunluğu analizi daha önce tanımlanmış olan Yun Mu. (2021) ve arkadaşlarının çalışmalarına dayanarak gerçekleştirildi. Standart besiyerinden seçilen L3 instar larvalar her bir deney grubuna dikkatli bir şekilde konuldu ve 1 gün boyunca etüvde bekletildi. Deneyler 3 tekrarlı olarak yapıldı. Her bir deney tekrarı için 10 adet L3 instar larva seçildi. Larva ağırlığı analizinde seçilen larvalarda mama kalıntısı kalmaması için 1x PBS ile yıkandı. 2 ml'lik santrifüj tüplerine yerleştirildi ve tartıldı. Larva uzunluğu analizinde milimetrik grafik kağıdı kullanılarak larva uzunlukları belirlendi.

3.5 Biyokimyasal Analizler

Biyokimyasal analizler için oluşturulan deney gruplarına dişi ve erkek farketmeksizin 50 yetişkin sinek atıldı ve 10 günün sonunda sinekler toplandı (Dos Santos vd., 2022). Toplanan sineklere doku homojenizasyonu yapıldı ve doku homojenizasyonundan elde edilen süpernatant MDA ve GSH düzeyleri, SOD ve CAT aktiviteleri, asetilkolinesteraz seviyeleri ve protein ölçümleri gerçekleştirilmek üzere kullanıldı.

Doku Homojenizasyonu

Doku homojenizasyonu için 50mM KH_2PO_4 (Ph.7) hazırlandı ve $+4^\circ\text{C}$ de beklemeye alındı. Daha sonra 0,05 g doku tartılarak soğuk 0,5 ml fosfat tamponu eklendi. Mekanik ve ultrasonik homojenize işleminden sonra 15 dk 5000 rpm de santrifüj edildi. Supernatant kısmı MDA, GSH, SOD, CAT aktivitesinde ve protein ölçümünde kullanıldı (Hurza vd., 2022).

3.5.1 MDA

Lipid peroksidasyon (LPO) belirteci olan MDA, Ohkawa vd., (1979)'nin metodu kullanılarak yapıldı. Metodun prensibi MDA ile tiyobarbitürik asit (TBA)'in tepkimeye girmesi sonucu ortaya çıkan rengin yoğunluğunun spektrofotometrede 532 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanır. MDA konsantrasyonu, MDA-TBA kompleksinin absorbans katsayısıyla hesaplandı ve dokuda nmol/g olarak ifade edildi.

3.5.2 GSH

GSH konsantrasyonu Beutler vd., (1993) tarafından tanımlanan metod ile ölçüldü. Çöktürücü ile karıştırılan doku homojenatı vortexlenerek süzme kağıdında süzüldü. Fosfat tamponu ve DTNB eklenen solüsyon 10 dk içerisinde spektrofotometrede optik dansite 412 nm dalga boyunda ölçülerek sonuçlar dokuda nmol/g olarak ifade edildi.

3.5.3 SOD

Doku homojenatında süperoksit dizmutazın (SOD) antioksidan enzim aktivitesi Sun vd., (1988)'nin metodu kullanılarak ölçüldü. Metodun prensibi süperoksit radikallerinin ortamda bulunan nitroblue tetrazolyumu (NBT) mavi renkli olan formazona indirgemesiyle elde edilen absorbansın 560 nm dalga boyunda ölçülmesine dayanmaktadır. SOD aktivitesi dokudaki protein için U/ μ g protein olarak ifade edildi.

3.5.4 CAT

Doku homojenatında katalaz (CAT) aktivitesi Sinha (1972)'nin metodu kullanılarak ölçüldü. Bir birim CAT miktarı, 25°C'de pH (4.5)'da H₂O₂'i parçalayan enzim miktarına karşılık gelir. CAT aktivitesi dokudaki protein için U/ μ g protein olarak ifade edildi. Spektrofotometrede 570 nm dalga boyunda ölçülerek sonuçlar elde edildi.

3.5.5 Protein

Deney ticari olarak satın alınan Modifiye Lowry Protein Tayin Kiti (#SK404, Bio Basic Inc. Canada) kullanılarak gerçekleştirildi. Spektrofotometrede 750 nm dalga boyunda ölçüm yapılarak sonuçlar elde edildi.

Spektrofotometrik Ölçümler

Spektrofotometrik ölçümler laboratuvarımızda bulunan Thermo Scientific™ Multiskan™ GO Microplate Spectrophotometer (Thermo Fisher Scientific, USA) cihazı kullanılarak

gerçekleştirildi.

3.6 Moleküler Analizler

10 günlük bir sürede BFA ve VA'ya maruz kalan ergin *D. melanogaster*'lere Comet testi ve gen ekspresyonu analizi yapıldı.

3.6.1 Comet Testi

DNA hasarını belirlemek için Comet Testi yöntemi kullanıldı. Deney düzeneğinde belirlediğimiz her bir gruba 30 adet ergin sinek konuldu ve etüvde 10 gün boyunca beslenmeleri sağlandı. Deneyler 3 tekrarlı olacak şekilde gerçekleştirildi.

COMET Testinin *Drosophila melanogaster*'e Uygulanma Aşamaları:

1. Adım: 1 gece önceden normal erime noktasına sahip %1'lik agaroz (NMA) hazırlandı ve lamalar kaplandı.
2. Adım: Comet analizi için düşük erime sıcaklığına sahip %0,5'lik agaroz (LMA) mikrodalgada eritildi ve donmaması için 40°C'lik ısıtıcıda parçalama işlemi bitene kadar bekletildi.
3. Adım: 10 adet ergin sinek 100 µl HBSS solüsyonunda lam üzerinde jilette parçalandı, farklı bir lam üzerine alınarak %0,5'lik LMA'dan 100 µl karıştırıldı ve LMA donmadan hızlı bir şekilde NMA ile kaplanmış lamın üzerine eklenerek lamel ile kapatıldı. Kuruması için 4°C'de beklendi.
4. Adım: Kuruyan preparatlardan lameller çıkarıldı ve lizis çözeltisinde 1 saat boyunca 4 °C'de bekletildi.
5. Adım: +4 °C'den çıkarılan preparatlar P^{H^+} 'ın dengelenmesi için elektroforez tamponunda 4 C° 15 dk bekletildi.
6. Adım: Alkalın elektroforez 24 V ve 300 mA 40 dakika süre ile uygulandı.
7. Adım: Elektroforez işlemi sonrası preparatlar 0.4 M Tris tamponunda (pH 7.5) 5 dk nötralize edildi ve distile su ile durulandı. Bu işlem 3 kez tekrarlandı.
8. Adım: Daha sonra preparatlar 100 µl etidyum bromür ile boyandı ve incelemek için floresan mikroskobu (Zeiss, Almanya) kullanıldı.
9. Adım: Elde edilen görüntüleri incelerken rastgele seçilmiş 100 (50–100) hücre 0 ile 4 arasındaki hasar kaydı yapıldı (0 hasarsız, 4 çok hasarlı).

Elektroforez solüsyonunun hazırlanması:

NaOH Stoğunun hazırlanması: 10 N (200 g) NaOH 500 mL distile su karıştırıldı.

NaOH MA: 39,9772 g/mol

EDTA stoğunun hazırlanması: 200 mM (14,89) EDTA 200 mL distile su ile karıştırıldı

EDTA MA: 292,24 g/mol

Hazırlanan stok çözeltiden 30 mL NaOH alındı ve bir mezüre konuldu. Üzeri 200 mL distile su ile tamamlandı. Hazırlanan diğer stok çözeltiden 5 mL EDTA alınarak bir mezüre konuldu ve üzeri 200 ml distile su ile tamamlandı. Bu iki çözelti birbiri ile karıştırıldı ve üzeri 1000 ml'ye tamamlandı. pH metre yardımıyla pH>13 olması için HCl damlatıldı. Hazırlanan solüsyon 1 litrelik bir şişeye aktarıldı ve +4 C°'de buzdolabında saklandı.

Nötralizasyon solüsyonunun hazırlanması:

Trizma baz MA: 121,14 g/mol

24,25 g Trizma baz tartılarak bir behere alındı. (500 ml'ye göre). Üzeri 500 mL distile su ile tamamlandı. Manyetik karıştırıcıda bir süre karıştırıldı. Çözünme işlemi tamamen gerçekleştikten sonra pH metre ile pH'ın 7.5 olması için HCl damlatıldı. Solüsyon 500 mL'lik bir şişeye aktarıldı ve kullanılacağı zamana kadar +4 C°'de buzdolabında saklandı.

Liziz solüsyonunun hazırlanması:

NaCl 58,44 g/mol

146 g NaCl, 1,2 g Trizma baz, 37,2 g EDTA ayrı ayrı tartılarak beherlere alındı üzerlerine 100 mL distile su eklendi. Çözünme işlemi gerçekleştikten sonra karışımlar birbiri ile karıştırıldı. Üzeri 500 ml'ye tamamlandı. Manyetik karıştırıcı da bir süre karıştırıldı. pH metre ile pH=10 olması için NaOH damlatıldı. Hazırlanan solüsyon 500 ml'lik bir şişeye aktarıldı ve kullanılacağı zamana kadar +4 °C'de buzdolabında saklandı. Deney sırasında %1'lik Triton-X (1 ml) her kullanımda taze olarak eklendi.

Low Melting Agaroz (LMA) Hazırlanması:

0,025 g LMA ve 5 mL PBS bir behere alındı. Mikrodalgada kaynatılarak hazırlandı.

Normal Erime Noktalı Agaroz Hazırlanması:

1 g NMA ve 100 mL PBS bir behere alındı. Mikrodalgada kaynatılarak hazırlandı.

3.6.2 Gen Ekspresyon Analizi

Gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi için her bir deney grubuna 50 ergin sinek yerleştirildi ve sinekler, BFA ve VA maddelerine 10 gün boyunca maruz bırakıldı. Bu sürecin sonunda RNA izolasyonu yapılarak gen ekspresyon seviyelerinin belirlenmesi sağlandı. Deneyler, her bir grup için altı bağımlı biyolojik tekrar ile gerçekleştirildi.

Gen Ekspresyonu Analizi Aşamaları;

- a. RNA İzolasyonu, RNA'ların Kalite Kontrolü, DNaz Uygulaması ve cDNA Eldesi

Ergin sinekler, 10 gün boyunca beslenmelerinin ardından doku örnekleri toplanarak -80°C'de muhafaza edildi. RNA izolasyonunun yapılacağı gün, dondurulmuş sinek dokuları çözülerek GeneJet RNA Purifikasyon Kiti (ThermoFisher Scientific, USA) kullanılarak RNA'lar izole edildi. Sinek dokularından elde edilen RNA'ların kalitesi ve miktarı, A260/A280 UV dalga boylarında Multiskan™ FC Mikroplate Fotometresi (ThermoFisher Scientific, USA) ile ölçüldü. Gruplara göre izole edilen RNA miktarları, cDNA sentezi için 1 µg RNA olacak şekilde hesaplandı. Elde edilen RNA'lardan DNA kontaminasyonunu uzaklaştırmak amacıyla, 1 µg kalıp RNA, 1 µl 10X Reaksiyon Solüsyonu ve 1 µl RNaz içermeyen DNaz I (ThermoFisher Scientific, USA) ile işleme tabi tutuldu ve RNaz free su ile toplam hacim 10 µl'ye tamamlandı. Bu karışım 30 dakika 37°C'de, ardından 10 dakika 65°C'de inkübasyona bırakıldı. DNaz I ile işlenmiş RNA'dan RevertAid H Minus Single Strand cDNA Sentez Kiti (ThermoFisher Scientific, USA) kullanılarak cDNA sentezi gerçekleştirildi.

b. Primer Tasarımı

Deneyde kullanılacak primerler, *D. melanogaster*'a özgü RNA dizileri hedef alınarak NCBI veritabanından tasarlandı. Tasarlanan primerler, bir housekeeping geni olan rp49, bağışıklıkla ilişkili SOD, CAT ve gclc genleri, hücre stres proteinini kodlayan hsp70 geni ile inflamasyon, kanser ve nörodejeneratif hastalıklarla ilişkili sinyal yollarını hedef alan Keap1 ve CncC=Nrf2 genlerinin mRNA primer dizilerini kapsamaktadır.

c. Real-time PCR

Deney gruplarındaki gen ekspresyon seviyeleri, gene özgü primerler kullanılarak real-time PCR yöntemi ile belirlendi. Bu çalışmada, hedef genlerin ve referans gen olarak kullanılan β -Aktin'in ekspresyonu, Bio-Rad real-time PCR (Bio-Rad, USA) cihazında analiz edildi. Amplifikasyon işlemi, denatürasyon, primer bağlanması ve zincir uzaması olmak üzere üç temel adımdan oluşacaktır. Elde edilen amplifikasyon eğrilerine ait döngü eşiği (Ct) değerleri, hedef genlerin mRNA ekspresyon seviyelerinin nispi değişimlerini belirlemek için 2^{-DDCt} yöntemi (Pfaffl, 2001) ile analiz edildi. Her bir gen için hesaplanan $\Delta\Delta Ct$ değerleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülünde yerine konarak, mRNA ekspresyon düzeyindeki değişimler kat artışı veya azalması şeklinde belirlendi. Ayrıca, rp49 geni endojen kontrol olarak kullanıldı ve her bir örnekte rp49 gen ekspresyon seviyesine göre diğer genlerin ekspresyon değerleri normalize edildi. Analizler, Bio-Rad CFX Manager 3.1 yazılımı ile gerçekleştirildi.

3.7 İstatistiksel analiz

Çalışma sonunda bulunan veriler Graphpad Prism 8.0 software package programı ile analiz edildi. Öncelikle dataların normal dağılım kalıbına uyup uymadıkları belirlendi. Normal dağılım içerisinde bulunan veriler one-way ANOVA testi ile değerlendirildi ve gruplar arası farklılıklar Tukey posthoc testi ile belirlendi. Elde edilen veriler “ortalama $\pm$ standard deviation” olarak ifade edildi ve <0.05 istatistiksel açıdan önemli olarak kabul edildi.

5. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu bölümde, araştırma kapsamında yapılan deneyler ve analizler sonucu elde edilen bulgular grafiksel olarak sunulmuş ve yorumlanmıştır.

4.1 BULGULAR

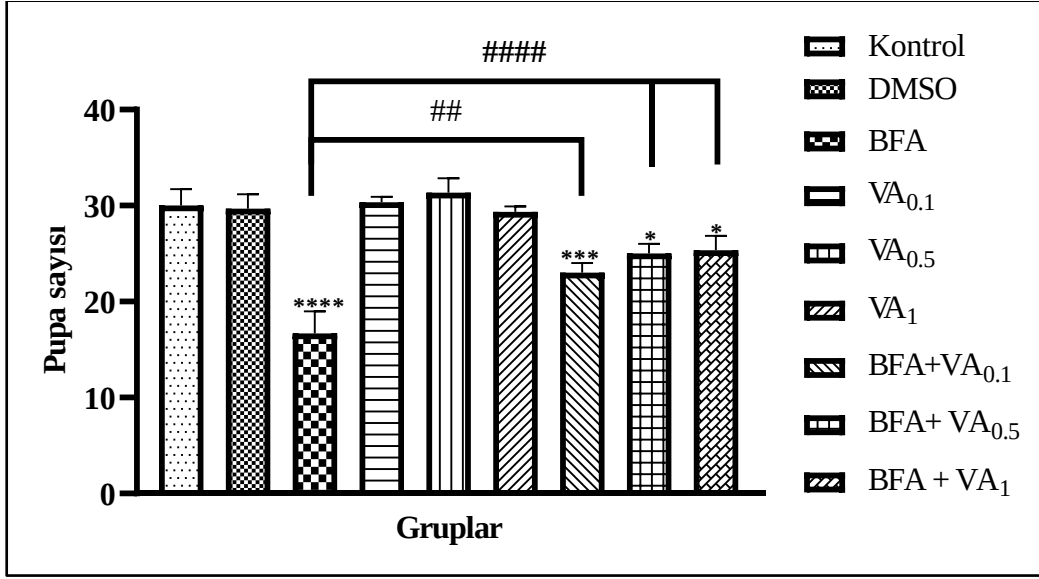
Bu tez çalışmasında *D. melanogaster*' in larva, dişi ve erkek popülasyonları kullanıldı. Kontrol ve deney grupları için çalışmalar eş zamanlı olarak başlatıldı.

4.1.1. GELİŞİMSEL PARAMETRE BULGULARI

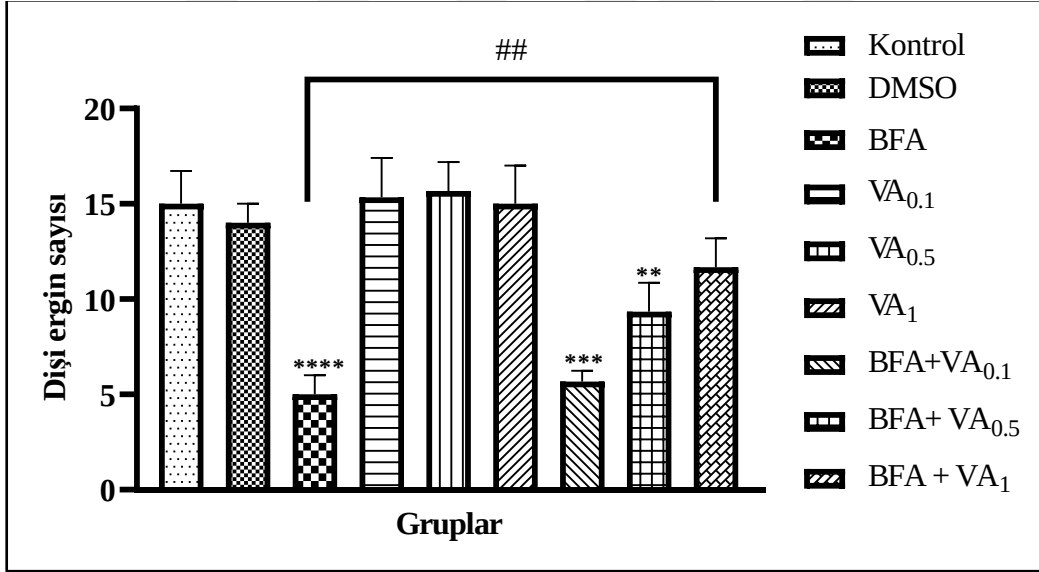
Gelişimsel parametreler; larval toksisite, larva sürünme testi, hayatta kalma testi, tırmanma testi, larva vücut ağırlığı ve uzunluğu testi ve gıda alım analizi yöntemleri kullanılarak yapılmış olup, elde edilen veriler bu bölümde sunulmaktadır.

4.1.1.1 Larval Toksisite Bulguları

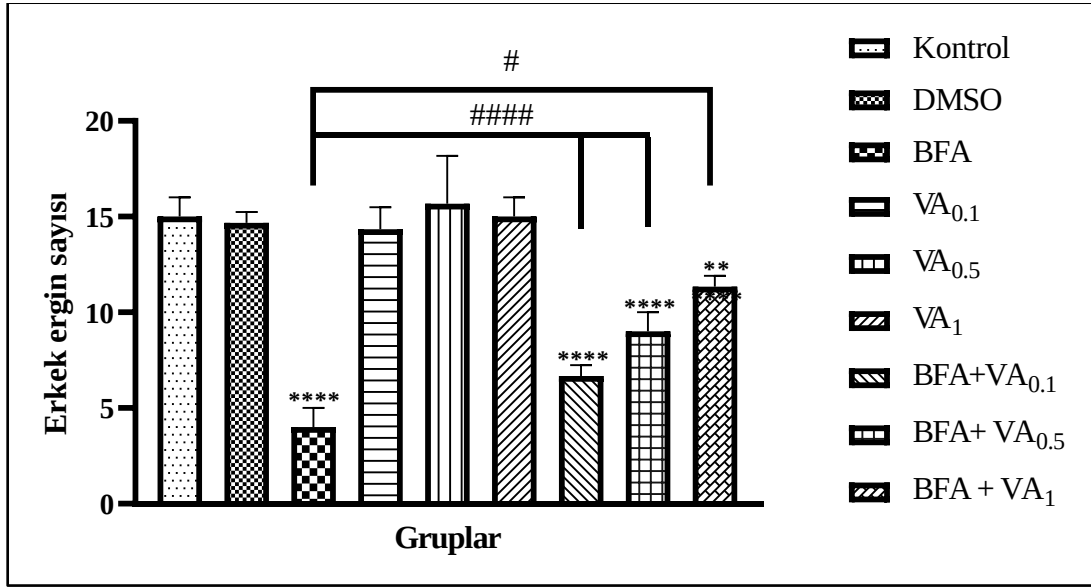
BFA ($p<0.0001$) ve BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p<0.0001$) ve 0.5 mg/ml ($p=0.0056$) uygulamalarında dişi *D. melanogaster*'lerin sayısında kontrole göre azalmanın, buna karşın BFA ile VA'nın 1 mg/ml uygulamasında ($p=0.0011$) ise artışın olduğu görüldü (Şekil 4.2). Benzer şekilde BFA ($p<0.0001$) ve BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p<0.0001$), 0.5 mg/ml ($p<0.0001$) ve 1 mg/ml ($p=0.0015$) uygulamalarında erkek *D. melanogaster* sayılarında kontrole göre azalma belirlenirken, BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p<0.0001$), 0.5 mg/ml ($p<0.0001$) ve 1 mg/ml ($p=0.0281$) uygulamalarında ise erkek *D. melanogaster*'lerin sayılarının BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi (Şekil 4.3). Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği belirlendi.



Şekil 4.1: Bisfenol A (BFA; 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen pupa oluşum sayıları. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (**** $p < 0.0001$; *** $p = 0.0003$; * $p = 0.0094$ ve 0.0170 ; ## $p = 0.0009$; #### $p < 0.0001$).



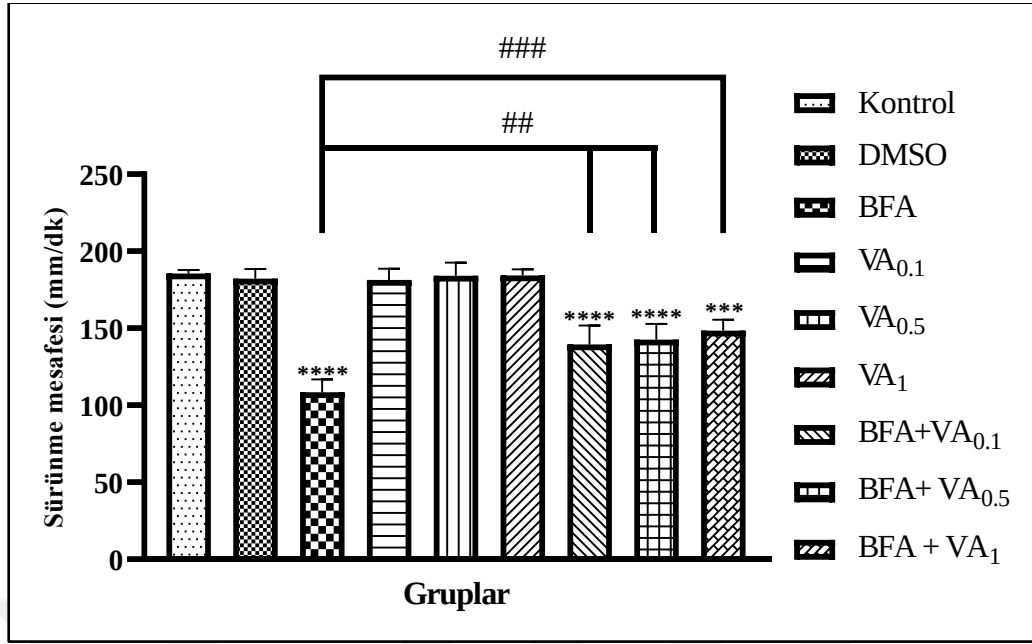
Şekil 4.2: Bisfenol A (BFA; 25mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen dişi sinek oluşum sayıları. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder. (**** $p < 0.0001$; ** $p = 0.0056$; ## $p = 0.0011$).



Şekil 4.3: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen erkek sinek oluşum sayıları. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (**** $p < 0.0001$; ** $p = 0.0015$; # $p = 0.0281$; ##### $p = 0.0001$).

4.1.1.2 Larva sürünme Testi Bulguları

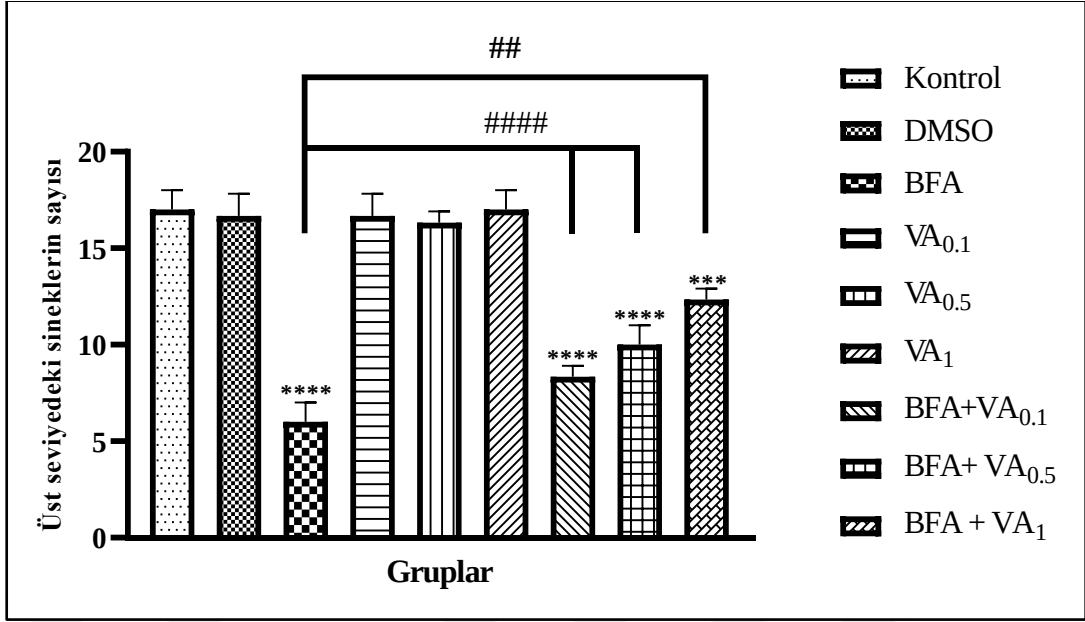
BFA ($p < 0.0001$) ve BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p < 0.0001$), 0.5 mg/ml ($p < 0.0001$) ve 1 mg/ml ($p = 0.0005$) uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin larvalarının sürünme mesafelerinde kontrole göre azalma belirlenirken, BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p = 0.0034$), 0.5 mg/ml ($p = 0.0012$) ve 1 mg /ml ($p = 0.0002$) uygulamalarında ise larval sürünme mesafelerinin BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Şekil 4.4). Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği görüldü.



Şekil 4.4: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen larval sürünme mesafesi. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; *** p=0.0005; ## p=0.0034 ve 0.0012; ### p=0.0002).

4.1.1.3 Tırmanma testi

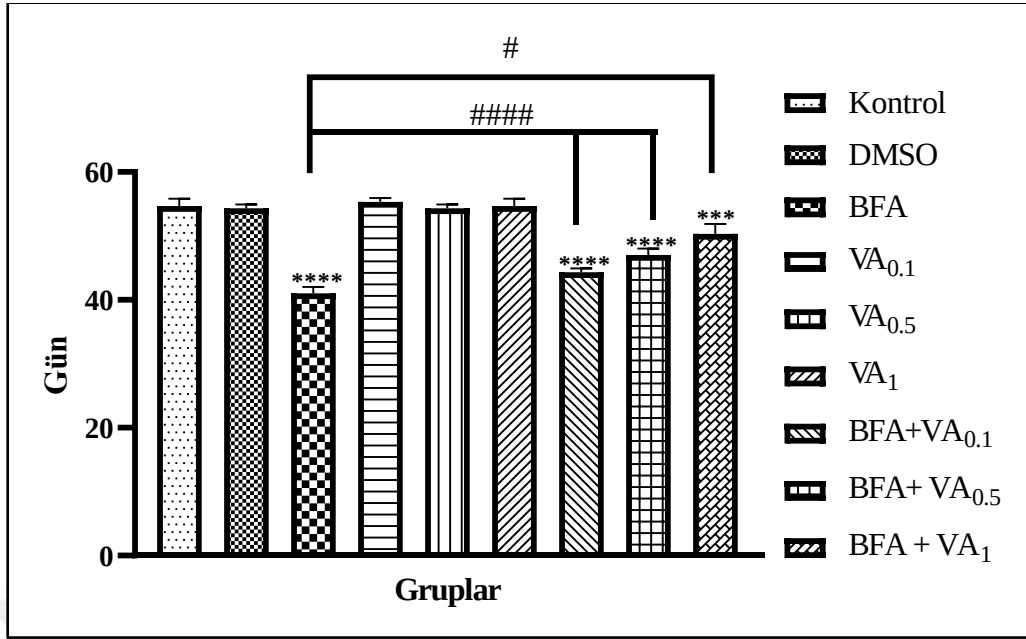
BFA (p<0.0001) ve BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml (p<0.0001), 0.5 mg/ml (p<0.0001) ve 1 mg/ml (p=0.0002) uygulamalarında tırmanan ergin *D. melanogaster* sayılarının kontrole göre daha az olduğu belirlendi. BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml uygulamasında önemlilik görülmemesine rağmen VA'nın 0.5 mg/ml (p=0.0012) ve 1 mg /ml (p<0.0001) uygulamalarında tırmanan ergin sinek sayılarının BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde fazla olduğu tespit edildi (Şekil 4.5). Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği görüldü.



Şekil 4.5: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile tırmanma gösteren sinek sayıları. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (**** $p < 0.0001$; *** $p = 0.0005$; ## $p = 0.0034$ ve 0.0012 ; ### $p = 0.0002$).

4.1.1.4 Hayatta kalma Testi Bulguları

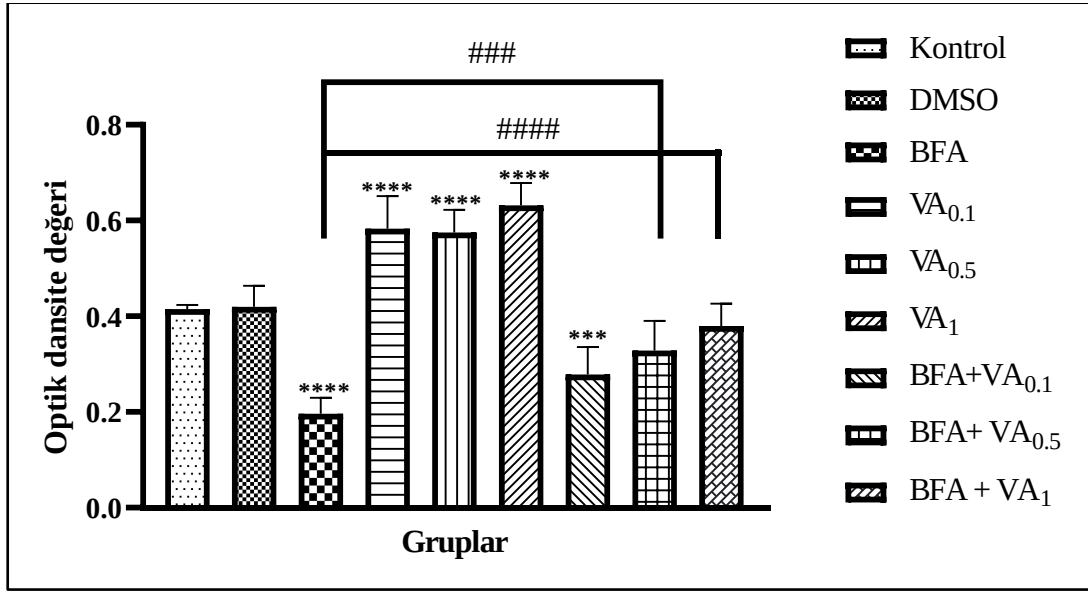
BFA ($p < 0.0001$) ve BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p < 0.0001$), 0.5 mg/ml ($p < 0.0001$) ve 1 mg/ml ($p = 0.0008$) uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin ömür uzunluğunda kontrole göre azalma belirlenirken, BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p < 0.0001$), 0.5 mg/ml ($p < 0.0001$) ve 1 mg /ml ($p = 0.0113$) uygulamalarında ise ömür uzunluklarının BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Şekil 4.6). Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği görüldü.



Şekil 4.6: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen ömür uzunluğu süresi. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; *** p= 0.0008; # p=0.0113; #### p=0.0001).

4.1.1.5 Larva Gıda Alım Analizi Bulguları

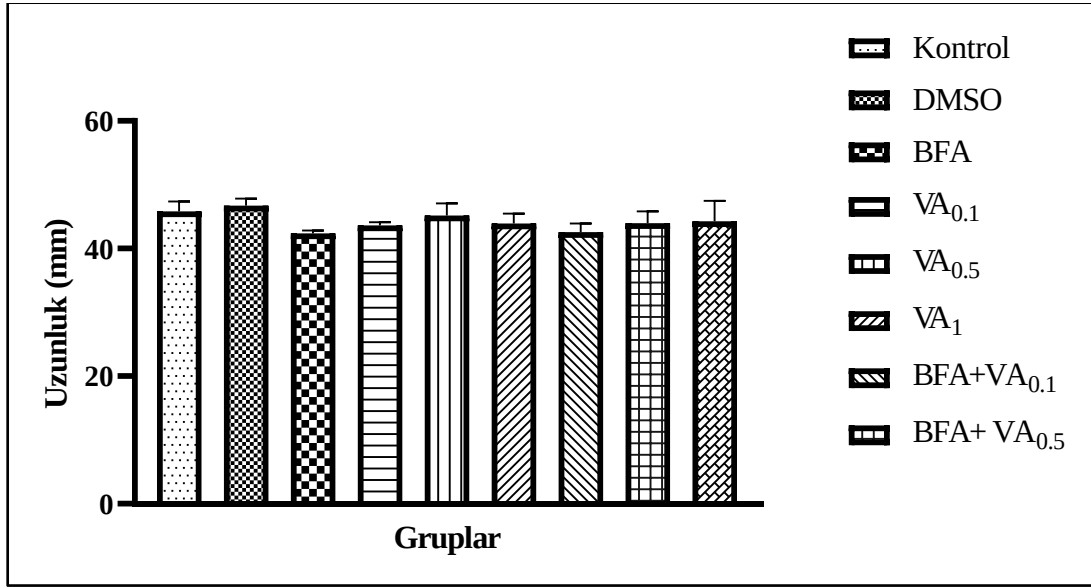
BFA ($p<0.0001$) ve BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml ($p=0.0005$) uygulamalarında larvaların gıda alımlarının kontrole göre daha az olduğu belirlenirken, BFA ile birlikte VA'nın 0.1 ve 0.5 mg/ml uygulamalarında ise kontrole göre gıda alımında önemli bir farklılığın olmadığı tespit edildi. BFA ile birlikte VA'nın 0.1 mg/ml uygulaması dışında 0.5 mg/ml ($p= 0.0008$) ve 1 mg /ml ($p<0.0001$) uygulamalarında ise larval gıda alımının BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi (Şekil 4.7). Ayrıca DMSO uygulamasının kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği, buna karşın 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml tek vanillik asit uygulamalarının kontrole göre gıda alımını arttırdığı ($p<0.0001$) belirlendi.



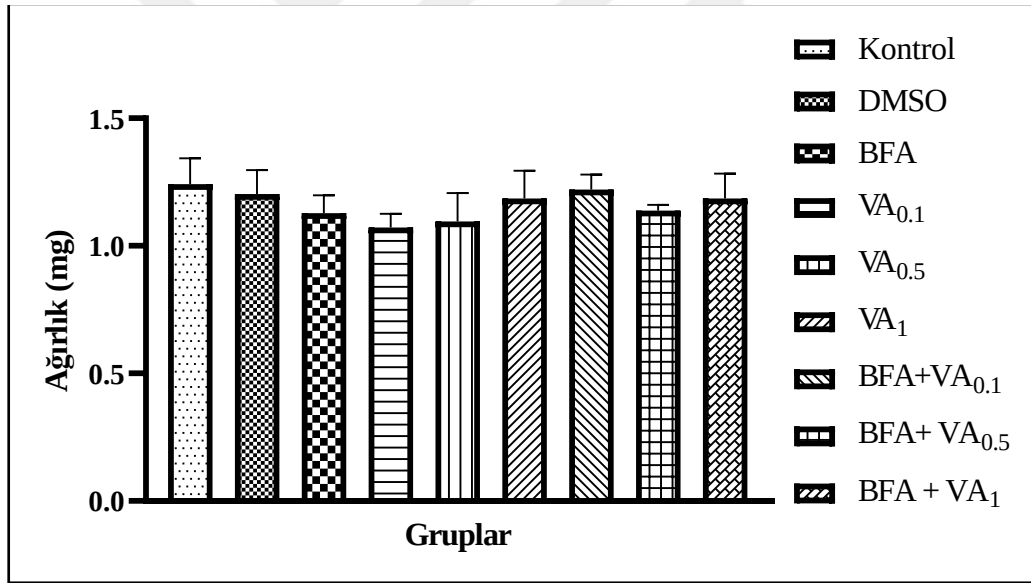
Şekil 4.7: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gıda alım absorbans sonuçları. *Kontrol ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; *** p=0.0005; ### p= 0.0008; #### p<0.0001).

4.1.1.6 Larva Vücut Ağırlığı ve Uzunluğu Bulguları

BFA (p<0.0001) ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1 mg/ml (p= 0.0003), 0.5 (p=0.0094) ve 1 mg/ml (p=0.0170) uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin pupa oluşumunda kontrole göre azalmanın olduğu belirlendi (Şekil 4.1). Bununla birlikte BFA ve vanillik asitin 0.1 mg/ml (p=0.0009), 0.5 ve 1 mg/ml (p<0.0001) uygulamaları ile bu sayıların BFA grubuna göre ise anlamlı bir şekilde arttığı görüldü. Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği belirlendi. Ayrıca, yapılan ölçümler neticesinde, BFA ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin larva uzunluk (Şekil 4.8) ve ağırlık (Şekil 4.9) değişimlerinin istatistiksel açıdan önemli olmadığı tespit edildi.



Şekil 4.8: Bisfenol A (BFA; 25mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen larva uzunlukları



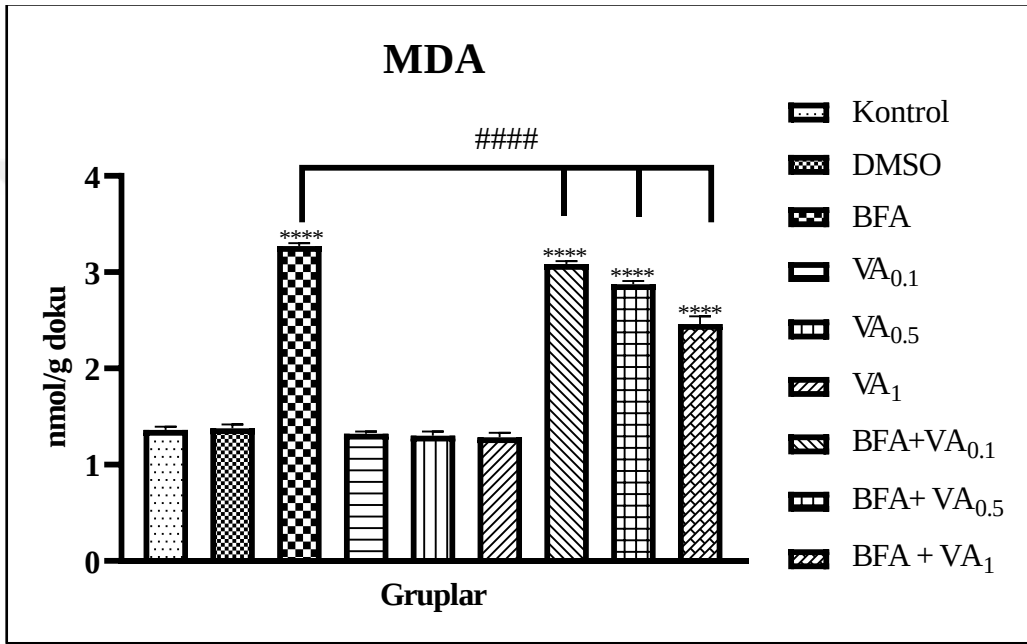
Şekil 4.9: Bisfenol A (BFA; 25mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmeleri ile gözlenen larva ağırlıkları

4.1.2 Biyokimyasal analiz Bulguları

BFA ve VA'ya maruz kalan *D. melanogaster* ergin bireyleri üzerinde MDA, GSH, SOD, CAT ve Protein biyokimyasal analizleri incelendi

4.1.2.1 MDA Bulguları

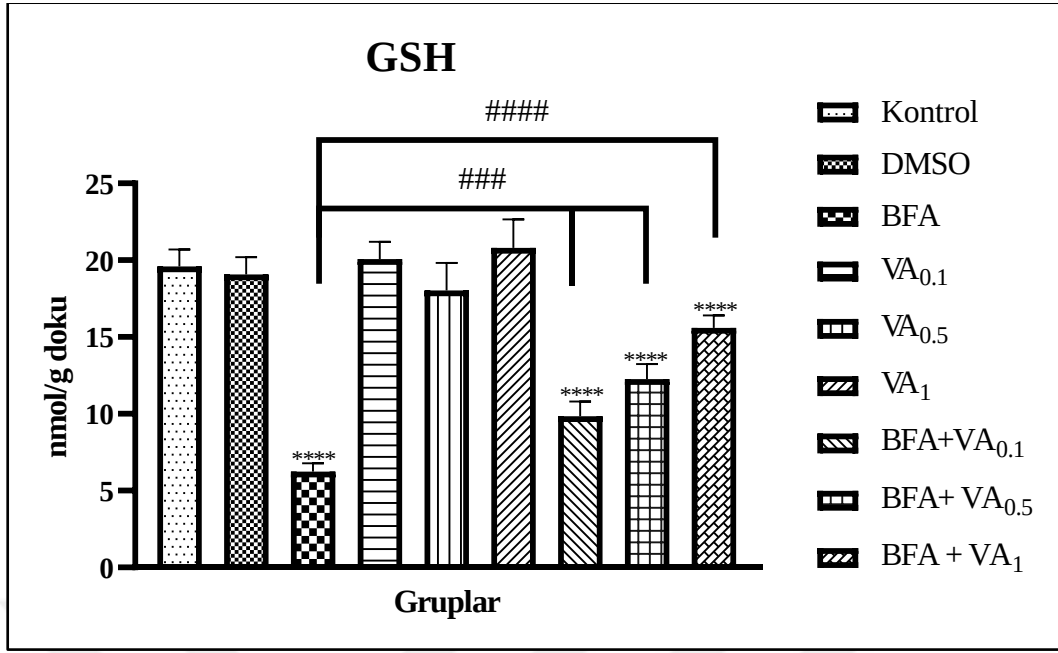
BFA ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin MDA seviyelerinde kontrole göre artışın ($p<0.0001$) olduğu belirlendi (Şekil 4.10). Bununla birlikte BFA ve vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml uygulamalarında ise MDA seviyelerinin BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı belirlendi ($p<0.0001$). DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının MDA düzeyinde kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği görüldü.



Şekil 4.10: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin MDA seviyeleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (**** $p<0.0001$; #### $p<0.0001$).

4.1.2.2 GSH Bulguları

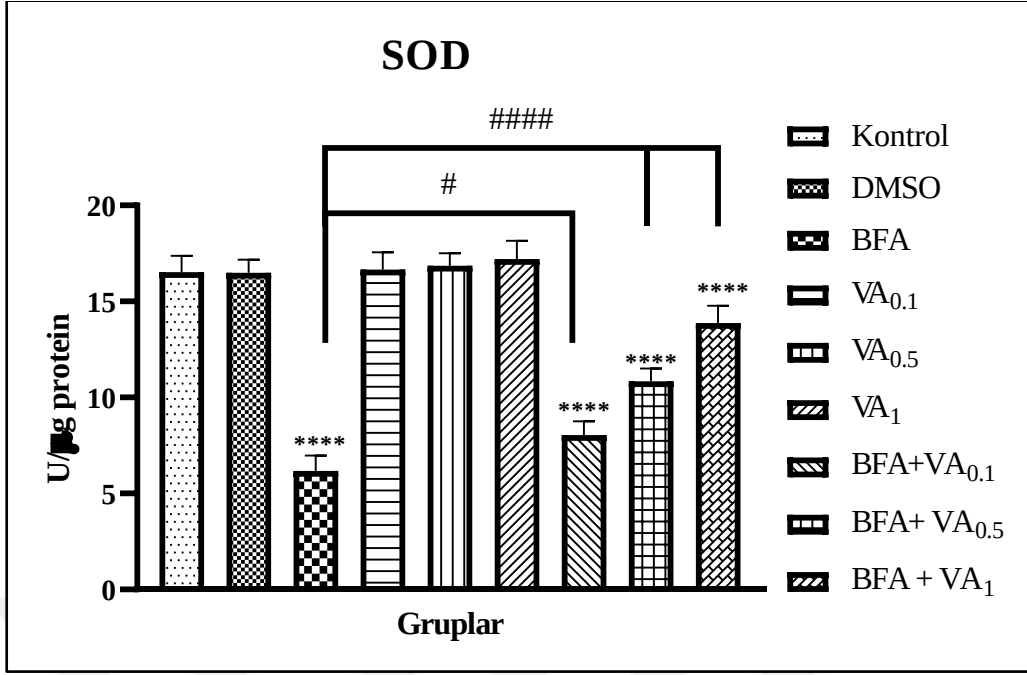
BFA ($p<0.0001$) ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml ($p<0.0001$) uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin GSH seviyelerinde kontrole göre azalışın olduğu görüldü (Şekil 4.11). Bununla birlikte BFA ve vanillik asitin 0.1 ($p<0.0001$), 0.5 ($p<0.0001$) ve 1 mg/ml ($p=0.0002$) uygulamalarında ise GSH seviyelerinin BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde artış gösterdiği tespit edildi. Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının GSH düzeyinde kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği görüldü.



Şekil 4.11: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin GSH seviyeleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; ### p=0.0002; #### p<0.0001).

4.1.2.3 SOD Bulguları

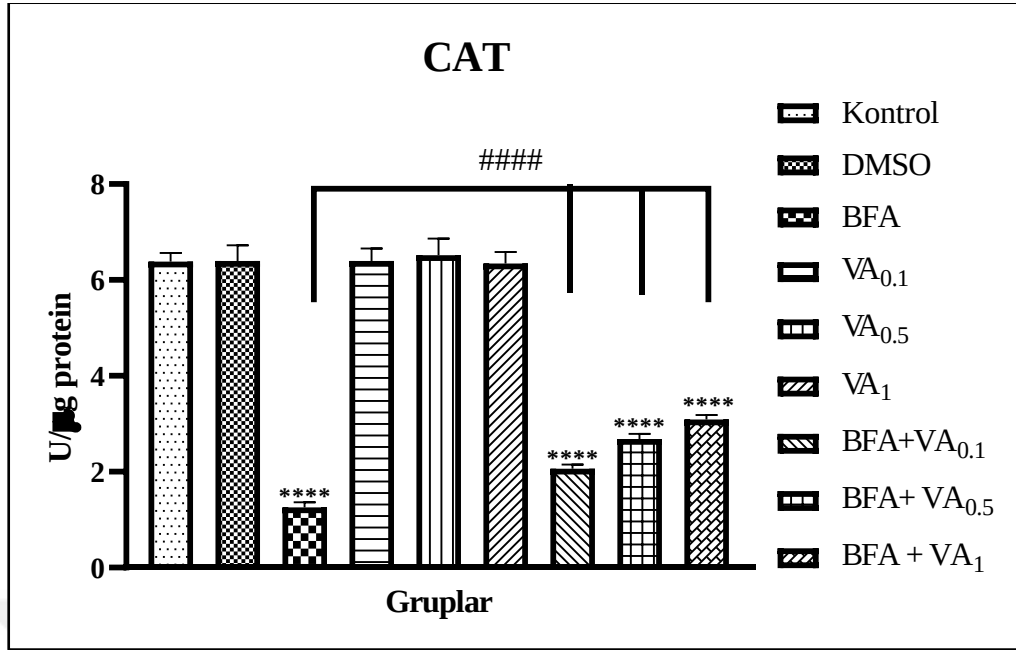
BFA (p<0.0001) ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml (p<0.0001) uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin SOD aktivitesinde kontrole göre azalışın olduğu belirlendi (Şekil 4.12). Bununla birlikte BFA ve vanillik asitin 0.1 (p=0.0057), 0.5 ve 1 mg/ml (p<0.0001) uygulamalarında ise SOD aktivite düzeylerinin BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde artış gösterdiği belirlendi. Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının SOD aktivitesinde kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği belirlendi.



Şekil 4.12: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin SOD aktivitesi üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; # p=0.0057; #### p<0.0001).

4.1.2.4 CAT Bulguları

BFA ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1 mg/ml, 0.5 mg/ml ve 1 mg/ml uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin CAT aktivitesinde kontrole göre azalışın (p<0.0001) olduğu görüldü (Şekil 4.13). Buna karşın BFA ve vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml uygulamalarında ise CAT aktivitelerinin BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde artış gösterdiği belirlendi (p<0.0001). Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının CAT aktivitesinde kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği belirlendi.



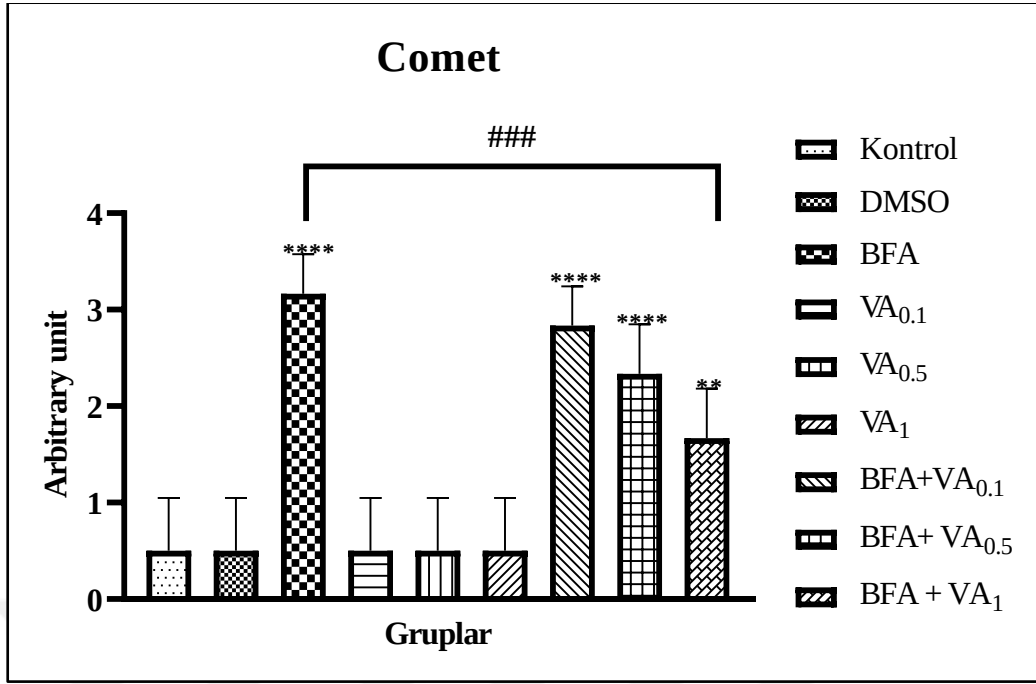
Şekil 4.13: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin CAT aktivitesi üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; #### p<0.0001).

4.1.3 Moleküler Analiz Bulguları

Moleküler analizler; Comet testi ve gen ekspresyonu analizi yöntemleri kullanılarak yapılmış olup, elde edilen veriler bu bölümde sunulmaktadır.

4.1.3.1 Comet Testi Bulguları

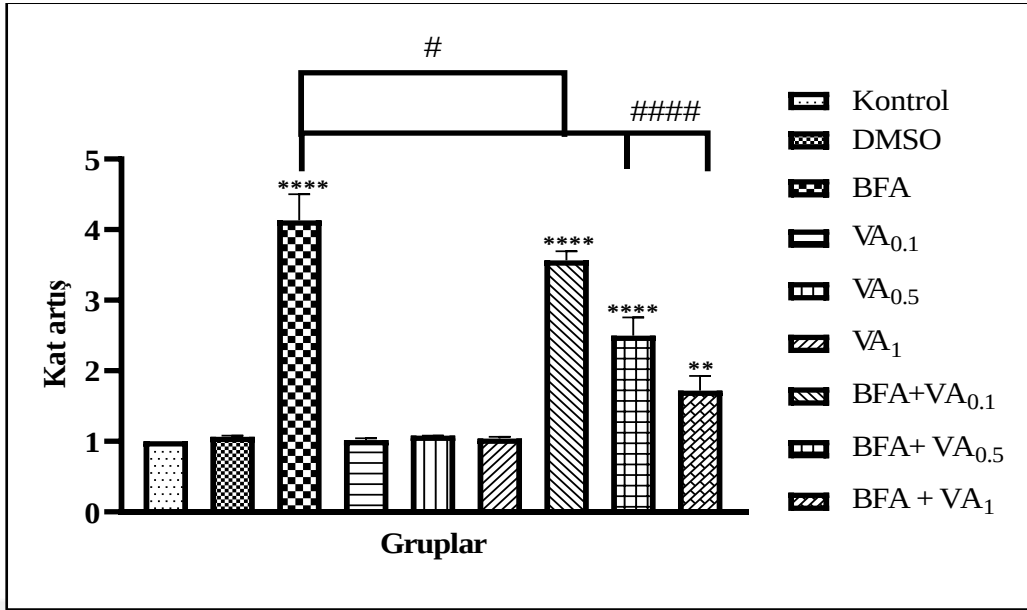
BFA (p<0.0001) ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1 (p<0.0001), 0.5 (p<0.0001) ve 1 mg/ml (p=0.0078) uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin DNA hasarı düzeylerinde kontrole göre artışın olduğu belirlendi (Şekil 4.14). Buna karşın BFA ve vanillik asitin 1 mg/ml uygulamalarında DNA hasarı düzeylerinde BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde azalışın şekillendiği tespit edildi (p= 0.0002). Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının DNA hasarı düzeylerinde kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği belirlendi.



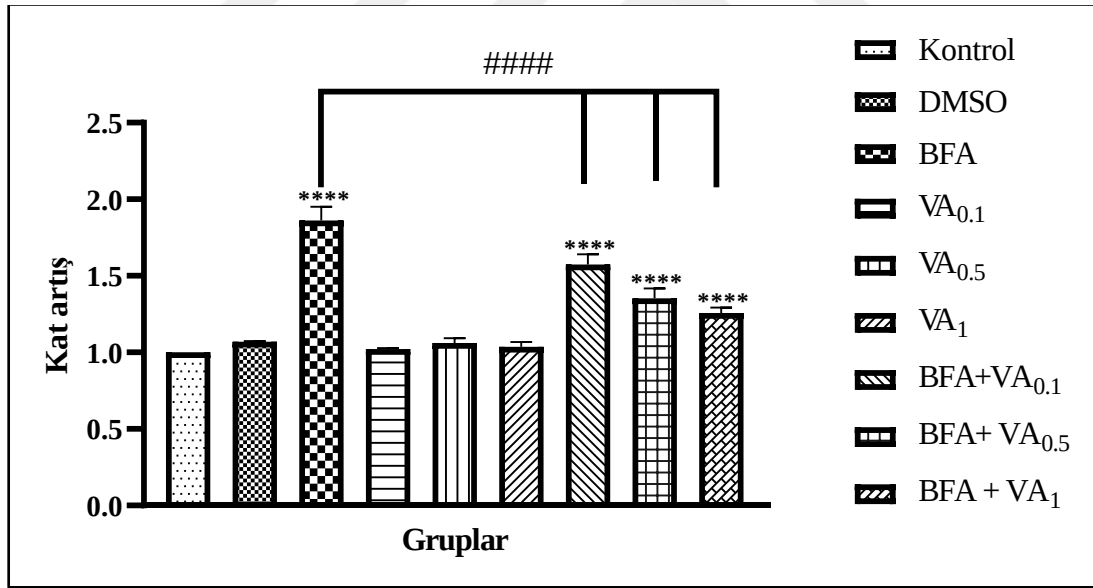
Şekil 4.14: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin DNA hasarı üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; **p=0.0078; ###p=0.0002).

4.1.3.2 Gen Ekspresyonu Bulguları

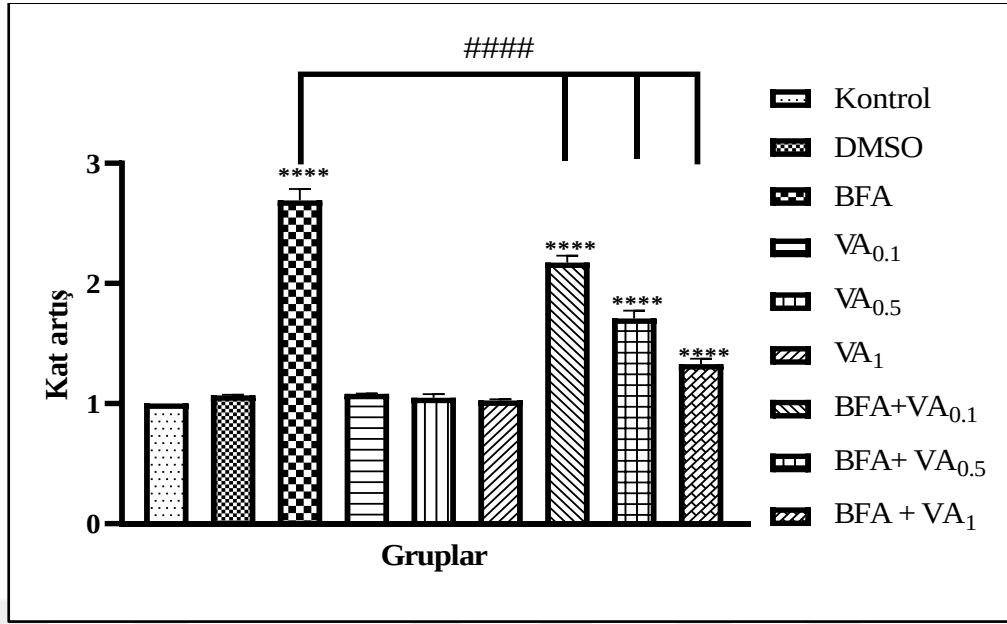
BFA ve BFA ile birlikte vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml uygulamalarında *D. melanogaster*'lerin *SOD* (Şekil 4.15), *CAT* (Şekil 4.16), *gclc* (Şekil 4.17), *hsp70* (Şekil 4.18), *Nrf2* (Şekil 4.19) ve *Keap1* (Şekil 4.2) mRNA ekspresyon düzeylerinde kontrole göre artışın ($p<0.0001$) olduğu belirlendi. Buna karşın BFA ve vanillik asitin 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml uygulamalarında bu genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinde BFA grubuna göre anlamlı bir şekilde azalışın şekillendiği görüldü ($p<0.0001$). Ayrıca DMSO ve tek vanillik asit uygulamalarının bu genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinde kontrole göre anlamlı bir değişim göstermediği belirlendi.



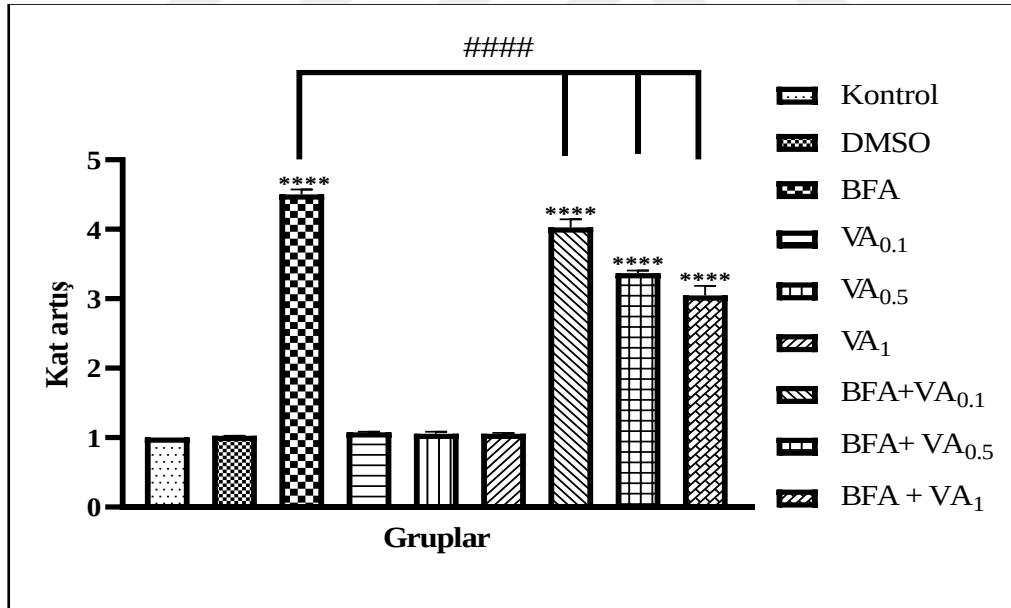
Şekil 4.15: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin *SOD* mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; **p=0.0018; #### p<0.0001).



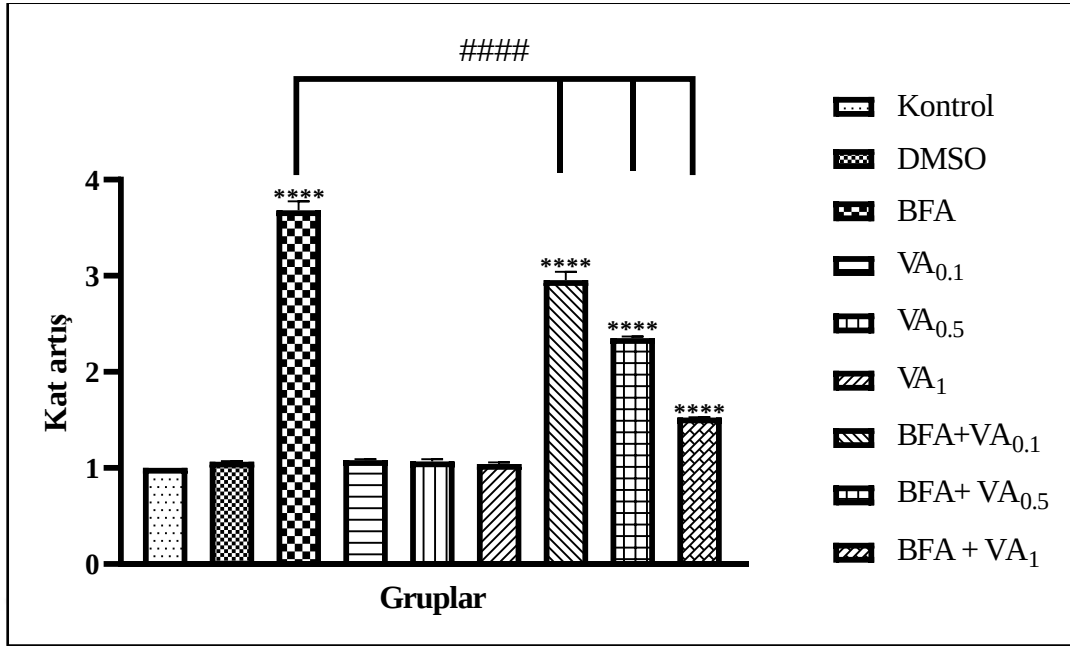
Şekil 4.16: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin *CAT* mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; #### p<0.0001).



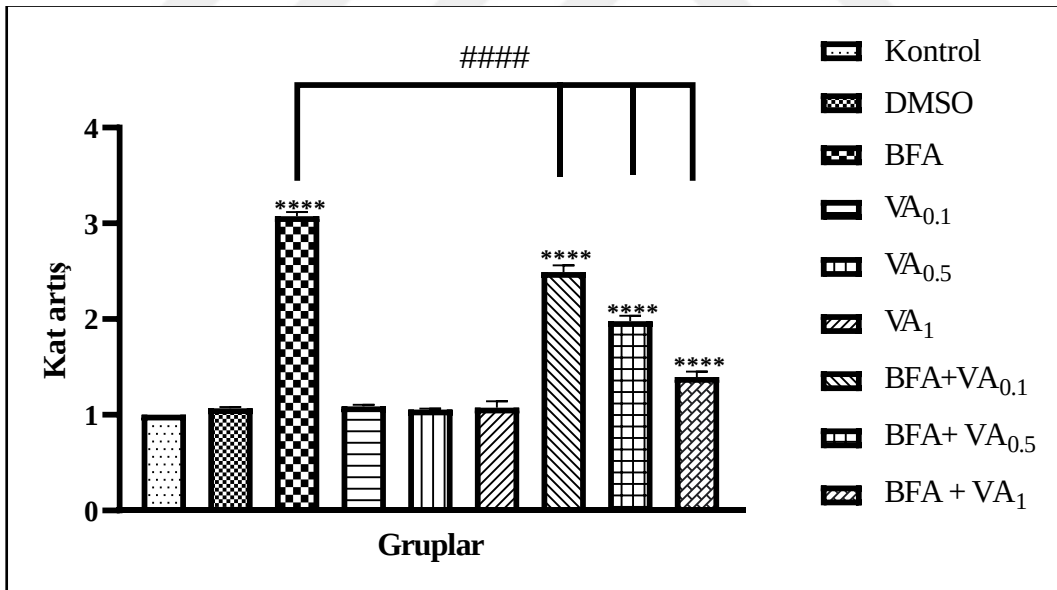
Şekil 4.17: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin *gclc* mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; ##### p<0.0001).



Şekil 4.18: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin *hsp70* mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (****p<0.0001; ##### p<0.0001).



Şekil 4.19: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin *Nrf2* mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder ($p < 0.0001$; #### $p < 0.0001$).



Şekil 4.20: Bisfenol A (BFA, 25 mM) ve vanillik asitin (VA) 0.1, 0.5 ve 1 mg/ml miktarlarında tek başlarına ve birlikte verilmelerinin *Keap1* mRNA ekspresyon düzeyleri üzerine etkileri. *Kontrole ve # BFA grubuna göre istatistiksel önemlilik ifade eder (**** $p < 0.0001$; #### $p < 0.0001$).

4.2. Tartışma

Bisfenol A (BFA), günlük yaşamda yaygın olarak karşılaşılan bir kimyasal olup, hücrelerde aşırı reaktif oksijen türleri (ROS) üretimi yoluyla redoks dengesini bozarak oksidatif strese neden olabilir (Gassman, 2017). BFA'nın oksidasyonu, hidroksil grupları içeren çeşitli yan ürünlerin yanı sıra bileşiğin halkalarının açılmasıyla farklı toksik bileşiklerin oluşumuna yol açar (Deborde vd., 2008), bu da canlı sağlığını tehdit eder. BFA'nın tetiklediği ROS artışı, hücresel antioksidan savunma mekanizması ile ROS üretimi arasındaki dengeyi bozarak oksidatif strese yol açar (Murphy, 2009). Bu durum, proteinler, lipitler, nükleik asitler gibi makromoleküllerde oksidatif hasara neden olarak gelişim bozuklukları, kanser, üreme problemleri, diyabet, kısırlık, kardiyovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok sağlık sorununun temelini oluşturabilir (Bhat vd., 2015; Tan vd., 2023). BFA'nın genotoksik ve toksik etkilerinin literatürde geniş bir şekilde raporlandığı görülmektedir (Đurovcová vd., 2022).

Bu çalışmada, BFA'nın *Drosophila melanogaster* üzerinde oksidatif stres, gelişimsel gerilik ve genotoksisiteye yol açtığı gözlemlenmiştir. 2.5 mM BFA maruziyetinin DNA'da kırıklar oluşturduğu (comet analizi ile gözlemlenmiştir), ayrıca tırmanma testinde sineklerin doğrusal olmayan, çarpma eğilimli hareketler sergilediği tespit edilmiştir. Musachio ve arkadaşlarının 2020 ve 2021 yıllarında gerçekleştirdiği çalışmalarla uyumlu olarak, BFA'nın sineklerin tırmanma yeteneğini olumsuz etkilediği ve 1 mM BFA konsantrasyonunda gelişimsel bozukluklara yol açtığı gözlemlenmiştir (Musachio vd., 2020, 2021). Buna ek olarak, BFA'ya maruz bırakılan larvaların pupa aşamasına geçiş hızında belirgin bir düşüş olduğu, BFA'nın larval gelişimi geciktirdiği ve pupa oluşum oranlarını azalttığı görülmüştür (Wang vd., 2023; Weiner vd., 2014; Sarkar vd., 2021).

BPA maruziyeti, diğer model organizmalarda (fareler, hamster, maymun ve insan hücreleri) da DNA kırıkları ve oksidatif strese yol açan genotoksik ve sitotoksik etkilerle ilişkilendirilmiştir (Huang vd., 2018a; Xin vd., 2015; Yuan vd., 2019; Harnett vd., 2021). *C. elegans* üzerinde yapılan çalışmalarda da benzer şekilde, BFA'nın yaşam süresini azalttığı, büyüme oranlarını düşürdüğü ve vücut boyutunda küçülme gözlemlendiği rapor edilmiştir (Hyun vd., 2021; Rathor vd., 2024). Ayrıca, bu çalışma sonuçları Musachio vd., (2021, 2022) ve Sarkar vd., (2021) tarafından *D. melanogaster* üzerinde yapılan çalışmalarda elde edilen bulgularla da uyumludur; BFA'nın yüksek dozlarda ömür uzunluğunu azalttığı ve hareket yeteneklerini etkilediği görülmüştür.

VA'nın BFA'nın zararlı etkilerine karşı koruyucu bir rol oynayabileceğine dair yapılan çalışmalar, VA'nın antioksidan, antidiyabetik ve antikanser özelliklerine dikkat çekmektedir (Atnip, 2010; Vinothiya ve Ashokkumar, 2017; Kaur vd., 2021). VA, BFA'nın neden olduğu ROS seviyelerini düşürerek oksidatif stresin zararlı etkilerini azaltmakta etkili görünmektedir. Örneğin, VA'nın CAT, SOD ve GST gibi antioksidan enzim aktivitelerini arttırdığı, ROS ve lipid peroksidasyonunu azalttığı ve mitokondriyal canlılığı desteklediği Musachio vd., (2021, 2022) ve Toraman ve Karaman (2024) çalışmalarında bildirilmiştir. Bu bulgular çalışmamızla da örtüşmektedir; BFA'nın varlığında düşen SOD, GST, CAT ve AChE enzim aktivitelerinin VA takviyesi ile arttığı, MDA seviyelerinin ise düştüğü gözlemlenmiştir. Ayrıca, He vd., (2022) çalışması VA'nın *Astragalus membranaceus* bitkisi ile desteklendiğinde *D. melanogaster* larvalarının büyüme oranlarını artırdığını ve pupa oluşumunu desteklediğini göstermiştir. Bu çalışmada, VA'nın sadece oksidatif stres seviyelerini azaltmakla kalmayıp, aynı zamanda BFA'nın yol açtığı büyüme ve gelişim bozukluklarına karşı da koruyucu etkiler sağladığı ortaya konulmuştur.

Dai vd., (2024) tarafından yapılan bir çalışmada, VA'nın H₂O₂ ile indüklenen sineklerde azalan Sod1, Cat, HO, Trxr-1 ve CncC gen ifadelerini geri kazandırdığı belirtilmiştir. Benzer şekilde, çalışmamızda VA'nın BFA maruziyetiyle azalan antioksidan enzim aktivitelerini ve genotoksisiteye karşı koruma sağladığını tespit ettik. Ayrıca, BFA'nın pupa oluşumunu engelleyici etkilerine rağmen, VA desteğinin larval gelişimi desteklediği ve yaşam süresini uzattığı bulunmuştur.

Bu çalışma, literatürde BFA'nın toksik ve genotoksik etkileri üzerine yapılan araştırmalara katkı sağlarken, VA'nın BFA'ya karşı potansiyel koruyucu bir ajan olarak değerlendirilebileceğini ortaya koymaktadır. BFA maruziyetine karşı VA'nın koruyucu etkileri, özellikle çevresel toksinlere karşı biyolojik bir savunma mekanizması olarak faydalı bir seçenek sunmaktadır.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sonuç olarak, bu çalışma Vanilik Asit'in (VA) Bisfenol A'nın (BFA) zararlı etkilerine karşı potansiyel koruyucu özelliklere sahip olduğunu göstermiştir. VA'nın antioksidan, anti-inflamatuar ve hücre koruyucu etkileri, BFA'nın neden olduğu oksidatif stres, genotoksisite ve hücre hasarı üzerinde belirgin iyileşmeler sağlamıştır. Çalışmamızda, VA'nın antioksidan enzim aktivitelerini (SOD, CAT, GST ve AChE) artırarak reaktif oksijen türlerinin (ROS) yol açtığı zararlı etkileri azalttığı gözlemlenmiştir. Ayrıca, VA'nın BFA maruziyetine bağlı olarak gözlenen gelişimsel bozukluklar ve ömür kısalmasını iyileştirdiği de kaydedilmiştir.

VA'nın, doğada bol miktarda bulunması ve düşük toksisite profiliyle öne çıkan bir bileşik olması, geniş kapsamlı koruyucu potansiyelini vurgulamaktadır. Çalışmamız, BFA gibi çevresel toksinlere karşı biyolojik bir savunma mekanizması olarak VA'nın faydalı bir ajan olarak değerlendirilebileceğini göstermekte ve bu konuda literatüre önemli bir katkı sunmaktadır. VA'nın koruyucu özelliklerinin insan sağlığı ve ekosistem için daha geniş bir perspektifle değerlendirilmesi önerilmektedir; bu bağlamda, daha ileri in vivo ve klinik çalışmalar, VA'nın çevresel toksinlere karşı kullanımını destekleyebilir.

KAYNAKLAR

- Ahmadi, N., Safari, S., Mirazi, N., Karimi, S. A., & Komaki, A. (2021). Effects of vanillic acid on A β 1-40-induced oxidative stress and learning and memory deficit in male rats. *Brain Research Bulletin*, 170: 264-273. <https://doi.org/10.1016/j.brainresbull.2021.02.024>
- Aksoy, H., Çuhadar, E. (2024). *Antihistaminik ilaçların D. melanogaster gelişimi üzerine etkileri*. Yüksek Lisans Tezi, Sakarya: Sakarya Üniversitesi. Fen Bilimleri Enstitüsü.
- Angeles, Yrbas, M., Morucci, F., Alonso, R., & Gorzalczy, S. (2015). Pharmacological mechanism underlying the antinociceptive activity of vanillic acid. *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 132: 88-95. <https://doi.org/10.1016/j.pbb.2015.02.016>
- Atnip, A. A. (2010). Oxidative Stabilities of Docosahexaenoic Acid Oil and Linoleic Acid in an Aqueous System. Yüksek Lisans Tezi. Ohio: Ohio State Üniversitesi, Gıda Bilimi ve Teknolojisi.
- Bhat, A. H., Dar, K. B., Anees, S., Zargar, M. A., Masood, A., Sofi, M. A., & Ganie, S. A. (2015). Oxidative stress, mitochondrial dysfunction and neurodegenerative diseases; a mechanistic insight. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 74, 101-110. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2015.07.025>
- Bousoumah, R., Leso, V., Iavicoli, I., Huuskonen, P., Viegas, S., Porras, S. P., ... & Ndaw, S. (2021). Biomonitoring of occupational exposure to bisphenol A, bisphenol S and bisphenol F: A systematic review. *Science of the Total Environment*, 783: 146905. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.146905>
- Cabaton, N. J., Wadia, P. R., Rubin, B. S., Zalko, D., Schaeberle, C. M., Askenase, M. H., ... & Soto, A. M. (2011). Perinatal exposure to environmentally relevant levels of bisphenol A decreases fertility and fecundity in CD-1 mice. *Environmental health perspectives*, 119(4): 547-552. <https://doi.org/10.1289/ehp.1002559>
- Chuang, H. W., Wei, I. H., Lin, F. Y., Li, C. T., Chen, K. T., Tsai, M. H., & Huang, C. C. (2020). Roles of Akt and ERK in mTOR-dependent antidepressant effects of vanillic acid. *ACS omega*, 5(7): 3709-3716. <https://doi.org/10.1021/acsomega.9b04271>
- Civolani, C., Barghini, P., Roncetti, A. R., Ruzzi, M., & Schiesser, A. (2000). Bioconversion of ferulic acid into vanillic acid by means of a vanillate-negative mutant of *Pseudomonas fluorescens* strain BF13. *Applied and environmental microbiology*, 66(6): 2311-2317. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.6.2311-2317.2000>
- Correia-Sá, L., Kasper-Sonnenberg, M., Schütze, A., Pálmke, C., Norberto, S., Calhau, C., ... & Koch, H. M. (2017). Exposure assessment to bisphenol A (BPA) in Portuguese children by human biomonitoring. *Environmental Science and Pollution Research*, 24: 27502-27514. <https://doi.org/10.1007/s11356-017-0358-7>

- Costa, H. E., & Cairrao, E. (2024). Effect of bisphenol A on the neurological system: A review update. *Archives of Toxicology*, 98(1): 1-73. <https://doi.org/10.1007/s00204-023-03614-0>
- Czarny-Krzyminińska, K., Krawczyk, B., & Szczukocki, D. (2023). Bisphenol A and its substitutes in the aquatic environment: Occurrence and toxicity assessment. *Chemosphere*, 315: 137763. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2023.137763>
- Dai, Y., Wang, Y., Kang, Q., Wu, Y., Liu, Y., Su, Y., ... & He, J. (2024). The protective effect and bioactive compounds of *Astragalus membranaceus* against neurodegenerative disorders via alleviating oxidative stress in *Drosophila*. *The FASEB Journal*, 38(13), e23727. <https://doi.org/10.1096/fj.202400390R>
- Dandekar, P., & Wasewar, K. L. (2020). Experimental investigation on extractive separation of vanillic acid. *Chemical Data Collections*, 30: 100564. <https://doi.org/10.1016/j.cdc.2020.100564>
- Deborde, M., Rabouan, S., Mazellier, P., Duguet, J. P., & Legube, B. (2008). Oxidation of bisphenol A by ozone in aqueous solution. *Water research*, 42(16), 4299-4308. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2008.07.015>
- Denizli, A., Yavuz, H. “İnsan Sağlığı için olası bir tehdit: Bisfenol A”, *Bilim Teknik Dergisi*, Eylül, 2015, No, 40-42, <https://www.bioreglab.org/site/assets/files/1515/bilim-teknik-eylul-2015-1.pdf>.
- Diepens, M, Gijsman, P. (2007). Photodegradation of bisphenol A polycarbonate. *Polym Degrad Stabil*, 92(3): 397–406. doi: 10.1016/j.polymdegradstab.2006.12.003
- Doc. Dr. Özlem, Üstay (2020). Endokrin bozucuların İnsan Vücuduna Zararları. Powerpoint sunusu. İstanbul: Marmara Üniversitesi. Tıp Fakültesi.
- Dupuis, J. H., Tsao, R., Yada, R. Y., & Liu, Q. (2017). Physicochemical properties and in vitro digestibility of potato starch after inclusion with vanillic acid. *LWT-Food Science and Technology*, 85: 218-224. <https://doi.org/10.1016/j.lwt.2017.07.010>
- Đurovcová, I., Kyzek, S., Fabová, J., Makuková, J., Gálová, E., & Ševčovičová, A. (2022). Genotoxic potential of bisphenol A: A review. *Environmental Pollution*, 306, 119346. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2022.119346>
- El-Hefnawy, M. A., Yehia, A., El Nashar, E. M., Saad, S., Obydah, W., Alghamdi, M. A., ... & Hussein, A. M. (2022). Effect of vanillic acid on pentylenetetrazole-kindled rats: Nrf2/HO-1, IGF-1 signaling pathways cross talk. *Journal of Integrative Neuroscience*, 21(1): 15. <https://doi.org/10.31083/j.jin2101015>
- Errico, S., Bianco, M., Mita, L., Migliaccio, M., Rossi, S., Nicolucci. (2014). Migration of Bisphenol A into canned tomatoes produced in Italy: dependence on temperature and storage conditions. *Food Chem*, 160: 157–64. doi: 10.1016/j.foodchem.2014.03.085

European Food Safety Authority, EFSA, 2014

- Fendoğlu, B. Y., Koçer-Gümüşel, B., & Erkekoğlu, P. (2019). Endokrin bozucu kimyasal maddelere ve etki mekanizmalarına genel bir bakış. *Hacettepe University Journal of the Faculty of Pharmacy Dergisi*, 39(1), 30-43. <https://dergipark.org.tr/en/pub/hujpharm/issue/51054/665831>
- Feng, Y., Carroll, A. R., Addepalli, R., Fechner, G. A., Avery, V. M., & Quinn, R. J. (2007). Vanillic acid derivatives from the green algae *Cladophora socialis* as potent protein tyrosine phosphatase 1B inhibitors. *Journal of natural products*, 70(11), 1790-1792. <https://doi.org/10.1021/np070225o>
- Flint, S., Markle, T., Thompson, S., Wallace, E. (2012). Bisphenol A exposure, effects and policy: a wildlife perspective. *J Environ Manage*, 104:19–34. doi: 10.1016/j.jenvman.2012.03.021
- Frat, L., Chertemps, T., Pesce, E., Bozzolan, F., Dacher, M., Planello, R., ... & Siaussat, D. (2023). Impact of single and combined exposure to priority pollutants on gene expression and post-embryonic development in *D. melanogaster*. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 250: 114491. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2022.114491>
- Gao, Y., Bi, L., Li, A., Du, M., Song, M., & Jiang, G. (2024). Associations of Bisphenols Exposure and Hyperuricemia Based on Human Investigation and Animal Experiments. *Environmental Science & Technology*. 58 (12): 5290–5298. <https://doi.org/10.1021/acs.est.4c00792>
- Gassman, N. R. (2017). Induction of oxidative stress by bisphenol A and its pleiotropic effects. *Environmental and molecular mutagenesis*, 58(2), 60-71. <https://doi.org/10.1002/em.22072>
- Gioia, C., Banella, M. B., Marchese, P., Vannini, M., Colonna, M., & Celli, A. (2016). Advances in the synthesis of bio-based aromatic polyesters: Novel copolymers derived from vanillic acid and ϵ -caprolactone. *Polymer Chemistry*, 7(34): 5396-5406. <https://pubs.rsc.org/en/content/articlelanding/2016/py/c6py00908e/unauth>
- Gong, J., Zhou, S., & Yang, S. (2019). Vanillic acid suppresses HIF-1 α expression via inhibition of mTOR/p70S6K/4E-BP1 and Raf/MEK/ERK pathways in human colon cancer HCT116 cells. *International Journal of Molecular Sciences*, 20(3): 465. <https://doi.org/10.3390/ijms20030465>
- Haudry, A., Laurent, S., Kapun, M. (2020). Population Genomics on the Fly: Recent Advances in *Drosophila*. In: Dutheil, J.Y. (eds) Statistical Population Genomics. Methods in Molecular Biology, vol 2090. Humana, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-0716-0199-0_15
- Harnett, K. G., Chin, A., & Schuh, S. M. (2021). Cytotoxic and apoptotic data of BPA and BPA alternatives TMBPF, BPAF, and BPS in female adult rat and human stem cells. *Data in Brief*, 37, 107183. <https://doi.org/10.1016/j.dib.2021.107183>

- He, J., Li, X., Yang, S., Shi, Y., Dai, Y., Han, S., ... & Xiu, M. (2022). Protective effect of astragalus membranaceus and its bioactive compounds against the intestinal inflammation in *Drosophila*. *Frontiers in Pharmacology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1019594>
- Huang, F. M., Chang, Y. C., Lee, S. S., Ho, Y. C., Yang, M. L., Lin, H. W., & Kuan, Y. H. (2018). Bisphenol A exhibits cytotoxic or genotoxic potential via oxidative stress-associated mitochondrial apoptotic pathway in murine macrophages. *Food and Chemical Toxicology*, 122, 215-224. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2018.09.078>
- Huang, X., Xi, Y., Mao, Z., Chu, X., Zhang, R., Ma, X., ... & You, H. (2019). Vanillic acid attenuates cartilage degeneration by regulating the MAPK and PI3K/AKT/NF- κ B pathways. *European Journal of Pharmacology*, 859: 172481. <https://doi.org/10.1016/j.ejphar.2019.172481>
- Hyun, M., Rathor, L., Kim, H. J., McElroy, T., Hwang, K. H., Wohlgemuth, S., ... & Han, S. M. (2021). Comparative toxicities of BPA, BPS, BPF, and TMBPF in the nematode *Caenorhabditis elegans* and mammalian fibroblast cells. *Toxicology*, 461, 152924. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2021.152924>
- Ingole, A., Kadam, M. P., Dalu, A. P., Kute, S. M., Mange, P. R., Theng, V. D., ... & Patil, P. A. (2021). A review of the pharmacological characteristics of vanillic acid. *Journal of Drug Delivery and Therapeutics*, 11(2): 200-204. <https://doi.org/10.22270/jddt.v11i2-S.4823>
- Inoue, M., Masuda, Y., Okada, F., Sakurai, A., Takahashi, I., & Sakakibara, M. (2008). Degradation of bisphenol A using sonochemical reactions. *Water research*, 42: 6-7, 1379-1386. <https://doi.org/10.1016/j.watres.2007.10.006>
- Itoh, A., Isoda, K., Kondoh, M., Kawase, M., Watari, A., Kobayashi, M., ... & Yagi, K. (2010). Hepatoprotective effect of syringic acid and vanillic acid on CCl₄-induced liver injury. *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 33(6): 983-987. <https://doi.org/10.1248/bpb.33.983>
- Izzotti, A., Kanitz, S., D'Agostini, F., Camoirano, A., De'Flora, S. (2009). Formation of adducts by bisphenol A, an endocrine disruptor, in DNA in vitro and in liver and mammary tissue of mice. *Mutat Res*, 679: 28-32. doi: 10.1016/j.mrgentox.2009.07.011
- Jang, B. ve Wilkie, C. (2005). Thermal degradation of bisphenol A polycarbonate in air. *Thermochimica acta*, 426 (1-2): 73-84. [https://doi.org/10.1016/0032-3861\(80\)90251-7](https://doi.org/10.1016/0032-3861(80)90251-7)
- Jiang, H., Kimura, T., Hai, H., Yamamura, R., & Sonoshita, M. (2022). *Drosophila* as a toolkit to tackle cancer and its metabolism. *Frontiers in Oncology*, 12: 982751. <https://doi.org/10.3389/fonc.2022.982751>
- Johnson, I. ve Harvey, P. (2002). Study on The Scientific Evaluation of 12 Substances In The Context of Endocrine Disrupter Priority List of Actions European Commission.

(Report no. Uc, 6052). WRC General Report: European Commission. (Contract No. 12834-0)

- Jung, Y., Park, J., Kim, H. L., Sim, J. E., Youn, D. H., Kang, J., ... & Um, J. Y. (2018). Vanillic acid attenuates obesity via activation of the AMPK pathway and thermogenic factors in vivo and in vitro. *The FASEB Journal*, 32(3): 1388-1402. <https://doi.org/10.1096/fj.201700231RR>
- Kang, J., Kito, K., Kondo, F. (2003). Factors influencing the migration of Bisphenol A from cans. *J Food Prot*, 66(8):1444–7. <https://doi.org/10.4315/0362-028x-66.8.1444>
- Kaur, J., Gulati, M., Gowthamarajan, K., Vishwas, S., Chellappan, D. K., Gupta, G., ... & Singh, S. K. (2021). Combination therapy of vanillic acid and oxaliplatin co-loaded in polysaccharide based functionalized polymeric micelles could offer effective treatment for colon cancer: A hypothesis. *Medical hypotheses*, 156: 110679. <https://doi.org/10.1016/j.mehy.2021.110679>
- Kaur, J., Gulati, M., Singh, S. K., Kuppusamy, G., Kapoor, B., Mishra, V., ... & Corrie, L. (2022). Discovering multifaceted role of vanillic acid beyond flavours: Nutraceutical and therapeutic potential. *Trends in Food Science & Technology*, 122: 187-200. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2022.02.023>
- Keser, D. (2010). Aspirin ve asetaldehitin *D. melanogaster*’in bazı gelişimsel özellikleri üzerine etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Kocaeli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Kocaeli, 10 s.
- Kim, H., Kim, K., & Yim, J. (2013). Biosynthesis of drospterins, the red eye pigments of *D. melanogaster* . *IUBMB life*, 65(4), 334-340.
- Kim, J. J., Kumar, S., Kumar, V., Lee, Y. M., Kim, Y. S., & Kumar, V. (2020). Bisphenols as a legacy pollutant, and their effects on organ vulnerability. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, 17(1): 112. <https://doi.org/10.3390/ijerph17010112>
- Kim, S. J., Kim, M. C., Um, J. Y., & Hong, S. H. (2010). The beneficial effect of vanillic acid on ulcerative colitis. *Molecules*, 15(10): 7208-7217. <https://doi.org/10.3390/molecules15107208>
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U., & Decordier, I. (2003). Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicology letters*, 140: 63-74. [https://doi.org/10.1016/S0378-4274\(02\)00498-8](https://doi.org/10.1016/S0378-4274(02)00498-8)
- Küçükbaşmacı, H. (2022). Fenolftalein ve bis-fenol a temelli yeni Schiff bazlarının sentezi ve metal iyonlarına karşı kolorimetrik veya fluorimetrik özelliklerinin incelenmesi. Yüksek Lisans Tezi. Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya Anabilim Dalı, Karaman, 8 s.

- Kumari, S., Kamboj, A., Wanjari, M., & Sharma, A. K. (2021). Nephroprotective effect of Vanillic acid in STZ-induced diabetic rats. *Journal of Diabetes & Metabolic Disorders*, 20: 571-582. <https://doi.org/10.1007/s40200-021-00782-7>
- Lashgari, N. A., Roudsari, N. M., Momtaz, S., Abdolghaffari, A. H., Atkin, S. L., & Sahebkar, A. (2023). Regulatory mechanisms of vanillic acid in cardiovascular diseases: A review. *Current Medicinal Chemistry*, 30(22): 2562-2576. <https://doi.org/10.2174/0929867329666220831152608>
- Li, C., Sang, C., Zhang, S., Zhang, S., & Gao, H. (2023). Effects of bisphenol A and bisphenol analogs on the nervous system. *Chinese Medical Journal*, 136(3). 295-304. <https://doi.org/10.1097/CM9.0000000000002170>
- Li, T., & Rosazza, J. P. (2000). Biocatalytic synthesis of vanillin. *Applied and Environmental Microbiology*, 66(2): 684-687. <https://doi.org/10.1128/AEM.66.2.684-687.2000>
- Li, X., Wang, L., Wang, S., Yang, Q., Zhou, Q., & Huang, X. (2018). A preliminary analysis of the effects of bisphenol A on the plant root growth via changes in endogenous plant hormones. *Ecotoxicology and environmental safety*, 150: 152-158. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2017.12.031>
- Lim, M., Yoon, C. M., An, G., & Rhee, H. (2007). Environmentally benign oxidation reaction of aldehydes to their corresponding carboxylic acids using Pd/C with NaBH₄ and KOH. *Tetrahedron letters*, 48(22): 3835-3839. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2007.03.151>
- Liu, J., Zhang, L., Lu, G., Jiang, R., Yan, Z., & Li, Y. (2021). Occurrence, toxicity and ecological risk of Bisphenol A analogues in aquatic environment—A review. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 208: 111481. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2020.111481>
- Mansoori, A. N., Gautam, R. K., & Tiwari, P. C. (2014) A review on genotoxicity. A review on genotoxicity. Jaipur Eczacılık Koleji Asya İlaç Araştırmaları Dergisi, 4(3), 162-165, <https://www.indianjournals.com/ijor.aspx?target=ijor:ajpr&volume=4&issue=3&article=007> (22.10.2014)
- Markey, C., Coombs, M., Sonnenschein, C., Soto, A. (2003). Mammalian development in a changing environment: exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid hormone target organs. *Evol Dev*. 5(1): 67–75. <https://doi.org/10.1046/j.1525-142X.2003.03011>
- Markow, T. A. (2015). The secret lives of Drosophila flies. *Ecology*, 4: e06793. <https://doi.org/10.7554/eLife.06793>
- Michałowicz, J. (2014). Bisphenol A—sources, toxicity and biotransformation. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 37(2): 738-758. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2014.02.003>

- Mpamhanga, C. D., & Kounatidis, I. (2024). The utility of *D. melanogaster* as a fungal infection model. *Frontiers in Immunology*, 15: 1349027. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2024.1349027>
- Murphy, M. P. (2009). How mitochondria produce reactive oxygen species. *Biochemical journal*, 417(1), 1-13. <https://doi.org/10.1042/BJ20081386>
- Musachio, E. A. S., Araujo, S. M., Bortolotto, V. C., de Freitas Couto, S., Dahleh, M. M. M., Poetini, M. R., ... & Prigol, M. (2020). Bisphenol A exposure is involved in the development of Parkinson like disease in *D. melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, 137, 111128. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2020.111128>
- Musachio, E. A. S., de Freitas Couto, S., Poetini, M. R., Bortolotto, V. C., Dahleh, M. M. M., Janner, D. E., ... & Prigol, M. (2021). Bisphenol A exposure during the embryonic period: Insights into dopamine relationship and behavioral disorders in *D. melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, 157, 112526. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112526>
- Musachio, E. A. S., Poetini, M. R., Janner, D. E., Meichtry, L. B., Poletto, K. H., Fernandes, E. J., ... & Prigol, M. (2022). Sex-specific changes in oxidative stress parameters and longevity produced by Bisphenol F and S compared to Bisphenol A in *D. melanogaster*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 257, 109329. <https://doi.org/10.1016/j.cbpc.2022.109329>
- Nath, A., Biswas, S., & Pal, A. (2022). A comprehensive review on BPA degradation by heterogeneous Fenton-like processes. *Water Science & Technology*, 86(4): 714-745. <https://doi.org/10.2166/wst.2022.219>
- Osorio-Paz, I., Valle-Jiménez, X., Brunauer, R., & Alavez, S. (2023). Vanillic Acid Improves Stress Resistance and Substantially Extends Life Span in *Caenorhabditis elegans*. *The Journals of Gerontology*, 78(7): 1100-1107. <https://doi.org/10.1093/gerona/glad086>
- Park, J., Cho, S. Y., Kang, J., Park, W. Y., Lee, S., Jung, Y., ... & Um, J. Y. (2020). Vanillic acid improves comorbidity of cancer and obesity through stat3 regulation in high-fat-diet-induced obese and b16bl6 melanoma-injected mice. *Biomolecules*, 10(8): 1098. <https://doi.org/10.3390/biom10081098>
- Pedersen, G. A., Hvilsted, S., & Petersen, J. H. (2015). Migration of bisphenol A from polycarbonate plastic of different qualities. *Environmental Project*, 1710, 51 s.
- Prokop, Z., Hankova, L. ve Jerabek, K. (2004). Bis-phenol A synthesis–modeling of industrial reactor and catalyst deactivation. *Reactive and Functional Polymers*, 60: 77-83. <https://doi.org/10.1016/j.reactfunctpolym.2004.02.013>
- Puttachary, S., Sharma, S., Stark, S., & Thippeswamy, T. (2015). Seizure-induced oxidative stress in temporal lobe epilepsy. *BioMed research international*, <https://doi.org/10.1155/2015/745613>

- Rathor, L., Lee, H. J., McElroy, T., Beck, S., Bailey, J. M., Wohlgemuth, S., ... & Hyun, M. (2024). Bisphenol TMC disturbs mitochondrial activity and biogenesis, reducing lifespan and healthspan in the nematode *Caenorhabditis elegans*. *bioRxiv*, 2024-05. <https://doi.org/10.1101/2024.05.20.595050>
- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reproductive toxicology*, 42: 132-155. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008>
- Rubin, B. S. (2011). Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of steroid biochemistry and molecular biology*, 127(1-2): 27-34. <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.05.002>
- Sabio, M. C., Alzogaray, R., & Fanara, J. J. (2024). Genetic architecture of the toxicological response to eucalyptol and citronellal in *D. melanogaster*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 202, 105938.
- Sarkar, A., Mahendran, T. S., Meenakshisundaram, A., Christopher, R. V., Dan, P., Sundararajan, V., ... & Mohideen, S. S. (2021). Role of cerium oxide nanoparticles in improving oxidative stress and developmental delays in *D. melanogaster* as an in-vivo model for bisphenol a toxicity. *Chemosphere*, 284, 131363. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.131363>
- Siraj, M. A., Howlader, M. S. I., Rahaman, M. S., Shilpi, J. A., & Seidel, V. (2021). Antinociceptive and sedative activity of *Vernonia patula* and predictive interactions of its phenolic compounds with the cannabinoid type 1 receptor. *Phytotherapy Research*, 35(2): 1069-1079. <https://doi.org/10.1002/ptr.6876>
- Souza, A. M., do Nascimento, Dantas, M. R., Secundo, E. L., da Costa Silvaa, E., Silva, P. F., Moreira, S. M. G., & de Medeiros, S. R. B. (2024). Are hydroxyapatite-based biomaterials free of genotoxicity? A systematic review. *Chemosphere*, 141383. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2024.141383>
- Sun, F., Kang, L., Xiang, X., Li, H., Luo, X., Luo, R., ... and Peng, X. (2016). Recent developments and advances in the detection of Bisphenol A. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 408: 6913-6927. <https://doi.org/10.1007/s00216-016-9791-6>
- Sungur, Ş., & Kanan, F. (2019). Termal kağıtlardaki bisfenol A'nın saptanması için optimizasyon çalışması. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 21(1): 397-403. <https://doi.org/10.25092/baunfbed.548550>
- Svensson, K., Tanner, E., Gennings, C., Lindh, C., Kiviranta, H., Wikström, S., & Bornehag, C. G. (2021). Prenatal exposures to mixtures of endocrine disrupting chemicals and children's weight trajectory up to age 5.5 in the SELMA study. *Scientific Reports*, 11(1): 11036. <https://doi.org/10.1038/s41598-021-89846-5>
- Şahin, N. (2014). Tekstil Endüstrisinde Kullanılan Bazı Tekstil Boyalarının *Drosophila Melanogaster*'de Toksik Ve Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi: FBE, Biyoloji Anabilim Dalı

- Tamtürk, E., & Atlı, E. (2019). *Resveratrolün D. melanogaster'in gelişimi üzerine etkilerinin incelenmesi* Master's thesis, Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi.
- Tan, S., Demir, P., & Arslan, A. (2022) Bisfenol A (BFA) ve halk sağlığı açısından önemi. *Fırat Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 2022, 34(1), 11-17, <https://dergipark.org.tr/en/pub/fufbd/issue/69012/991810>.
- Toraman, E., & Karaman, M. (2024). Investigation of the Effects of Maleic Acid and Vanillic Acid on Copper Toxicity in the *D. melanogaster* Model. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 13(3), 148-153. <https://doi.org/10.46810/tdfd.1454074>
- Tsai, W.T. (2006). Human health risk on environmental exposure to bisphenol-A: a review, *Journal of Environmental Science and Health Part C*, 24 (2): 225-255. <https://doi.org/10.1080/10590500600936482>
- Tutanç, L., Cansız, D., Alturfan, E. E., & Alturfan, A. (2021). Endokrin Bozucu Kimyasallar ve Tekstil Alanında Kullanımları. *Experimed*, 11(2): 130-139. <https://doi.org/10.26650/experimed.2021.880534>
- URL-1 (2024). <https://www.biyologlar.com/drosophila-melonagaster-genetigi>, Biyologlar, 2024.
- Usman, A., & Ahmad, M. (2016). From BPA to its analogues: Is it a safe journey?. *Chemosphere*, 158: 131-142. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.05.070>
- Uysal, H., & Çelik, H. (2023). Endüstriyel amaçlı kullanılan bazı boyar maddelerin mutajenik etkilerinin *Drosophila* kanat benek testi ile in vitro olarak belirlenmesi. *Eurasian Journal of Biological and Chemical Sciences*, 6(2): 94-103. <https://doi.org/10.46239/ejbcs.1377815>
- Vandenberg, L., Hauser, R, Marcus, M., Olea, N., Welshons, W. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Rep Toxicol.* 24:139–77. doi: 10.1016/j.reprotox.2007.07.010
- Vandenberg, L. N., Maffini, M. V., Sonnenschein, C., Rubin, B. S., & Soto, A. M. (2009). Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocrine reviews*, 30(1): 75-95. <https://doi.org/10.1210/er.2008-0021>
- Vinothiya, K., & Ashokkumar, N. (2017). Modulatory effect of vanillic acid on antioxidant status in high fat diet-induced changes in diabetic hypertensive rats. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 87: 640-652. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2016.12.134>
- Vogel, S. A. (2009). “The politics of plastics: the making and unmaking of bisphenol a “safety””, *American Journal of Public Health*. 99(S3), 559-566, <https://ajph.aphapublications.org/doi/abs/10.2105/AJPH.2008.159228?role=tab>.
- Vom, Saal, F. S., & Hughes, C. (2005). An extensive new literature concerning low-dose effects of bisphenol A shows the need for a new risk assessment. *Environmental Health Perspectives*, 113(8): 926-933. <https://doi.org/10.1289/ehp.7713>

- Wang, J., Wu, C., Zhang, X., Song, Y., Wang, B., Zhang, K., & Sun, M. (2023). Developmental neurotoxic effects of bisphenol A and its derivatives in *D. melanogaster* . *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 260, 115098. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2023.115098>
- Weiner, A. K., Ramirez, A., Zintel, T., Rose, R. W., Wolff, E., Parker, A. L., ... & Smith, S. T. (2014). Bisphenol A affects larval growth and advances the onset of metamorphosis in *D. melanogaster* . *Ecotoxicology and environmental safety*, 101, 7-13. <https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2013.12.008>
- Welshons, W. V., Nagel, S. C., & vom Saal, F. S. (2006). Large effects from small exposures. III. Endocrine mechanisms mediating effects of bisphenol A at levels of human exposure. *Endocrinology*, 147(6): 56-69. <https://doi.org/10.1210/en.2005-1159>
- Xin, L., Lin, Y., Wang, A., Zhu, W., Liang, Y., Su, X., ... & Tian, H. (2015). Cytogenetic evaluation for the genotoxicity of bisphenol-A in Chinese hamster ovary cells. *Environmental toxicology and pharmacology*, 40(2), 524-529. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.08.002>
- Yalameha, B., Nejabati, H. R., & Nouri, M. (2023). Cardioprotective potential of vanillic acid. *Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*, 50(3): 193-204. <https://doi.org/10.1111/1440-1681.13736>
- Yang, O., Kim, H. L., Weon, J. I., & Seo, Y. R. (2015). Endocrine-disrupting chemicals: review of toxicological mechanisms using molecular pathway analysis. *Journal of Cancer Prevention*, 20(1): 12. <https://doi.org/10.15430%2FJCP.2015.20.1.12>
- Ying, G. G., & Kookana, R. S. (2009). Sorption and degradation of estrogen- like-endocrine disrupting chemicals in soil. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 24(10): 2640-2645. <https://doi.org/10.1897/05-074R.1>
- Yousaf, M., Shoaib, A., Fatima, Q., Bukhari, S., Ali, N., & Fatima, U. (2023). "In Vitro Antifungal Potential of Vanillic Acid against *Sclerotium rolfsii*" *Journal of Bioresource Management*, 2023 10(2), 1-9, [https://corescholar.libraries.wright.edu/jbm/vol10/iss2/1/\(04.03.2023\)](https://corescholar.libraries.wright.edu/jbm/vol10/iss2/1/(04.03.2023)).
- Yuan, J., Kong, Y., Ommati, M. M., Tang, Z., Li, H., Li, L., ... & Wang, J. (2019). Bisphenol A-induced apoptosis, oxidative stress and DNA damage in cultured rhesus monkey embryo renal epithelial Marc-145 cells. *Chemosphere*, 234, 682-689. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2019.06.125>
- Zhang, M., Ma, B., Yang, S., Wang, J., & Chen, J. (2023). Bisphenol A (BPA) induces apoptosis of mouse Leydig cells via oxidative stress. *Environmental Toxicology*, 38(2): 312-321. <https://doi.org/10.1002/tox.23690>

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı Soyadı :

Doğum Yeri ve Tarihi :

Eğitim Durumu

Lisans Öğrenimi :

Yüksek Lisans Öğrenimi :

Bildiği Yabancı Diller :

Bilimsel Faaliyet/Yayınlar :

İş Deneyimi

Stajlar :

Projeler ve Kurs Belgeleri :

Çalıştığı Kurumlar :

İletişim

E-Posta Adresi :

Tarih :