



**BİSFENOL A İLE OKSİDATİF STRES
OLUŞTURULAN RATLARDA KARVAKROLÜN
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

Nurtaç KÜÇÜKBÜĞRÜ
Doktora Tezi
Danışman: Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ
Tez No: 2023-002
Afyonkarahisar

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK GIDA HİJYENİ VE TEKNOLOJİSİ ANABİLİM
DALI
DOKTORA TEZİ

BİSFENOL A İLE OKSİDATİF STRES OLUŞTURULAN
RATLARDA KARVAKROLÜN ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Hazırlayan
Nurtaç KÜÇÜKBÜĞRÜ

Danışman
Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

Tez No: 2023-002

AFYONKARAHİSAR

Bu tez çalışması; Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri
Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından Desteklenmiştir. Proje No:

“21.SAĞ.BİL.32”

TEZ KABUL VE ONAY SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü **Veterinerlik Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı'nda** Nurtaç KÜÇÜKBÜĞRÜ tarafından hazırlanan “Bisfenol A İle Oksidatif Stres Oluşturulan Ratlarda Karvakrolün Etkisinin Araştırılması” adlı tez çalışması Afyon Kocatepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliği'nin ilgili maddeleri uyarınca 17 / 01 / 2023 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından **oy birliği** ile **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir

Başkan

Prof. Dr. Zeki GÜRLER

Üye

Prof. Dr. Sinan İNCE

Üye

Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Tuncer ÇAKMAK

Üye

Dr. Öğr. Üyesi Sema ÖZMERT ERGİN

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun

..... / / tarih ve

..... sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. Esmâ KOZAN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİMİ

Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Bilimsel Yayın Etiği İlkeleri ve Tez Yazım Kurallarına

uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Bu tezin herhangi bir bölümünü Afyon Kocatepe Üniversitesi veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

...../...../.....

İmza

Nurtaç KÜÇÜKBÜĞRÜ

ÖZET

Bisfenol A İle Oksidatif Stres Oluşturulan Ratlarda Karvakrolün Etkisinin Araştırılması

Bisfenol A (BPA) günlük hayatta sıklıkla maruz kalınan, çevresel olarak çok yaygın bulunduğu tespit edilen bir bileşiktir. BPA insan maruziyeti çok sık görülen endokrin bozucu bir kimyasaldır. Bu maddenin bilinçsizce kullanımının ekosistem ve halk sağlığı üzerinde olumsuz etkileri çoğu araştırmaya konu olmuştur. Bu çalışma BPA'nın neden olduğu oksidatif strese maruz kalan ratlarda karvakrolün olası koruyucu etkisini araştırmayı amaçladı. Çalışmada toplam 42 adet Wistar Albino rat kullanıldı. Çalışma süresi 30 gün sürdü. Deney hayvanlarına BPA ve karvakrol gastrik gavaj yoluyla verildi. 1. Grup negatif kontrol grubu olarak belirlendi. 2. Grup yağ grubu olarak belirlendi. 3. Grup pozitif kontrol grubu olarak belirlendi. 3., 4., 5., 6. Gruplara günde bir defa 25 mg/kg BPA verildi. Ayrıca, 4. ve 6. gruplara sırasıyla 12,5, 25 ve 50 mg/kg karvakrol günde bir defa verildi. Alınan dokularda oksidatif stres parametreleri (SOD ve CAT aktivite düzeyleri, MDA ve GSH seviyeleri) patolojik analizleri ve moleküler analizleri (IFN- γ , NF κ B ve TNF- α proinflamatuvar genleri) yapıldı. BPA uygulamasıyla antioksidan enzimlerin aktivite düzeyleri ve glutatyon düzeylerinde azalma görülürken lipid peroksidasyon seviyelerinde artış görüldü. Dokularda histopatolojik değişiklikler ve proinflamatuvar genlerin ekspresyon seviyelerinde yükselme ve gözlemlendi. Karvakrol uygulamasının bu olumsuz etkileri tersine çevirdiği görüldü. Çalışmanın sonucunda BPA ile meydana getirilen oksidatif strese karşı karvakrolün doğal antioksidan olarak koruyucu etkisinin olduğu belirlendi.

Anahtar Kelimeler: Antioksidan, Bisfenol A, Karvakrol, Oksidatif Stres

SUMMARY

Investigation of The Effect of Carvacrol Against Bisphenol A-Induced Oxidative Stress in Rats

Bisphenol A (BPA) is a compound that is frequently exposed in daily life and found to be very common in the environment. BPA is an endocrine-disrupting chemical that is very common in human exposure. The negative effects of the inappropriate use of this substance on ecosystem and public health were issued in many studies. This study aimed to investigate the possible protective effect of carvacrol in rats exposed to oxidative stress caused by BPA. A total of 42 Wistar Albino rats were employed in the study. The working period lasted 30 days. BPA and carvacrol were given to the experimental animals by gastric gavage. Group 1 was served as the negative control group. The second group was served as the fat group. Group 3 was determined as the positive control group. Groups 3, 4, 5, and 6 were given 25 mg/kg BPA once a day. In addition, 12.5 , 25 and 50 mg/kg carvacrol were given once a day to groups 4.5 and 6, respectively. Oxidative stress parameters (SOD and CAT activity levels, MDA and GSH levels) pathological analyzes and molecular analyzes (IFN- γ , NF κ B and TNF- α proinflammatory genes) were performed in the obtained tissues. With BPA application, the activity levels of antioxidant enzymes and glutathione levels decreased, while lipid peroxidation levels increased. Histopathological alterations in tissues and increased expression levels of proinflammatory genes were observed. It was shown that the administration of carvacrol reversed these negative effects. Consequently, it was determined that carvacrol has a protective effect as a natural antioxidant against oxidative stress caused by BPA.

Keywords: Antioxidant, Bisphenol A, Carvacrol, Oxidative Stress

ÖNSÖZ

Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü'nde Doktora Tezi olarak sunduğum bu tez çalışmasının tamamlanmasında, değerli bilgi ve yardımlarıyla beni yönlendiren, deneysel çalışmalarımın tüm aşamalarında yardımını esirgemeyen ve teşvik eden değerli Danışman Hocam Doç. Dr. Ulaş ACARÖZ'e ve eşi Doç. Dr. Damla ARSLAN ACARÖZ'e, Dr. Öğretim Üyesi Hasan Hüseyin DEMİREL'e, Gıda Hijyeni ve Teknolojisi Anabilim Dalı hocalarımız Prof. Dr. Zeki GÜRLER ve Doç. Dr. Recep KARA'ya, eşim Fatih KÜÇÜKBÜĞRÜ'ye ve aileme tüm içtenliğimle teşekkürlerimi sunarım. Tez çalışmam Afyon Kocatepe Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi (BAPK) Tarafından 21.SAĞ.BİL.32 proje numarasıyla desteklenmiştir. Verilen desteklerden dolayı teşekkür ederim.

Nurtaç KÜÇÜKBÜĞRÜ

Afyonkarahisar

2023

İÇİNDEKİLER

ÖZET	i
SUMMARY	ii
ÖNSÖZ	iii
İÇİNDEKİLER.....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	viii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	ix
RESİMLER DİZİNİ.....	x
1. GİRİŞ.....	1
1.1. ENDOKRİN BOZUCU KİMYASALLAR (EDC)	1
1.1.1. Bisfenol A (BPA).....	3
1.1.2. BPA’nın Kullanım Alanları	6
1.1.3. BPA Maruziyeti.....	8
1.1.4. BPA ile İlgili Yapılmış Bazı Deneysel Çalışmalar	10
1.2. ANTİOKSİDANLAR	13
1.2.1. Karvakrol.....	14
1.2.2. Karvakrolün Antioksidan Aktivitesi	17
1.3. OKSİDATİF STRES.....	18
1.3.1. BPA’nın Oksidatif Stres ile İlişkisi	20
2. MATERYAL VE METOT	21
2.1. DENEY HAYVANLARI VE ETİK KURUL ONAYI	21
2.2. ÇALIŞMA YÖNTEMİ	21
2.3. ANESTEZİ VE SAKRİFİKASYON AŞAMASI.....	22
2.4. DOKU HOMOJENİZASYONU	23
2.5. SÜPEROKSİD DİSMUTAZ (SOD) TAYİNİ	23

2.6. KATALAZ (CAT) AKİVİTESİNİN TAYİNİ.....	23
2.7. MALONDİALDEHİT (MDA) TAYİNİ	24
2.8. REDÜKTE GLUTATYON (GSH) TAYİNİ.....	24
2.9. HİSTOPATOLOJİK DEĞERLENDİRME	25
2.10. DOKU TAKİBİ	25
2.11. MOLEKÜLER ANALİZLER	25
2.12. İSTATİSTİKSEL ANALİZ.....	27
3. BULGULAR	28
3.1. OKSİDATİF STRES PARAMETRELERİNDEKİ DEĞİŞİMLER.....	28
3.1.1. MDA Düzeyleri.....	29
3.1.2. GSH Düzeyleri	30
3.1.3. SOD Aktivite Düzeyleri	31
3.1.4. Katalaz Aktivite Düzeyleri	32
3.1.5. Karaciğer ve Böbrekte Değişen Biyokimyasal Gen Parametreleri	33
3.2. HİSTOPATOLOJİK BULGULAR	36
3.2.1. Beyin Dokusu Histopatolojik İncelemesi.....	37
3.2.2. Akciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi	37
3.2.3. Kalp Dokusu Histopatolojik İncelemesi	38
3.2.4. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi	38
3.2.5. Böbrek Dokusu Histopatolojik İncelemesi	39
3.2.6. Testis Dokusu Histopatolojik İncelemesi.....	39
4. TARTIŞMA.....	40
5. SONUÇ VE ÖNERİLER	46
6. KAYNAKLAR.....	47
7. EKLER	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.
ÖZGEÇMİŞ	HATA! YER İŞARETİ TANIMLANMAMIŞ.

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

ALP:	Alkalen Fosfataz
ALT:	Alanin Aminotransferaz
APAP:	Asetaminofen
AST:	Aspartat Aminotransferaz
BHT:	Bütillendirilmiş Hidroksi Toluen
Bis-GMA:	Bisfenol A-Glisidil dimetakrilat
BPA:	Bisfenol A
CAR:	Karvakrol
CAT:	Katalaz
CP:	Sisplatin
DDT:	Dikloro Difenil Trikloroetan
DES:	Dietilstilbesterol
DNA:	Deoksiribonükleik Asit
DOX:	Doksorubisin
EDC:	Endokrin Bozucu Kimyasallar
EDSTAC:	Endokrin Bozucu Tarama ve Test Danışma Komitesi
EDTA:	Etilendiamin Tetraasetik Asit
EFSA:	Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi
FDA:	Amerikan Gıda ve İlaç Dairesi
g:	Gram
GA:	Gallik Asit
GPX:	Glutasyon Peroksidaz
GR:	Glutasyon Redüktaz
GSH:	Redükte Glutasyon
GSH-Px:	Glutasyon Peroksidaz
GST:	Glutasyon S-Transferaz
H₂O₂:	Hidrojen peroksit
HPLC:	Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi
IFN-γ:	İnterferon Gama

IUPAC: Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği

LOAEL: En düşük gözlemlenen yan etki seviyesi

m³: Metre Küp

MDA: Malondialdehit

mg: Miligram

ml: Mililitre

mRNA: Mesajcı Ribonükleik Asit

NADH: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotit

NADPH: Redükte Nikotinamid Adenin Dinükleotit Fosfat

NAS: N-asetilsistein

NF B: Nükleer Faktör Kabba B

ng: Nanogram

NSO: Nigella sativa yağı

PAH: Poliaromatik Hidrokarbonlar

PCB: Poliklorlu Bifeniller

pH: Hidrojen İyon Konsantrasyonu

ppm: Milyonda bir birim

PVC: Polivinil klorür

ROS: Reaktif Oksijen Türler

SF: Serum Fizyolojik

SOD: Süperoksit Dismutaz

TAA: Tiyoasetamid

TGK: Türk Gıda Kodeksi

TNF: Tümör Nekroz Faktörü

TNF- : Tümör Nekroz Faktör Alfa

 g: Mikrogram

 m: Mikrometre

ŞEKİLLER DİZİNİ

	SAYFA
Şekil 1.1. BPA'nın kimyasal yapısı	4
Şekil 1.2. Fenol ile asetondan BPA sentezi	5
Şekil 1.3. Karvakrolün kimyasal yapısı	14
Şekil 3.1. Böbrek dokusunda IFN-gamma düzeyi	33
Şekil 3.2. Karaciğer dokusunda IFN-gamma düzeyi	33
Şekil 3.3. Karaciğer dokusunda NF-kB düzeyi	34
Şekil 3.4. Böbrek dokusunda NF-kB düzeyi	34
Şekil 3.5. Böbrek dokusu TNF-alfa düzeyi	35
Şekil 3.6. Karaciğer dokusu TNF-alfa düzeyi	35

ÇİZELGELER DİZİNİ

	SAYFA
Çizelge 2.1. Deney ve kontrol grupları	22
Çizelge 2.2. Çalışmada kullanılan primer dizileri	27
Çizelge 3.1. Dokularda MDA düzeyleri	29
Çizelge 3.2. Dokularda GSH düzeyleri	30
Çizelge 3.3. Dokularda SOD enzim aktivite düzeyleri	31
Çizelge 3.4. Dokularda CAT enzim aktivite düzeyleri	32

RESİMLER DİZİNİ

	SAYFA
Resim 3.1. Histopatolojik değerlendirme-beyin dokusu	37
Resim 3.2. Histopatolojik değerlendirme-akciğer dokusu	37
Resim 3.3. Histopatolojik değerlendirme-kalp dokusu	38
Resim 3.4. Histopatolojik değerlendirme-karaciğer dokusu	38
Resim 3.5. Histopatolojik değerlendirme-böbrek dokusu	39
Resim 3.6. Histopatolojik değerlendirme-testis dokusu	39

1. GİRİŞ

1.1. Endokrin Bozucu Kimyasallar (EDC)

İlk olarak 1992 yılında Theo Colborn ve Peter Thomas tarafından ortaya atılan endokrin bozucu terimi vücudun doğal hormonlarının sentezlenmesi, salgılanması, taşınması, bağlanması, eylemi, inaktivasyonu veya eliminasyonunda değişiklik yaparak bir organizmada veya onun sonraki nesillerinde sağlık problemlerine sebep olan ekzojen madde veya karışımları olarak tanımlanmaktadır. Diğer bir deyişle endokrin bozucular organizmada rejenerasyon, homeostaz, regülasyon ve progresyon prosesini yöneten hormonların sentez, salınım, taşınım, metabolizasyon, eliminasyon veya aktivitesine etki ederek endokrin sistem fonksiyonunda değişiklik oluşturan ekzojen maddelerdir (Çelik ve Şahin, 2021; Çetinkaya, 2009; Güven ve Can Eke, 2022).

EDSTAC (Endokrin Bozucu Tarama ve Test Danışma Komitesi) EDC'yi “Endokrin sistemin yapısını veya fonksiyon(lar)ını değiştiren ve organizma düzeyinde olumsuz etkilere neden olan eksojen bir kimyasal madde veya karışım” şeklinde tanımlamıştır (Thomas Zoeller vd., 2012).

EDC'ler başlangıçta yalnızca pestisit, plastikleştirici veya solvent gibi belirli bir eylem için tasarlanmış sentetik kimyasallardı. Ancak günümüzde, vücutta emildiğinde hormonları taklit etmelerine veya bloke etmelerine ve vücudun normal işlevlerini bozmalarına neden olan bir yan etkiye sahip olduğu bulunmuştur. Bu bozulma, normal hormon seviyelerini değiştirerek, hormonların üretimini ve metabolizmasını inhibe ederek veya uyararak ya da hormonların vücutta dolaşma şeklini değiştirerek bu hormonların kontrol ettiği işlevleri etkileyerek meydana gelebilir. EDC'lerin başlangıçta etkilerini yalnızca nükleer reseptörler vasıtasıyla uyguladığı düşünülüyordu. Bununla birlikte son kanıtlar, EDC'lerin hareket ettiği mekanizmaların başlangıçta kabul edilenden çok daha geniş olduğunu göstermektedir. Gerçekten de araştırmalar, nükleer reseptör sinyallemesini değiştirmenin yanı sıra, EDC'lerin steroid olmayan reseptörler, transkripsiyonel koaktivatörler, endokrin sistem, üreme sistemi, steroid biyosentezi ve/veya metabolizmasında yer alan enzimatik yollar üzerinde birleşen çok sayıda diğer mekanizmalar aracılığıyla hareket edebildiğini göstermiştir (Diamanti-Kandarakis vd., 2009; Schug vd., 2011).

EDC'ler her daim aynı şekilde tesir göstermemektedirler. Örnek olarak yüksek dozlarda androjen reseptörlerine bağlanarak antiandrojenik etkiye neden olabilen bir EDC, düşük dozlarda östrojen reseptörlerine bağlanarak etki gösterebilir. Endokrin bozucunun miktarına, EDC'ye maruz kalma süresine, element, bileşik veya karışım maddelere maruz kalma şekline göre EDC'lerin etkileri farklılık gösterebilmektedir. En duyarlı evreler çocukluk, ergenlik ve gebeliktir. Gebelik esnasında endokrin sistem işleyişini bozan kimyasallarla karşı karşıya kalınması fetusun endokrin sistemi üzerine etkir ve çok sayıda gelişimsel defekte neden olabilmektedir. Bu maddelerin birçoğu plasentada tolere edilemezler. Kimyasal madde miktarı ne denli büyük ise meydana gelen gelişme bozukluğunun derecesi de o denli büyük olmaktadır (Akbulut ve Yön, 2013).

Endokrin bozucu kimyasalların etki mekanizmaları incelendiğinde öncelikle endojen hormonları taklit etmek amacıyla çeşitli reseptörlere bağlandıkları görülmektedir. Birçok reseptör ile etkileşime giren endokrin bozucu kimyasallar genomik etkileşimleri kolaylaştıran agonistler olarak veya reseptörde konformasyonel bir değişiklik oluşturarak reseptör eylemini bloke eden antagonistler olarak hareket etmektedirler (Güven ve Can Eke, 2022; Warner vd., 2020).

Endokrin sistem üzerinde etki göstererek gelişim ve işlevinde değişimlere sebep olan ekzojen maddeler endokrin bozucu olarak isimlendirilmektedir. Bu kimyasalların, hormonların üretim, salınım, aktivite, vücuttan atılması gibi parametreler üzerinde etki gösterdikleri bildirilmektedir. Endokrin sistem üzerinde etki gösteren bu maddelerden önde gelenler Bisfenol A (BPA), ftalatlar, pestisidler, fitoöstrojenler, poliklorlu bifenillerdir. Günümüzde bu endokrin bozuculardan yaygın kullanım alanına sahip olması sebebiyle en fazla maruz kalınan sentetik bileşiklerden biri BPA'dır (Meydan, 2021).

EDC, nükleer reseptörlerle veya hormonların sentezinden veya taşınmasından sorumlu enzimlerle etkileşime girer. Bunlara dioksinler, poliklorlu bifeniller gibi kalıcı kontaminantlar; dikarboksmidler, triazoller gibi bitkisel ve hayvansal üretimde kullanılan bileşikler; BPA, ftalatlar, polibromlu alev geciktiriciler gibi endüstriyel ürünlerde ve tüketici ürünlerinde bulunan bileşikler örnek gösterilebilir (Baldi ve Mantovani, 2008).

Endokrin bozucu kimyasalların sınıflandırılmaları natural bileşikler (genistein gibi bitki östrojenleri), çevresel kirleticiler (DDT - dikloro difenil trikloroetan, PCB - poliklorlu bifeniller, PAH - poliaromatik hidrokarbonlar ve dioksinler gibi), farmasötikler (dietilstilbestrol ve etinilestradiol gibi) ve endüstriyel kimyasallar (BPA, alkilfenoller gibi) olarak yapılabilir (Zacharewski, 1998).

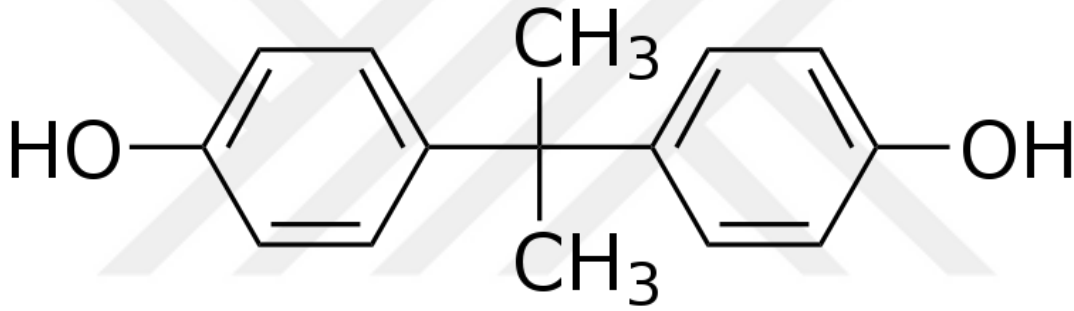
1.1.1. Bisfenol A (BPA)

BPA, endüstriyel olarak fenolün fazla fenol kullanılarak aseton ile asit katalizli yoğunlaşma reaksiyonuyla üretilir (Liguori vd., 2020). İlk defa 1891'de Rus Kimyager Aleksandr Pavlovich Dianin tarafından sentezlenmiştir (Dianin, 1891). BPA biyolojik olarak parçalanır, tüketim mallarından kolayca sızar ve çevreye girer. Varlığı toprakta, içme sularında ve atık sularda, tozda, yiyeceklerde ve atmosferde tespit edilmiştir (Zhang vd., 2011). BPA'nın yarı ömrü suda ve toprakta yaklaşık 4,5 gün, havada ise bir günden azdır (Cousins vd., 2002). Oda sıcaklığında, BPA'nın polikarbonat şişelerden içme suyuna sızması, 0,20 ila 0,79 ng/saat arasında gözlenen bir oranda gerçekleşmiştir. Kaynama sıcaklığında, BPA'nın aynı polikarbonat şişelerden suya sızması 55 kat artmıştır (Le vd., 2008). Araştırmacılar ayrıca, sıcaklıkla birlikte bir şişenin tekrar tekrar kullanılmasının BPA'nın sızmasını etkileyeceğini bulmuşlardır (Nam vd., 2010). BPA ayrıca yiyecek kutularının astarında kullanılan BPA epoksi reçine filmleri aracılığıyla yiyeceklerle girebilir (Braunrath vd., 2005; Cao vd., 2010). Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi'ne (EFSA) göre, günlük tolere edilen BPA alımının 4 µg/kg olduğu bildirilmiştir (Bolognesi vd., 2015).

BPA, zararlı endokrin bozucu etkileri olan her yerde karşımıza çıkabilen bir çevresel toksindir. Epoksi reçineler, polikarbonat plastikler ve polivinil klorür plastiklerin üretiminde yaygın olarak kullanılmaktadır. İnsanlar düzenli olarak inhalasyon, yutma ve topikal emilim yolları yoluyla BPA'ya maruz kalmaktadır. BPA maruziyetinin yaygınlığı son yıllarda önemli ölçüde artmıştır. Yapılan araştırmalarda BPA'nın zararlı etkilerine dair çok sayıda kanıt bulunmuştur. İlginç bir şekilde düşük bir konsantrasyonda bile bu endüstriyel ürünün çeşitli vücut fonksiyonlarını etkileyen hücrel ve doku düzeylerinde zararlı olduğu bulunmuştur. BPA'nın neden olduğu

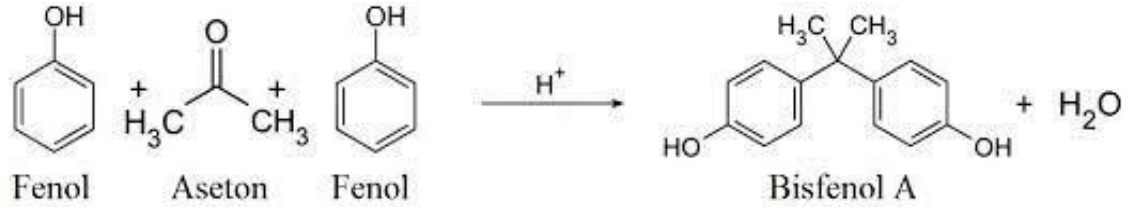
toksisitenin altında yatan potansiyel moleküler mekanizmalar araştırılmış olsada, günümüzde henüz BPA'nın neden olduğu toksisite için spesifik bir tedavi yoktur. Bu nedenle, BPA maruziyetinin olumsuz ve zararlı etkilerine karşı gelecekte terapötik kullanım için doğal ürünler düşünülebilir (Sirasanagandla vd., 2022).

IUPAC adıyla 4,4'-(propane-2,2-diyl) diphenol olan BPA, dış tedavisinde kullanılan sızdırmazlık malzemeleri, termal yazıcı kağıdı, yüzey suları ve su boruları, tıbbi cihazlar, elektronik ekipman, spor güvenlik ekipmanları, gıda maddeleri ve içecekler için kullanılan teneke kutuların iç kaplaması, plastik sofrta takımları, plastik kaplar, ve oda tozları gibi çeşitli ürünlerde bulunmaktadır (Çiftçi, 2019).



Şekil 1.1: BPA'nın kimyasal yapısı (Staples vd., 1998)

BPA'daki "A" harfi asetonan gelmektedir (Dianin, 1891). BPA, 2,2-(4,4-dihidroksidifenil) propan için yaygın olarak kullanılan bir isimdir. BPA, 2 mol fenol ile bir mol asetonun kombinasyonundan elde edilir. (Staples vd., 1998). 1930'lu yıllarda bir çok organik bileşik derialtı yollarla ratlara enjekte edilmiş ve BPA'nın sentetik bir östrojen olduğu tespit edilmiştir. Çalışmaların neticesinde araştırmacılar alifatik bir grupla birbirine bağlanmış iki fenol halkası içeren kimyasalların östrojenik aktiviteye sahip olduğunu bildirmişlerdir (Dodds ve Lawson, 1936).



Şekil 1.2: Fenol ile asetondan BPA sentezi (Kosaka ve Sinclair, 1982).

BPA, insan amniyotik sıvısında, kanında, anne sütünde, plasentasında, terinde ve idrarında tespit edilmiştir. Araştırmalar, BPA ile merkezi sinir sistemi ve karaciğerin endojen kanabinoid sistemindeki (ECS) değişiklikler, spermin kalite ve miktar indekslerinde azalma, nöroendokrin bozulma gibi anomalilerinin yanı sıra meme ve prostat kanseri, diyabet, kalp hastalığı ve obezite gibi diğer maligniteler arasında bir korelasyon olduğunu göstermiştir (Yuan vd., 2019).

Çalışmalar BPA'nın düşük konsantrasyonlarda dahi nükleer reseptörlere bağlanarak hücre ve dokuların fizyolojik işlevlerini etkilediğini göstermiştir. BPA ayrıca östrojen reseptörleri, androjen reseptörü, tiroid hormon reseptörü, pregnane X reseptörü, peroksizom proliferatörü ile aktive edilen reseptörler ile etkileşime girer. BPA maruziyetinin santral sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, boşaltım sistemi ve bağışıklık sistemi üzerinde olumsuz etkileri olduğu bilinmektedir (Acconcia vd., 2015; Ayazgök ve Tüylü Küçükkılınç, 2017; Sheng vd., 2012).

Son zamanlarda kapsamlı literatür, diyabet, obezite, üreme bozuklukları, kardiyovasküler hastalıklar, doğum kusurları, kronik solunum ve böbrek hastalıkları ve meme kanseri gibi bazı kronik insan hastalıklarının etiyolojisindeki olası etkileri hakkında endişeler uyandırmıştır (Rezg vd., 2014).

BPA'nın östrojenik etkisi in vivo ve in vitro çalışmalarda kanıtlanmıştır. BPA nükleer ve membran östrojen reseptörlerine bağlanır ve hem genomik hem de genomik olmayan steroid etkilerini gösterir. Kemirgenlerde yapılan deneyler, BPA'nın plasentayı

kolaylıkla geçebildiğini ve yavrularda gelişimsel anormalliklere neden olabildiğini göstermiştir (Balakrishnan vd., 2010).

BPA'nın önemli özellikleri arasında buhar basıncının düşük, suda çözünürlüğünün orta derecede ve uçuculuğunun düşük olması bulunur. Oda sıcaklığında katıdır (Bhatnagar ve Anastopoulos, 2017).

BPA'nın 1 mg/m³ 'ün altındaki konsantrasyonlarda bile östrojenik aktiviteye sahip olduğu kanıtlanmıştır (Bhatnagar ve Anastopoulos, 2017; Careghini vd., 2015).

İnsanlarda BPA'nın deri yoluyla emilmesinin böbrekler, karaciğer, dalak, pankreas ve akciğerlerde kapsamlı hasar oluşturduğu gösterilmiştir (Atkinson ve Roy, 1995).

1.1.2. BPA'nın Kullanım Alanları

1930'lu yılların başlarında BPA'nın yapay bir östrojen olarak kullanılması düşünüldü, fakat daha etkin olduğu düşünülen DES (dietilstilbesterol), farmasötik kullanımda BPA'ya tercih edildi. BPA, bugün dünya çapında en çok üretilen kimyasallardan biridir. BPA'nın çevresel olarak yaygın şekilde bulunduğu ve ana maruz kalmanın gıda ve su yoluyla olduğu bildirilmiştir. Otomotiv, elektronik, spor ekipmanları üretimi, DVD-CD kaplama sektörlerinde çalışanların mesleki maruziyetle karşı karşıya kaldıkları bildirilmektedir. Öte yandan BPA 'nın solunum maruziyeti ve cilt maruziyeti de vardır (Yirün, 2018).

BPA plastikleri sertleştirmesi amacıyla plastiklere eklenen fenol formunda kimyasal bir maddedir. Mama kaplarında, biberonlarda, yapıştırıcılarda, boya tozlarında, plastik monomerlerde ayrıca diş hekimliğinde diş dolgu malzemesi olarak kullanılmaktadır. BPA'nın günümüzde dünya çapında üretimi en çok yapılan kimyasallardan biri olduğu bilinmektedir (Tan, 2019).

İnsanların BPA'ya maruz kalma olasılığı oldukça yüksektir. BPA'nın konserve gıdaların katı ve sıvı fraksiyonlarında tespiti yapılmıştır. BPA ile ilgili araştırmalarda bu kimyasalın insan vücudunda tespit edildiği bildirilmiştir (Karakuş, 2022; Rubin, 2011).

Günümüzde BPA en çok, dayanıklı, tekrar kullanılabilir PVC pencere, su damacanası, gıda saklama kabı, buzdolabı çekmecesı gibi kalın plastik ürünlerin yapısında bulunur. Metal yüzeyin gıda ürünleri ile etkileşimini önlemek amacıyla meyve suları, kola ve su şişeleri ve teneke kutuların iç yüzeyinde ince bir tabaka halinde yer alır. Diş yapımında diş hekimleri tarafından kullanılan malzemelerde, endüstride köpük ve ambalaj malzemelerinde, fiberglas üretiminde, beton restorasyon ve koruma dahil inşaat malzemelerinde, fungusit ve pestisit imalatında kullanılmaktadır. Bu nedenle insanların günlük hayatta pek çok alanda temas halinde olduğu bir maddedir. Amerikan Gıda ve İlaç İdaresi FDA geçmişte BPA kullanımının gebeler ve çocuklar için dahi güvenli olduğunu savunmasına karşın, 2010 yılında yayınladığı raporda, BPA'nın bilhassa gebelikte anne karnında ve çocukluk döneminde davranış, mental fonksiyonlar ve prostat fonksiyonları üzerindeki tesiri noktasında endişeler bulunduğu yönünde açıklamalar yapmıştır. Eylül 2010'da BPA'yı zehirli madde olarak kabul eden ilk ülke Kanada oldu. Daha sonra pek çok ülke bilhassa biberonlarda BPA'nın kullanımını yasakladı (Durmaz ve Koçer Giray, 2013; Öksüz vd., 2012).

FDA ile Amerikan Ulusal Toksikoloji Programı (National Toxicology Program) arasında koordineli şekilde yürütölen BPA'nın bilinmeyen risklerinin belirlenmesi konusunda detaylı çalışmalar insanların gıda kaynaklı BPA'ya maruziyetini azaltma yönündeki çalışmalar olup, özellikle bebek beslenmesinde kullanılan kapların ve biberonların BPA içermemesi, bebek maması paketlerinde BPA yerine alternatif kaplama materyallerinin geliştirilmesi, konserve gıda ambalajlarının kaplamalarında BPA kullanımının minimum seviyeye indirilmesi veya alternatiflerinin geliştirilmesi desteklenmektedir (Öksüz vd., 2012).

Ülkemizde BPA kullanımı 2011 yılında Resmi Gazete'de yayımlanan “Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri İle Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemeler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2011/29) Madde 1 – 13480 Referans numaralı monomere ilişkin satır, TGK-Bebek Formülleri ve TGK-Devam Formülleri Tebliğlerinde bebek olarak tanımlanan tüketici grubu için kullanılan, polikarbonat madde ve malzemelerin üretiminde kullanılamaz” maddesiyle sınırlandırılmıştır (T.C. Resmi Gazete Sayı : 27960 10 Haziran 2011).

1.1.3. BPA Maruziyeti

BPA'nın birçok tüketici ürününde ve gıda maddesinde yaygın olarak kullanılan ve tespit edilen, kalıcı olmayan antropik ve çevresel olarak her yerde bulunan bir bileşik olması nedeniyle insan maruziyeti çok sık görülür (Meli vd., 2020).

Maruz kalma değerlendirmesi, bir kimyasalın sağlık risk değerlendirmesinin önemli bir parçasıdır. BPA, yiyecek ve içeceklerin kaplarında ve teneke kutularının astarlarında kullanılan polikarbonat plastiklerde ve epoksi reçinede bulunduğundan, insanların bu şekilde saklanan yiyecek ve içecekler yoluyla BPA'ya maruz kalması muhtemeldir (Arakawa vd., 2004).

BPA suda, havada ve toprakta bulunur. BPA bazlı ürünlerin nehirlerle ve deniz sularına geçişinden ve atık su arıtma tesislerinden ve depolama sahalarından çıkan atık su ortamlarına boşaltılır. İnsanların BPA maruziyeti çevresel kaynaklı olabilir, fakat insanlardaki bu maruziyetin esas kaynağı gıdalardır. Gıdalar arasında nispeten yüksek BPA seviyeleri konserve gıdalarda tespit edilir ve maksimum konsantrasyonu 842 ng/g'dır. BPA yutulduktan sonra, BPA-glukuronid ve BPA-sülfat gibi birkaç inaktif metabolite hızla metabolize edilir. Serbest BPA başlıca dışkıyla (%56-82) ve metabolitleri idrarla (%13-28) atılır. Hızlı metabolizmasına rağmen yetişkinlerin ve çocukların idrarında, gebelerden alınan serumlarda, kordon serumlarında ve anne sütünde serbest BPA gözlenir (Murata ve Kang, 2018).

Gıda maruziyetinin dışında kapalı veya açık ortam havası ve tozları da insanlarda BPA maruziyetinin önemli bir kaynağıdır. Endokrin bozucu kimyasalların varlığı için 120 evde yapılan bir çalışmada ev tozu örneklerinin %86'sında BPA tespit edildiği, aynı gruptan yapılan başka bir çalışma, altı konut ve ofis tozu örneğinden üçünde BPA bulunduğunu bildirdi (Rudel vd., 2003; Vandenberg vd., 2007).

BPA'nın atmosferdeki yaygınlığının araştırıldığı bir çalışmaya göre BPA'nın kentsel, kırsal, deniz ve kutup bölgelerinden ortam aerosol örneklerinde saptanması, bunun atmosferde her yerde bulunan bir bileşen olduğunu gösterir. Evsel atıklardaki plastiklerin açıkta yakılmasının, kentsel bölgelerde atmosferik BPA'nın önemli bir emisyon kaynağı olduğu bildirildi. BPA'nın boyut dağılımları, hem ince hem de kaba

fraksiyonlarda zirveler gösterdi. Kaba fraksiyonda BPA için ana kaynak olarak toprak süspansiyonu önerilmektedir. Su ortamı ve insanların maruz kaldığı günlük kullanılan malzemelerle ilgili ciddi endişelerine benzer şekilde, BPA'nın dünya atmosferinde her yerde bulunması, gelecek için potansiyel bir çevresel endişeye işaret ettiği belirtildi (Fu ve Kawamura, 2010).

Japonya'da yapılan bir araştırma BPA'nın kentsel dış havadaki ortalama değerinin 0,51 ng/m³ hava olarak bulunduğunu ve havadaki organik ekstraktın asidik fraksiyonundaki östrojenik aktiviteye ana katkının BPA'dan kaynaklandığını raporlamıştır. Hava partiküllerindeki kalıntı seviyelerinin eğilimi, sonbahardan kışa artan ve kıştan ilkbahara azalan mevsimsel değişiklik göstermiştir (Matsumoto vd., 2005).

BPA epoksi reçinelerin ve polikarbonat plastiklerin imalatında monomer olarak kullanılır. Polikarbonat, su şişesi, biberon ve gıda saklama kaplarında kullanılır. Epoksi reçineler ve PVC organosoller yiyecek ve içecek kutularının iç kaplamasında ve cam kavanozların metal kapaklarının üzerindeki iç kaplamada, yiyeceği metalle doğrudan temastan korumak için kullanılır. Polikarbonat plastik kaplar ve kaplamalardaki BPA kalıntıları, özellikle yüksek sıcaklıklarda gıdalara geçebilir, bu nedenle insanlar kaçınılmaz olarak gıda yoluyla BPA'ya maruz kalır. BPA'nın konserve kaplamalarından gıdaya geçebileceğini gösteren çok sayıda araştırma bulunmaktadır (Cao vd., 2011; Goodson vd., 2002).

BPA'dan sentezlenen BPA-A diglisidileter metakrilat (Bis-GMA), diş materyali olarak yaygın şekilde kullanılmaktadır. Yapıştırıcılar ve kompozit reçineler ile diş dolgusu sırasında, bileşikler polimerizasyon ile katılaştırılır ve daha sonra kullanılır. Sadece Bis-GMA değil, aynı zamanda birçok BPA analogu, diş tedavisi için dolgu macunlarında, kompozit reçinelerde ve bağlayıcı maddelerde monomer olarak kullanılmaktadır. Tespit edilen tükürük BPA'sının dinamiklerine dayanarak, dişleri kompozit reçine ile doldurduktan sonra tükürükte birkaç 10 ila 100 ng/ml BPA içerdiği, ancak yeterli gargaranın bunu ağız boşluğundan çıkarabileceği sonucuna vardıkları bildirildi (Rathee vd., 2012; Sasaki vd., 2005).

Termal baskı ticari uygulamalarda geniş ölçüde kullanılmaktadır. Örnek olarak ATM kağıtları, yazarkasa fişleri, bagaj etiketleri, uçak biletleri, fakslar verilebilir. Yalnız

Avrupa'da bir yılda 1800 ton BPA'nın termal kağıt üretiminde kullanıldığı bildirilmiştir (Sungur ve Kanan, 2019).

Günümüzde çoğu insan günlük olarak termal kağıtla temas etmektedir. Sadece yıkanmamış ellerin ağızla doğrudan teması sonucu oral kontaminasyona neden olmakla kalmaz, aynı zamanda geri dönüştürülmüş kağıdın kirlenmesi için de termal kağıtlar önemli bir kaynaktır (Zalko vd., 2011).

Kore, Japonya ve Vietnam'dan toplanan 103 farklı termal kağıt örneğinin BPA içeriklerinin incelendiği bir çalışmada termal kağıtların %94'ünde ortalama 13.9 mg/g BPA bulunduğu bildirilmiştir (Liao ve Kannan, 2011). Cerrahi operasyonlar sonucu ortaya çıkan insan derilerinin üzerinde yapılan araştırmalar neticesinde bir günde insan derisi tarafından absorbe edilebilecek maksimum BPA miktarını insanlar üzerinde bir çalışma yapmadan hesaplayarak 17.5-1300 ng/gün olarak belirlenmiştir (Zalko vd., 2011). Başka bir çalışmada farklı mağazalardan 13 tane termal kağıt örneği toplanmış ve termal kağıtların 8-17 g/kg BPA içerdiği tespit edilmiştir. Akabinde bu termal kağıtlara 1 saniye, 5 saniye ve 60 saniye temas edilmesi sonucunda parmaklara yaklaşık 0.4 µg, 1.18 µg ve 1.5 µg BPA geçtiği saptanmıştır. Aynı çalışmada cildin nemli, ıslak veya yağlı olmasına göre BPA geçiş farklarını da incelemişlerdir. Cildin ıslak ya da yağlı olmasıyla birlikte BPA absorpsiyonunun yaklaşık 10 kat arttığını bildirmişlerdir (Biedermann vd., 2010). Kolombiya'da yapılan bir çalışmada 50 mağazadan termal kağıt örneği toplanarak termal kağıtlardan kaynaklanan BPA maruziyeti araştırılmış ve içerdikleri BPA miktarları 11.5-26.3 mg/g aralığında tespit edilmiştir (Hormann vd., 2014).

1.1.4. BPA ile İlgili Yapılmış Bazı Deneysel Çalışmalar

Nane vd. (2021) yaptıkları çalışmada *Carassius auratus* japon balıklarını 21 gün süreyle farklı BPA konsantrasyonlarına maruz bırakarak balıkların karaciğer, böbrek, gonad ve solungaç dokularında görülen etkileri histopatolojik yönden incelemişlerdir. Çalışma sonucunda BPA'nın karaciğerde hiperemi ve inflamatuvar hücre infiltrasyonlarına, böbreklerde nekroz ve melanomakrofaj infiltrasyonlarına, ovaryumlarda ve testislerde

fonksiyon bozukluklarına sebebiyet verdiği görülmüştür. Solungaçlarda hiperemiye ve ödeme, epitel hücrelerinde deskuamasyona ve nekroza yol açtığını bildirmiştir. Özetle BPA'nın *Carassius auratus* balılarında çeşitli visceral organlarda dejeneratif bozukluklara sebep olduğunu ve histopatolojik değişikliklerin doza bağlı olarak değiştiğini bildirmişlerdir.

Akbulut ve Yön (2013) yaptıkları çalışmada BPA'nın 4 mg/L ve 8 mg/L dozlarının zebra balığı embriyo ve larvalarının gelişimi üzerindeki etkisini incelemiştir. Kontrol gruplarının gelişimleri normal şekilde gerçekleştiği bildirilirken, 4 mg/L BPA verilen gruptaki embriyoların ve larvaların 13 gün, 8mg/L BPA verilen gruptaki embriyoların ve larvaların 8 gün hayatta kalabildiğini bildirmişlerdir.

Karabulut (2019) tavşanlarda subakut BPA toksisitesini araştırmak için yaptığı çalışmada BPA'ya maruz kalmış tavşanlarda incelenen bütün dokularda oksidatif hasar varlığını belirledi. Bu hasarlar neticesinde çeşitli enzimatik parametrelerin bozulduğu, spermatolojik parametrelerin düştüğü bildirildi. Çalışmasında spermatolojik parametreler için BPA'nın LOAEL (En düşük gözlemlenen yan etki seviyesi) dozunu günde 10 mg/kg olarak bulurken, biyokimyasal parametreler ve hematolojik parametreler için bu dozun günde 20 mg/kg olarak tespit edildiğini bildirdi.

Kobayashi vd. (2020) BPA'nın yetişkin rat beyinlerinde oksidatif stres ve tau ile ilişkili proteinler üzerindeki etkisini araştırdı. Ratlara sekiz hafta boyunca içme suları ile BPA (10 mg/L) verildi. Plazmadaki hidroksil radikalleri için reaktif oksijen türlerinin (ROS) süpürme kapasitesi iki hafta sonra azaldı. Hipokampustaki protein fosfataz 2A (PP2A), sekiz haftalık BPA tedavisinden sonra azaldı. O sırada, SOD1 önemli ölçüde indüklendi, ancak hipokampüste SOD2 ifadesinde herhangi bir değişiklik görülmedi. BPA'nın sistemik oksidatif stresi indüklediği ve beyindeki ROS'un indüklediği sinyal yollarını değiştirebileceği bildirildi.

Eid vd. (2015) BPA'nın karaciğer üzerindeki etkisinin araştırılmasına ilişkin yaptıkları çalışmada dişi rat yavrularında erken yaşamda BPA'ya maruz kalmanın neden olduğu hepatik doku hasarını değerlendirmek için bir çalışma tasarlanmıştır. Rat annelere (n= 9) laktasyon boyunca süten kesilene kadar 0.5 ve 50 mg BPA/kg canlı ağırlık/gün verilmiş, deney grubuna aynı süre zeytinyağı verilirken kontrol grubuna herhangi bir

enjeksiyon yapılmamıştır. Karaciğer dokusu, oksidatif stres biyobelirteçlerini, DNA hasarının derecesini ve histopatolojik değişiklikleri değerlendirmek için farklı ergenlik dönemlerinde (PND50, 90 ve 110) dişi yavrulardan toplanmıştır. Sonuç olarak, erken yaşta BPA'ya maruz kalmanın karaciğer dokusunda zamana bağlı bir şekilde oksidatif/nitrozatif stresi önemli ölçüde artırdığı, antioksidan enzim aktivitelerini azalttığı, DNA hasarını ve kronik şiddetli inflamasyonu indüklediği, BPA'nın karaciğer üzerinde uzun vadeli olumsuz etkilere neden olduğu ve bunun da dişi rat yavrularının karaciğerinde zararlı etkilere yol açtığını bildirildi.

Moghaddam vd. (2015) yaptıkları araştırmada BPA'nın oksidatif stres, hiperglisemi ve lipid anormallikleri üzerindeki etkilerini değerlendirdi. Test edilen gruplara BPA tozu steril sızma zeytinyağında eritilip intraperitoneal olarak enjekte edilirken, kontrol grubuna 4 hafta boyunca sadece saf zeytinyağı verildi. 4 hafta sonra serum ve pankreasta glukoz, lipid profili indirgenmiş, toplam protein, glutatyon (GSH), malondialdehit (MDA), total antioksidan durum (TAS), katalaz (CAT) ve süper oksit dismutaz (SOD) değişimleri belirlendi. Sonuçlar, BPA'nın kontrol grubuyla karşılaştırıldığında test edilen gruplarda kan glikozu, lipid profili ve MDA düzeylerinde doza bağlı artış görüldü. BPA enjeksiyonu, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında maruz kalan farelerin pankreasında MDA düzeylerini arttırdığını, GSH ve TAS düzeylerini ve ayrıca SOD ve CAT aktivitelerini azalttığını; kontrol grubuna göre BPA'ya maruz kalan farelerde vücut ağırlığı arttığını bildirdiler. Bu sonuçlara dayanarak BPA'ya maruz kalmanın yetişkin erkek farelerde oksidatif strese neden olabileceğini ve bunun da hiperglisemi ve komplikasyonlarına neden olabileceğini bildirdi.

Hassan vd. (2012) BPA'nın karaciğer üzerindeki etkisinin araştırılmasına ilişkin gerçekleştirdikleri çalışmanın sonucunda 0.1 mg BPA grubundaki nihai vücut ağırlıkları, kontrol grubuna kıyasla önemli bir düşüş gösterdi. 50 mg BPA grubunda, kontrol gruplarına kıyasla indirgenmiş GSH, SOD, GPX, GST, GR ve CAT aktivitesinde anlamlı düzeyde azalma bulunduğunu, yüksek dozda BPA'nın (50 mg/kg) ALT, ALP ve total bilirubinin biyokimyasal düzeylerini artırdığı bildirildi.

Mourad ve Khadrawy (2012) BPA'nın karaciğer, böbrek ve testisleri ne ölçüde etkileyebileceğini, bu organlarda iki farklı BPA dozunun neden olduğu oksidatif stresi

ölçerek değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada yetişkin erkek ratlara farklı oral BPA dozları (6 hafta boyunca 25 mg/kg ve 6 ve 10 hafta boyunca haftada 5 gün 10 mg/kg) uygulandı. BPA'dan kaynaklanan oksidatif stres karaciğer, böbrek ve testis dokularında değerlendirildi. Ayrıca böbrek fonksiyonunun bir belirteci olarak serum ürik asit düzeyi ile karaciğer fonksiyonunun bir belirteci olan aspartat aminotransferaz (AST) ve alanin aminotransferaz (ALT) aktiviteleri ölçüldü. Bu çalışmanın sonuçları, yüksek doz BPA (25 mg/kg) ile karaciğer ve testisteki antioksidan mekanizmalarda önemli değişiklikler olduğunu gösterdi. Düşük doz, karaciğerde 10 hafta ve testis durumunda 6 hafta sonra önemli değişiklikler gösterdi. Ayrıca 6 haftalık iki doz BPA uygulaması sonrasında serum ürik asit düzeyinde ve yüksek doz (25 mg/kg) sonrasında AST ve ALT aktivitelerinde anlamlı artışlar gözlemlendi. BPA'nın neden olduğu toksisiteye, hem yüksek hem de düşük doza kısa ve uzun süreli maruz kalmanın ardından karaciğer ve testislerde belirgin olan oksidatif stresin aracılık ettiği sonucuna varılabileceği bildirildi.

1.2. Antioksidanlar

Kimyasal reaksiyonlar, moleküllerin oksidasyonu ve indirgenmesi dahil her hücrede meydana gelir. Bu reaksiyonlar serbest radikallerin üretimine yol açabilir. Serbest radikaller, lipitler, proteinler ve DNA gibi organik substratlarla reaksiyona girer. Oksidasyon yoluyla serbest radikaller bu moleküllere zarar vererek normal fonksiyonlarını bozar ve bu nedenle çeşitli hastalıklara katkıda bulunabilir. Enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlardan oluşan anti-oksidasyon sistemi, oksidatif strese karşı savunma sağlar (Somogyi vd., 2007).

Antioksidanların işlevleri genellikle koruyucu, durdurucu ve yenileyici olmak üzere 3 bölüme ayrılabilir. C vitamini (askorbik asit) ve E vitamini, zayıf oksidatif hasardan koruduğu bilinen önemli antioksidanlardır (Aksoy, 2002).

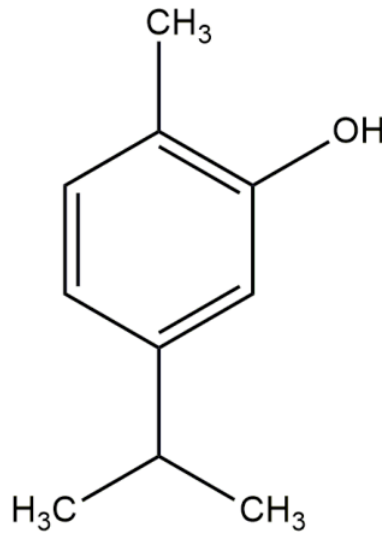
Gerek endojen gerekse diyetten alınan antioksidanların sağlığın korunmasında önemli bir rolünün olduğu kabul edilmektedir. Patolojiler veya ksenobiyotikler tarafından tetiklenen oksidatif stres durumlarında üretilen radikal türleri söndürülebilirler ve

DNA'nın bütünlüğünü genotoksik maddelerden korurlar. Bununla birlikte, hala belirsiz veya tanımlanamayan prooksidan/antioksidan aktiviteleri olan birçok bileşik vardır (Cemeli vd., 2009).

1.2.1. Karvakrol

Simofenol olarak da bilinen karvakrol bir monoterpenoid fenoldür. IUPAC adıyla 5-izopropil-2-metilfenol olan karvakrol, Girit Kekik (*Origanum dictamnus*), Güvey otu (*Origanum vulgare*), Acı kekik (*Thymbra capitata*), Mercimek Otu (*Satureja hortensis*), Mercanköşk (*Origanum majorana*), Bahçe Kekik (*Thymus vulgaris*), Yabani Kekik (*Thymus serpyllum*), Geyikotu (*Satureja montana*), Karabiber (*Lepidium flavum*) ve Bergamot (*Citrus aurantium bergamia*) gibi bitkilerin esansiyel yağlarında bulunur (Mondal vd., 2020; Suntres vd., 2015).

Karvakrol, Lamiaceae familyasına ait kekik ve güveyotu gibi tıbbi aromatik bitkilerin uçucu yağ fraksiyonundaki ana doğal bileşendir (Zotti vd., 2013).



Şekil 1.3: Karvakrolün kimyasal yapısı (D. Zhang vd., 2018).

Karvakrol, antioksidan antimikrobiyal ve antikanser aktivite gibi klinik uygulamalarda yararlı olduğuna inanılan çok çeşitli biyolojik aktivitelere sahiptir. Karvakrolün uçucu yağlardaki diğer uçucu bileşiklere nazaran antimikrobiyal aktivitesinin yüksek olma sebebi, hidrofobiklik ile serbest hidroksil grubu ve fenolik bir parçanın varlığından kaynaklanmaktadır. Karvakrol özellikle gıda kaynaklı patojenlerden *Bacillus cereus*, *Escherichia coli* ve *Salmonella*'ya karşı etkilidir. Yüksek bir antioksidan aktiviteye sahip olan karvakrol hayvanların antioksidan durumunu iyileştirmek için esas olarak timol ile kombinasyon halinde bir diyet bitkisel takviyesi olarak başarıyla kullanılmıştır. Karvakrolün antikanser özellikleri, proapoptotik süreçleri etkileyen akciğer, karaciğer ve meme kansinomlarının klinik öncesi modellerinde rapor edilmiştir (Sharifi-Rad vd., 2018).

Karvakrolce en zengin bitki türleri sırasıyla *Zataria multiflora* %95-28, *Origanum minutiflorum* %93-44, *Origanum tyttanthum* %89-48, *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* %88-14, *Thymus capitatus* %86-53, *Lavandula multifida* %86-47, *Anabasis setifera* %85, *Origanum Xintercedens* %85, *Origanum majorana* %84-32, *Origanum syriacum* var. *aegypticum* %83, *Origanum dictamnus* %82-59, *Origanum onites* %82-50, *Origanum syriacum* var. *bevanii* %79-42, *Thymbra spicata* var. *spicata* %77-56, *Coleus aromaticus* %77-51, *Origanum syriacum* CT-type %76-68, *Origanum dubium* %76, *Thymus eigii* %75-31, *Monarda fistulosa* var. *menthaefolia* %74, *Satureja cuneifolia* %72-26, *Callistemon citrinus* %72, *Thymbra spicata* var. *intricata* %71-49, *Origanum compactum* %71-4, *Lippia graveolens* %71-20, *Satureja boissieri* %70 olarak bildirilmiştir (Başer, 2022).

Yunanistan'da yabani olarak yetişen ve kullanılan bitki türleri yağ ve karvakrol içerikleri açısından değerlendirilmiştir. Karvakrol açısından her zaman zengin olan *Oreganum onites* (Bilye kekik) en kararlı tür olurken, *Origanum vulgare* (Güvey otu) ise en değişken tür olmuştur (Kokkini ve Vokou, 1989).

Ülkemizde üretilen kültür kekiğinin %90'ının Denizli ilinde üretildiği ve bu ilde üretilen kekiğin (*Oreganum onites*) karvakrol oranının %70 - %80, uçucu yağ oranının %2.5 - %5.0, çiçek oranının %37 - %66, yaprak oranının %13 - %29, sap oranının %21 - %41 arasında değiştiği bildirilmiştir (Baydar ve Arabacı, 2013; Tuğlu vd., 2021).

Karvakrol insan ve hayvan sağlığı için etkili ve güvenli antibakteriyel aktivite göstermiştir. Enfeksiyonların tedavisinde potansiyel bir ajan olduğu kanıtlanmıştır. Dünya çapındaki araştırmacılar, *C. albicans*, *L. plantarum*, *P. fluorescens*, *S. cerevisiae*, *S. aureus*, *B. cinerea*, *Salmonella enterica*, *Clostridium perfringens*, *E. Coli*, *L. Monocytogenes* gibi çeşitli mikroorganizma türlerine karşı karvakrolün antibakteriyel aktivitesinin geniş yelpazesini araştırmışlardır. Bu monoterpenik fenol ayrıca antimikrobiyal, preterm eylem için etkili adjuvan, biyofilm inhibitörü, antienflamatuar, antioksidan, antitümör, analjezik, antiparaziter, antimutajenik, antikanser, antiviral, böcek öldürücü ve balık diyet katkı maddeleri gibi biyolojik özelliklerinin çoğu için ortaya çıkmıştır (Jaafar vd., 2021).

Bilhassa gıda sektöründe son zamanlarda kullanımı yaygınlaşan karvakrolün antioksidan, antienflamatuar, antitümör, antifungal, antibakteriyel, spazmolitik, vazorelaksant, hepatoprotektif, antiparaziter, analjezik ve antijenotoksik etkileri invivo ve invitro araştırmalarla kanıtlanmıştır (Küçükler vd., 2020).

Gıda alanındaki literatür ile ilgili olarak, karvakrol sebze, pirinç, meyve, süt ürünleri, balık, et ve kümes hayvanları dahil olmak üzere çok çeşitli gıdaların korunmasında incelenmiştir. Bununla birlikte, etkili antimikrobiyal konsantrasyonlar kabul edilebilir duysal seviyeleri aşabileceğinden karvakrol kullanımı genellikle sınırlıdır (Antonia Nostro ve Teresa Papalia, 2012). Lezzetinden dolayı karvakrol uygulaması belirli ürünlerle sınırlıdır. Karvakrol'ün aroma maddesi olarak uygulanması, alkolsüz içecekler (28.54 ppm), yumuşak şeker (21.43 ppm), sakız (8.42 ppm) ve unlu mamuller gibi ürünlerde bilinmektedir (Ultee vd., 2000).

Karvakrolün antimikrobiyal aktivitesi üzerine yapılan çalışmalar, test edilen yaklaşık olarak her Gram negatif ve Gram pozitif bakteriye karşı geniş bir antimikrobiyal aktivite spektrumuna sahip olduğunu göstermiştir. Bu antibakteriyel aktivitenin yanı sıra karvakrol, antifungal, antitoksijenik, insektisidal ve antiparazitik olarak tanımlanmıştır (Veldhuizen vd., 2006).

1.2.2. Karvakrolün Antioksidan Aktivitesi

Karvakrol açısından zengin olan uçucu yağların askorbik asit, butilhidroksil tolüen ve E vitaminine eşdeğer güçlü antioksidan özelliklere sahip olduğu iyi bilinmektedir. Karvakrolün demir ve askorbat varlığında fosfolipid lipozomların peroksidasyonunu azalttığı ve nabız radyolizi ile üretilen peroksil radikalleri iyi yakalayıcı olduğu bulundu (Aeschbach vd., 1994; Suntres vd., 2015).

Kekiğin içerdği karvakrol antioksidan aktivitesini serbest oksijen radikalleri ile etkileşime girerek gösterir. Karvakrolün antioksidan aktivitesinin sentetik antioksidanlara nazaran daha yüksek olduğu görülmüştür. Yapılan araştırmalar karvakrolün antioksidan aktivitesi bilinen C ve E vitaminleri kadar etkili bir antioksidan olduğunu göstermiştir (Baratta vd., 1998; Kulisic vd., 2004; Marwah vd., 2007; Schwarz vd., 1996; Yaman vd., 2018).

Yapılan farklı antioksidan aktivite testlerinde timol, timokinon ve karvakrolün yüksek antioksidan aktivite sergilediğini kanıtlamıştır. Karvakrolün gıda ve yemlerin lipid oksidasyonunu engelleyen doğal bir antioksidan olarak kullanılabileceği, bilhassa kızartma yağlarında bütıl hidroksi tolüen (BHT) gibi sentetik antioksidanlara göre etkin sonuçlar verdiği, düşük toksisiteleri nedeniyle sentetik antioksidanlara alternatif olarak kullanılabileceği, ürünlerin raf ömrünü uzatabilecekleri yapılan araştırmalarla ortaya konmuştur. Ayrıca karvakrol, timokinon ve timolün termal oksidasyon esnasında daha kararlı kalabildikleri, gıdalarda tat, renk, koku gibi kalite özelliklerini ve vitaminler gibi besin değerlerini daha iyi muhafaza edebildikleri ve antioksidan ajan olarak gıda ambalajlarına eklenebilecekleri bildirilmiştir. Yem katkı maddesi olarak kullanılmaları durumunda ürünlerin performanslarını ve antioksidan enzim aktivitelerini artırdığı, lipid oksidasyonunu geciktirdikleri iddia edilmiştir (Yanishlieva vd., 1999; Yıldız ve Turan, 2021).

Karvakrolün antioksidan özellikleri sadece in vitro olarak değil, aynı zamanda pankreatit, hepatotoksisite ve karaciğer kanseri hayvan modellerinde de gösterilmiştir. Karvakrolün astımda olası terapötik etkisi, solunum semptomları, solunum fonksiyon testleri ve antienflamatuar etkisi üzerindeki faydalı etkileri nedeniyle de öne sürülmüştür. Kekik ve kekik esansiyel yağları karvakrol ve timol içerir. Bununla

birlikte, bu uçucu yağların antienflamatuar etkisinden timol değil karvakrol sorumlu görünmektedir (Bertuola vd., 2020).

1.3. Oksidatif Stres

Oksidatif stres ilk olarak 1985 yılında Sies tarafından oksidasyon ve antioksidanlar arasındaki ciddi bir dengesizlik, "prooksidan-antioksidan dengesinde birincisinin lehine olan ve potansiyel hasara yol açan bir bozulma" olarak tanımlandı (Halliwell ve Poulsen, 2006; Sies ve Cadenas, 1985).

Hücre içi ve/veya hücre dışı durumlar nedeniyle reaktif oksijen türlerinin (serbest radikaller) kimyasal veya metabolik oluşumu oksidatif stres olarak bilinir. Hücresel yaşamın devamlılığı, karmaşık biyokimyasal reaksiyonların dengesiyle orantılıdır. Bu dengenin bozumasına neden olan faktörler hücre hasarına neden olur. Farklı patolojilere sebep olmasıyla oksidatif stres bu durumlar arasında dikkat çekmekte ve bu konuda yapılan araştırmaların sayısı artmaktadır. Homeostaz dengesi ile sağlıklı hücreler antioksidanları kullanarak serbest radikalleri temizler. Antioksidan mekanizmalar ile hücreler reaktif oksijen türlerinin zararlarından korunurlar. Savunma sistemleri enzimatik olmayan olarak ikiye ayrılabilir. Enzimatik olmayanlar, süperoksit dismutaz (SOD), methemoglobin redüktaz, glutatyon peroksidaz, glutatyon s-transferaz (GST), katalaz, glutatyon redüktaz (GR); Enzimatik olmayanlar, GSH (glutatyon), C vitamini (askorbik asit), E vitamini, NADH⁺ (redükte nikotinamid adenin dinükleotit), NADPH⁺ (redükte nikotinamid adenin dinükleotit fosfat)'tır (Aksoy, 2002).

Oksidatif stresin ateroskleroz, hipertansiyon, diabetes mellitus, iskemik hastalıklar ve maligniteler dahil olmak üzere yaşam tarzıyla ilgili hastalıkların patogeneğinde yer aldığı iyi bilinmektedir. Oksidatif stres serbest oksijen radikalleri lipidler, proteinler ve DNA gibi biyolojik moleküllere saldırması sebebiyle zararlı olarak tanımlanmıştır. Bununla birlikte oksidatif stres, fizyolojik adaptasyonda ve hücre içi sinyal iletiminin düzenlenmesinde de yararlı bir role sahiptir. Bu nedenle, oksidatif stresin tanımı, "oksidatif kuvvetlerin, aralarındaki dengenin kaybolması nedeniyle antioksidan sistemleri aştığı bir durum" olarak yapılabilir. Oksidatif stresi in vivo olarak

değerlendirmek için kullanılabilen biyobelirteçler ilgi çekmektedir çünkü bu tür stresin doğru ölçümü, yaşam tarzı hastalıklarındaki rolünün araştırılması ve tedavinin etkinliğinin değerlendirilmesi için gereklidir (Yoshikawa ve Naito, 2002).

Oksidatif stres, kusurlu embriyo gelişiminin etiolojisinde rol oynar. Reaktif oksijen türleri (ROS), embriyo metabolizmasından ve/veya embriyo çevresinden kaynaklanabilir. Embriyo metabolizması, birkaç enzimatik mekanizma yoluyla ROS üretir. Çeşitli ekzojen faktörler ve kültür koşulları, embriyolar tarafından ROS üretimini artırabilir. ROS, çoğu hücresel molekül tipini değiştirebilir ve ayrıca gelişme blokajına ve gecikmesine neden olabilir. ROS'a karşı çok sayıda embriyo koruma mekanizması mevcuttur ve bunların tamamlayıcı etkileri vardır. Foliküler ve tubal sıvılarda bulunan harici koruma, esas olarak hipotaurin, taurin ve askorbik asit gibi enzimatik olmayan antioksidanları içerir. Dahili koruma esas olarak antioksidan enzimlerden oluşur: süperoksidedismutaz, glutatyon peroksidaz ve g-glutamilsistein sentetaz (Guerin vd., 2001).

Son yıllarda oksidatif strese ve bunun hücresel disfonksiyon ve metabolik hastalıkların patofizyolojisindeki rolüne önemli bir ilgi olmuştur. Oksijen, yaşam için bir ön koşuldur, ancak yüksek fizyolojik konsantrasyonlarda hücre metabolizması için tehlikeli olabilir. İnsan vücudu, normal hücre metabolizması sırasında sürekli olarak reaktif oksijen türleri üretir. Moleküler oksijenin ilk indirgeme ürünü olan süperoksit radikali, dış yörüngesinde eşleşmemiş bir elektrona sahiptir, bunun sonucunda önemli bir hidroperoksit ve toksik serbest radikal kaynağıdır. Yüklü bir serbest oksijen radikali, mitokondriler enerji üretmek için oksijeni kullandığında ve hücredeki bazı enzim reaksiyonlarıyla da üretilir. Çeşitli oksijen radikalleri, süperoksit, hidrojen peroksit, hidroksil, peroksil, alkoksil ve nitrik oksit serbest radikallerini içerir. Normal bir hücre katalaz, süperoksit dismutaz ve glutatyon redüktaz, glutatyon peroksidaz ve glikoz-6-fosfat dehidrojenaz gibi bir antioksidan enzim ağı yoluyla oksijen radikallerini detoksifiye etme yeteneğine sahiptir (Jain, 2006).

1.3.1. BPA'nın Oksidatif Stres ile İlişkisi

Son yıllarda birçok çalışma BPA toksisitesinin altında yatan moleküler mekanizmaları incelemiş ve BPA'nın neden olduğu oksidatif stres, erkek ve dişi üreme kusurları ve insan hastalıkları arasındaki bağlantıları ortaya çıkarmıştır. Hormon benzeri özelliği nedeniyle BPA, hedef hücrelerdeki spesifik hormon reseptörleri üzerinde doku etkileri göstererek oksidatif stres ve iltihaplanma ile ilişkili zararlı hücresel tepkileri tetikler. Bir metabolik ve endokrin bozucu olarak BPA, oksidatif mediatörlerin artması ve antioksidan enzimlerin azalması yoluyla redoks homeostazını bozarak mitokondriyal fonksiyon bozukluğuna, hücre sinyal yollarında değişikliğe ve apoptozun indüklenmesine neden olur (Meli vd., 2020; Tavakkoli vd., 2020; Wang vd., 2019).

BPA'nın neden olduğu ROS artışı, nanomolardan mikromolara kadar değişen konsantrasyonlarda birkaç hücre tipinde rapor edilmiştir. ROS üretimi, süresi ve sitotoksitesindeki farklılıklar, esas olarak BPA konsantrasyonuna, hücresel arka plana, maruz kalma süresine ve sensör floresan reaktiflerine bağlı olarak ortaya çıkar (Cho vd., 2018; Gassman, 2017; Strakovsky ve Schantz, 2018).

Lipit peroksidasyonunun bir göstergesi olan malondialdehit (MDA) ve DNA oksidasyonunun bir belirteci olan 8-hidroksi-deoksiguanozin (8-OHdG), oksidatif stres için potansiyel biyobelirteçler olarak geniş çapta kabul edilmiştir ve araştırmalar, bunların BPA'ya maruz kalan organizmalardaki artışını göstermektedir. Lipid peroksidasyonu ve inflamasyon reaksiyonlarının arkasında, BPA'nın neden olduğu oksidatif stres mekanizmaları arasında mitokondriyal disfonksiyon da yer alır (Kasai, 1997; Moon vd., 2012; Rochester, 2013; Tsikas, 2017).

Yapılan bu çalışmada BPA ile oksidatif stres oluşturulan ratlarda, karvakrolün muhtemel koruyucu etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

2. MATERYAL ve METOT

2.1. Deney Hayvanları ve Etik Kurul Onayı

Afyon Kocatepe Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulundan (AKUHAYDEK) çalışma öncesi Etik Kurul onayı alındı. Çalışmada 200-300 gram arası ağırlıkta 42 adet Wistar Albino türündeki erkek rat kullanıldı. Her grupta yedişer rat olmak üzere hayvanlar altı gruba ayrıldı. Deney aşamasına başlamadan önce yedi gün boyunca ratların ortama adapte olmaları sağlandı. Hayvanlar deney hayvanları ünitesinde bulunan kafeslerde 24 ± 1 °C derece sıcaklıkta, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ortamda bulunduruldu. Ortam düzenli olarak havalandırıldı, hayvanların her gün düzenli olarak kontrolleri yapıldı, her gün taze su ve standart rat yemi verildi.

2.2. Çalışma Yöntemi

Deneyisel aşamada kullanılan Karvakrol (El-Sayed vd., 2015; Nafees vd., 2013) ve BPA (Bindhumol vd., 2003; Korkmaz vd., 2010) için kullanılan dozlar daha önceki araştırmalar incelenerek belirlendi. Erkek ratlar her grupta yedişer adet olacak şekilde ayrıldı. Birinci Grup (Kontrol grubu) ratlara 1 ml fizyolojik tuzlu su; İkinci Grup 1 ml mısır yağı; Üçüncü Grup 25 mg/kg dozunda BPA; Dördüncü Grup 25 mg/kg dozunda BPA birlikte mısır yağı içinde çözdürülen 12,5 mg/kg karvakrol; Beşinci Grup 25 mg/kg dozunda BPA birlikte mısır yağı içinde çözdürülen 25 mg/kg karvakrol; Altıncı Grup 25 mg/kg dozunda BPA birlikte mısır yağı içinde çözdürülen 50 mg/kg karvakrol gastrik gavaj yoluyla 30 gün boyunca her gün uygulandı.

Çizelge 2.1: Deney ve kontrol grupları

Deney ve Kontrol Grupları	Grup Başına Hayvan Adet
Grup I - Kontrol	7
Grup II - Mısır yağı	7
Grup III – BPA (25 mg/kg)	7
Grup IV – BPA (25 mg/kg)+Karvakrol (12,5 mg/kg)	7
Grup V - BPA (25 mg/kg)+Karvakrol (25 mg/kg)	7
Grup VI – BPA (25 mg/kg)+Karvakrol (50 mg/kg)	7

2.3. Anestezi ve Sakrifikasyon Aşaması

Deney hayvanlarına son uygulamaları takiben 24 saat sonrasında izofluran anestezisi uygulandı. İntrakardiyak kan, beyin, kalp, testis, böbrek, karaciğer ve akciğer dokuları alındı. Laboratuvarda hızlı bir şekilde ön işlemler yapıldı. Anestezi sonrasında intrakardiyal olarak EDTA'lı enjektörle 3-5 cc kan almak amacıyla toraks açıldı. Bunun hemen sonrasında servikal dislokasyon yapıldı. Bu şekilde sakrifikasyon işlemi sonlandırılmış oldu. 10 dakika boyunca 3000 devir/dakika çalıştırılan santrifüj ile kan örneklerinin plazmaları ayrıldı. 1,5'lik ependorf tüplere alınan plazmalar analizleri yapılmıncaya kadar -80 °C'de muhafaza edildi.

Ratlara sakrifiye işlemi uygulandıktan sonra, önceden açılan göğüs kafesinin yanında bulunan batın bölgesi de cerrahi yöntemler kullanılarak açıldı ve ratlardan doku örnekleri alındı. Alınan dokulardan histopatolojik, biyokimyasal ve moleküler (sadece karaciğer ve böbrek dokuları) analizler gerçekleştirildi.

2.4. Doku Homojenizasyonu

Eritrositlerin hazırlanmasında Winterbourn vd., (1975) tarafından geliştirilen metot kullanıldı. Bu amaçla eritrositler, kan örneklerinin santrifüjlenmesi (3500 rpm, 15 dakika, 4 °C) sonrasında üç kez izotonik tuzlu su tampon solüsyonu (pH 7.4) ile yıkanarak erişildi. Ardından eritrositler eşit hacimde izotonik salin tampon çözeltisi ile ependorf tüplerine alındı ve -20 °C’de flakonlarda muhafaza edildi. Analiz için, iyonların uzaklaştırıldığı soğuk su kullanılarak eritrosit süspansiyonunun ölçümü hazır hale getirildi. Doku örneklerinin hazırlanması gerçekleştirildi (Ince vd., 2014). Özetle sakrifiye edilen hayvanlar beyin, böbrek, akciğer, karaciğer, kalp ve testis dokuları alındıktan sonra soğuk izotonik tuzlu su tamponu kullanılarak yıkandı. Dış dokudan arındırılan doku numuneleri soğutulmuş Tris-HCl tamponu (0.15 M, pH 7.4) içinde yıkandı ve örneklerin homojenatları (%10, w/v) hazır hale getirdi. Sonrasında 3500 rpm’de 4 °C’de 10 dakika santrifüj edilen homojenize dokular analize kadar -20 °C’de saklandı. CAT, SOD, GSH ve MDA değerleri ve lipid peroksidasyon antioksidan parametrelerinin analizi için dokuların homojenatları ve eritrositler değerlendirildi.

2.5. Süperoksid Dismutaz (SOD) Tayini

Hücrelerin oksidatif strese karşı savunmasında CAT ile SOD etkili olur (Guerin vd., 2001). Eritrosit lizatı ve doku homojenatındaki SOD aktivitesi yapıldı (Sun vd., 1988). Bu metotun ilkesi, ksantin oksidaz ve ksantin arasındaki reaksiyon ile süper oksit akışı oluşturarak nitroblue tetrazolyumu (NBT) mavi formazon’a indirgeyen temel bir süperoksit belirtecinden gelmektedir. SOD aktivitesi, eritrositte U/gHb ve dokuda g protein başına U şeklinde gösterildi ve 560 nm’de spektrofotometrik ölçüm yapıldı.

2.6. Katalaz (CAT) Aktivitesinin Tayini

Eritrosit ve dokularda CAT aktivitesi belirlendi (Aebi, 1974; Lück, 1965). Bu metotlar, katalaz tarafından hidrojen peroksidin su ve oksijene ayrılması prensibine dayanır. 240 nm’de oda sıcaklığında 45 saniye indirgenme hızı hesaplandı. 240 nm’de ultraviyole

spektrumda maksimum soğurmasını H_2O_2 gerçekleştirir. Lowry vd., (1951) ve Drabkin ve Austin, (1935) aracılığıyla dokulardaki protein ve eritrositlerdeki hemoglobinin içeriği sırasıyla spektrofotometrik olarak tespit edildi.

2.7. Malondialdehit (MDA) Tayini

Lipid peroksidasyonunun Malondialdehit (MDA) seviyesi güvenilir bir biyolojik gösterge olarak değerlendirildi. Doku homojenatlarında ve tam kan örneklerinde MDA Ohkawa vd., (1978) ve Draper ve Hardley, (1990) aracılığıyla tayin edildi. Söz konusu yöntemlerle TBA (tiyobarbitürik asit) ve MDA reaksiyonu ile erişilen rengin spektrofotometrik ölçümleri yapıldı. MDA derişimi, tiyobarbitürik asit-MDA karışımının (dokuda nmol/g ve kanda nmol/ml) absorban katsayısı 532 nm'de spektrofotometre kullanılarak tayin edildi (Shimadzu 1601, Tokyo, Japonya).

2.8. Redükte Glutasyon (GSH) Tayini

GSH, reaktif oksijen çeşitlerine karşı nonenzimatik bir koruma sisteminin baş üyesidir ve harcanması oksidatif stres aracılığıyla indüklenebilir (Guerin vd., 2001). Doku ve kan örneklerindeki GSH konsantrasyonu tayin edildi (Beutler vd., 1963). 0,2 ml örnek ile 1,8 ml damıtılmış su tüpe alındı karıştırıldı, sonrasında 3 ml çöeltme çöeltisi (1,67 g HPO_3 , 30 g NaCl, 0,2 g EDTA, 100 ml distile suda) ilave edildi. Bileşim ortalama beş dakika bekletilip süzöldü (Whatman No. 42). Ardından süzöntü (2 ml) farklı tüpte 0.3 M Na_2HPO_4 (8 ml) ve 5,5'-Dithiobis 2-nitrobenzoik asit (DTNB) (1 ml) ile birleştirildi. 412 nm'de optik yoğunluğu spektrofotometrik olarak (Shimadzu 1601 UV-VIS spektrofotometre, Tokyo, Japonya) tayin edildi. Analiz sonuçları nmol/g ve nmol/ml kan olarak belirlendi.

2.9. Histopatolojik Değerlendirme

Ratların diseksiyonundan sonra beyin, akciğer, kalp, böbrek, karaciğer, testis dokuları alındı ve %10'luk formaldehitin çözeltisi içinde bekletildi. Ardından kesitleri alınan dokular histolojik doku takip teknikleri doğrultusunda incelendi ve parafin bloklara gömüldü. Parafin kesitleri 5-6 µm boyutta olacak şekilde kesildi. Ardından hematoksilen-eozin tekniği ile boyandı. Eclipse Ci ve Nikon mikroskobunda incelendi.

2.10. Doku Takibi

Beyin, akciğer, kalp, karaciğer, böbrek ve testis doku numunelerinin histopatolojik ölçümlerinin yapılması için % 10'luk tamponlu formalin çözeltisi kullanıldı. Ardından doku numuneleri 2-3 mm kalınlığına küçültülerek doku takip kasetlerine alındı. Akan şebeke suyu altında yarım gün yıkaması yapıldı. Daha sonra 50, 70, 80, 96 ve mutlak etanol, ksilen, ksilenli parafin ve 58°C'de erimiş parafinde 2'şer saat bekletildi ve tekrardan parafin ile bloklandı. Parafin blokları mikrotom (Leica, RM 2245) ile 5 mikron boyutta kesildi alınan numuneler su banyosundan (Leica, HI 1210) geçirildi . Etüvde 10 dakika kurutulmasının ardından histopatolojik analize hazır hale geldi. Bütün kesitler susuz, 50, 70, 80 ve 96'luk alkol serileri ile ksilenden geçirilerek hematoksilen-eosin boyama yöntemi ile boyandı (Luna, 1968). Boyanan numuneler, binoküler başlıklı ışık mikroskobunda (Nikon, Eclipse Ci, Tokyo, Japan) analiz edildi lüzümlü numunelerden mikroskobik fotoğraflar çekildi (Nikon DS Fİ3, microscopic digital camera systems, Tokyo, Japan).

2.11. Moleküler Analizler

Böbrek ve karaciğer numunelerindeki doku hasarları ile ilişkili olan yangısal genlerin ekspresyon düzeyleri incelendi. RNA İzolasyonu, RNA'ların Kalite Kontrolü, DNaz Uygulaması ve cDNA Eldesi aşamalar boyunca takip edildi. Ratlardan alınan karaciğer ve böbrek doku numuneleri RNAlater çözeltisine alındı (Thermo Fisher Scientific, USA) ve -80°C'de muhafaza edildi. GeneJet RNA Purifikasyon Kiti (Thermo Fisher

Scientific, USA) kullanılarak RNA ayrıştırması uygulandı. Karaciğer ve böbrek dokularından ayrıştırılan RNA'ların miktar ve kalitesi MultiskanTM FC Mikroplate Fotometre (Thermo Fisher Scientific, USA) cihazı kullanılarak A260/A280 UV dalga boylarında ölçüldü. Gruplara ve dokulara ayrıştırılarak RNA miktarları cDNA eldesinde toplamda 1 µg RNA şeklinde hesaplanarak değerlendirildi. RNA'lardan DNA'yı uzaklaştırmak için 1 µg kalıp RNA, 1 µl 10X Reaksiyon çözeltisi, 1 µl RNaz bulundurmeyen DNaz I (Thermo Fisher Scientific, USA) eklenerek DEPC (dietil pirokarbonat) miktarıyla toplamda 10 µl'ye tamamlandı ve 30 dk 37°C-10 dk 65°C'de inkübasyon yapıldı. cDNA, DNaz I uygulaması yapılan RNA'dan RevertAid H Minus Single Strand cDNA Sentez Kit (Thermo Fisher Scientific, USA) desteğiyle temin edildi. Kullanılan primerler NCBI web sitesinden Rattus norvegicus'a has β-aktin, NFκB, TNF-α, ve IFN- γ genlerine ait mRNA dizileri kullanıldı ve FastPCR 6.0 (Kalender vd., 2009) programıyla primer tasarımı yapıldı. Primer dizileri ve gen bankası numaraları Çizelge 2.2.'de verilmiştir. Gruplar arasındaki gen ekspresyon düzeylerindeki ayrımları tespit etmek maksatıyla real-time PCR ve gene özgü primerlerden faydalanıldı. Seçili genlerin ve housekeeping gen (β-Aktin) ekspresyonu, karaciğer dokusu numuneleri Bio RAD real-time PCR cihazında analiz edildi. Ardından Real-time PCR sonuçlarının analizi Bio RAD CFX Manager 3.1 programı değerlendirilerek yapıldı. PCR karışımı, 1 µl revers primer (10 pmol), 1µl forward primer (10 pmol), 10 µl SybrGreen karışımı (Maxima SYBR Green qPCR Master Karışımı ve ROX çözeltisi, (Thermo Fisher Scientific, USA), 1 µl cDNA ve 7 µl su ilave edilerek, miktarı 20 µl olarak tamamlandı. Üç adımlı amplifikasyon süreci primer yapışması, denatürasyon ve zincir uzatma işlemi sonrasında erişilen amplifikasyon eğrilerine ait olan döngü eşiği (Ct) parametrelerinden yola çıkarak, hedef genlerin mRNA ekspresyon düzeylerinin nisbi değişimleri $2^{-\Delta\Delta Ct}$ yöntemi ile hesaplandı (Pfaffl, 2001). Her gen için $2^{-\Delta\Delta Ct}$ formülünde yerine konularak mRNA ekspresyon düzeyi misli bir artış ya da azalma olarak belirlendi. Endojen kontrol geni olarak β-aktin geni belirlendi. Her örneğin β-aktin gen seviyesine göre diğer genlerin ekspresyon seviyelerinde normalizasyon gerçekleştirildi.

Çizelge 2.2: Çalışmada kullanılan primer dizileri.

Gen	Oligonükleotit Dizisi		Gen Bankası No
β -Aktin	F	GAGGGAAATCGTGCGTGACAT	NC_005111.4
	R	ACATCTGCTGGAAGGTGGACA	
NF κ B	F	TCCCCAAGCCAGCACCCCAGC	NM_199267.2
	R	GGCCCCCAAGTCTTCATCAGC	
TNF- α	F	CGAGTGACAAGCCCGTAGCC	NM_012675.3
	R	GGATGAACACGCCAGTCGCC	
IFN- γ	F	AAGACAACCAGGCCATCAGCA	NM_138880.3
	R	TTCACCTCGAACTTGGCGATGC	

2.12. İstatistiksel Analiz

Grupların arasındaki farklılıklar ve ortalamalar tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) ve Duncan testi ile SPSS 15.0 for Windows paket programı kullanılarak yapıldı.

3. BULGULAR

3.1. Oksidatif Stres Parametrelerindeki Değişimler

Çalışmamızda oluşturulan deneme ve kontrol gurubundan alınan örneklerde (beyin, akciğer, kalp, karaciğer, böbrek, testis doku ve kan örnekleri) oksidatif stres parametrelerindeki değişimler SOD ve CAT aktiviteleri ile MDA ve GSH düzeyleri tayin edildi. Bu göstergelerin 30 günlük araştırma süresi sonrasında dokulardaki düzeylerine ait bulguların istatistiksel değerleri ve karşılaştırmasına ilişkin çizelgeler aşağıda verildi.



3.1.1. MDA Düzeyleri

BPA uygulanan grupların kan ve doku örneklerinde MDA düzeyleri karvakrol verilen gruplara göre anlamlı seviyede artışa neden oldu. Farklı dozlarda karvakrol uygulanması MDA düzeylerinin BPA grubuna kıyasla anlamlı derecede kontrole yaklaştırdığı belirlendi.

Kan ve doku örneklerine ait MDA seviyeleri Çizelge 3.1’de verildi.

Çizelge 3.1: MDA düzeyleri

MDA	Kan (nmol/ml)	Böbrek (nmol/g doku)	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Yağ	30,44±4,96 ^b	26,68±7,15 ^c	20,82±5,91 ^c	18,45±2,59 ^b	9,42±1,01 ^c	14,97±4,11 ^c	3,16±0,74 ^d
Kontrol	29,22±4,37 ^b	25,01±6,34 ^c	18,5±5,13 ^c	18,08±3,73 ^b	8,79±2,48 ^c	14,65±2,74 ^c	3,02±0,66 ^d
BPA	41,68±8,99 ^a	38,02±6,71 ^a	36,74±8,68 ^a	27,44±4,53 ^a	20,25±7,17 ^a	27,41±4,93 ^a	6,78±1,08 ^a
BPA+Car 12,5 mg/kg	38,37±7,07 ^a	34,52±6,26 ^{ab}	35,73±3,67 ^a	25,06±2,1 ^a	17,85±3,96 ^{ab}	22,92±4,36 ^{ab}	4,84±0,89 ^b
BPA+Car 25 mg/kg	37,77±6,87 ^a	31,12±6,38 ^{abc}	31,28±4,63 ^{ab}	23,33±6,73 ^a	15,23±4,12 ^b	20,64±3,96 ^b	4,27±1,24 ^{bc}
BPA+Car 50 mg/kg	36,13±4,49 ^{ab}	30,02±2,45 ^{bc}	27,25±5,61 ^b	22,66±4,25 ^{ab}	13,53±4,37 ^{bc}	19,95±5,21 ^b	3,76±0,73 ^{cd}

Ortalama ± standart sapma; n=7

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir.

3.1.2. GSH Düzeyleri

Karvakrol uygulanan grupların kan ve doku örneklerinde GSH değerlerinin pozitif kontrol grubunun değerlerine kıyasla yükseldiği gözlemlendi. Bununla birlikte, sadece BPA uygulanan grubun GSH seviyesi negatif kontrol ve karvakrol uygulanan gruplara kıyasla azaldığı belirlendi. Kan ve doku örneklerindeki GSH düzeylerinin değişimi Çizelge 3.2’de verildi.

Çizelge 3.2: GSH düzeyleri

GSH	Kan (nmol/ml)	Böbrek (nmol/g doku)	Karaciğer (nmol/g doku)	Kalp (nmol/g doku)	Beyin (nmol/g doku)	Akciğer (nmol/g doku)	Testis (nmol/g doku)
Yağ	93,14±22,32 ^a	49,56±10,89 ^a	43,92±4,48 ^a	39,49±6,23 ^a	31,25±5,21 ^a	25,64±7,85 ^a	24,38±2,18 ^a
Kontrol	94,74±14,07 ^a	51,43±8,66 ^a	44,09±6,72 ^a	40,5±9,85 ^a	31,97±7,76 ^a	26,74±7,08 ^a	24,56±7,96 ^a
BPA	42,05±16,05 ^d	36,62±1,68 ^b	32,19±4,41 ^c	27,94±3,18 ^b	21,11±3,95 ^c	16,57±3,18 ^c	15,66±2,31 ^c
BPA+Car 12,5 mg/kg	57,21±12,07 ^{cd}	38,29±3,04 ^b	33,92±5,48 ^{bc}	29,15±6,3 ^b	22,75±3,49 ^{bc}	19,28±2,22 ^{bc}	18,24±3,89 ^{bc}
BPA+Car 25 mg/kg	72,06±18,34 ^{bc}	42,97±6,43 ^{ab}	37,07±3,63 ^{bc}	32,27±7,38 ^{ab}	24,84±2,97 ^{bc}	22,13±5,17 ^{abc}	19,22±3,24 ^{bc}
BPA+Car 50 mg/kg	77,9±11,1 ^{ab}	45,55±10,69 ^{ab}	38,6±4,16 ^{ab}	36,69±9,64 ^{ab}	27,95±2,86 ^{ab}	24,24±4,48 ^{ab}	21,03±3,07 ^{ab}

Ortalama ± standart sapma; n=7

a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir.

3.1.3. SOD Aktivite Düzeyleri

BPA uygulaması eritrosit ve diğer dokularda SOD enzim aktivitesinin negatif kontrol ve karvakrol gruplarına kıyasla azalmasına neden oldu. Bununla birlikte, farklı dozlarda karvakrol uygulaması SOD aktivitesinde pozitif kontrole göre artışlar saptandı. Eritrosit ve diğer dokulardaki SOD düzeylerinin değişimi Çizelge 3.3'te verildi.

Çizelge 3.3: SOD Aktivite düzeyleri

SOD	Eritrosit (U/gHb)	Böbrek (U/μg protein)	Karaciğer (U/μg protein)	Kalp (U/μg protein)	Beyin (U/μg protein)	Akciğer (U/μg protein)	Testis (U/μg protein)
Yağ	34,37±10,71 ^a	25,98±8,66 ^a	14,94±2,23 ^a	5,5±0,86 ^a	4,19±0,57 ^a	4,86±0,76 ^a	2,03±0,6 ^a
Kontrol	35,17±13,26 ^a	26,19±8,92 ^a	15,38±4,73 ^a	5,66±1,58 ^a	4,57±0,75 ^a	5,13±0,95 ^a	2,17±0,5 ^a
BPA	15,81±3,43 ^c	12,73±3,08 ^c	7,42±1,95 ^d	2,58±0,52 ^c	1,91±0,61 ^c	2,04±0,71 ^c	0,73±0,27 ^c
BPA+Car 12,5 mg/kg	21,15±5,85 ^{bc}	16,08±4,14 ^{bc}	9,54±1,28 ^{cd}	3,92±1,21 ^b	2,19±0,92 ^c	2,63±0,55 ^{bc}	1,04±0,35 ^{bc}
BPA+Car 25 mg/kg	23,43±7,16 ^{bc}	18,72±7,6 ^{abc}	10,82±2,39 ^{bc}	4,26±0,77 ^b	2,45±0,89 ^{bc}	3,08±0,53 ^b	1,28±0,35 ^b
BPA+Car 50 mg/kg	27,63±5,99 ^{ab}	22,77±4,79 ^{ab}	13,4±1,91 ^{ab}	4,91±1,2 ^{ab}	3,13±0,97 ^b	4,29±0,96 ^a	1,48±0,39 ^b

Ortalama ± standart sapma; n=7

^{a,b,c,d}: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir.

3.1.4. Katalaz Aktivite Düzeyleri

BPA uygulaması eritrosit ve dokularda CAT enzim aktivitesinde belirgin düşüslere neden olurken karvakrol eklenmesinden sonra enzim aktivitesinin olumlu yönde artış gösterdiği ve kontrol grubu değerlerine yaklaştığı tespit edilmiştir. CAT aktivite düzeyleri değişimi Çizelge 3.4’te gösterilmiştir.

Çizelge 3.4: Katalaz aktivite düzeyleri

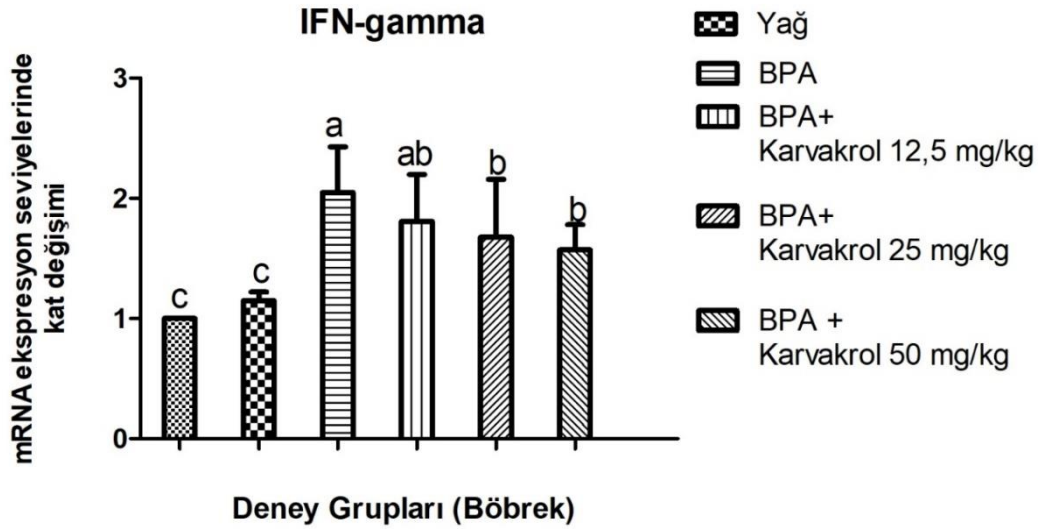
KATALAZ	Eritrosit (k/gHb)	Böbrek (k/µg protein)	Karaciğer (k/µg protein)	Kalp (k/µg protein)	Beyin (k/µg protein)	Akciğer (k/µg protein)	Testis (k/µg protein)
Yağ	122,71±22,88 ^a	63±14,4 ^a	31,72±9,57 ^a	11,78±2,43 ^a	16,34±3,36 ^a	13,81±3 ^a	6,61±0,28 ^a
Kontrol	124,87±20,49 ^a	64,19±10,76 ^a	32,63±3,65 ^a	12,5±3,09 ^a	17,19±2,98 ^a	14,24±2,35 ^a	6,81±0,89 ^a
BPA	79,2±16,73 ^c	38,84±11,68 ^c	18,9±6,45 ^c	5,9±1,07 ^c	9,02±3,64 ^d	7,23±1,4 ^d	3,14±0,9 ^d
BPA+Car 12,5 mg/kg	89,56±18,46 ^{bc}	42,47±6,83 ^{bc}	21,8±4,36 ^{bc}	6,44±1,42 ^{bc}	11,49±2,08 ^{cd}	9,52±2,56 ^{cd}	3,44±0,83 ^{cd}
BPA+Car 25 mg/kg	96,11±18,71 ^{bc}	46,81±8,6 ^{bc}	24,27±4,8 ^{bc}	7,35±1,81 ^{bc}	12,82±3,04 ^{bc}	10,75±2,05 ^{bc}	4,16±0,87 ^c
BPA+Car 50 mg/kg	109,32±31 ^{ab}	52,64±8,92 ^{ab}	26,99±5,69 ^{ab}	8,76±2,56 ^b	15,57±2,91 ^{ab}	12,67±3,73 ^{ab}	5,3±1,17 ^b

Ortalama ± standart sapma; n=7

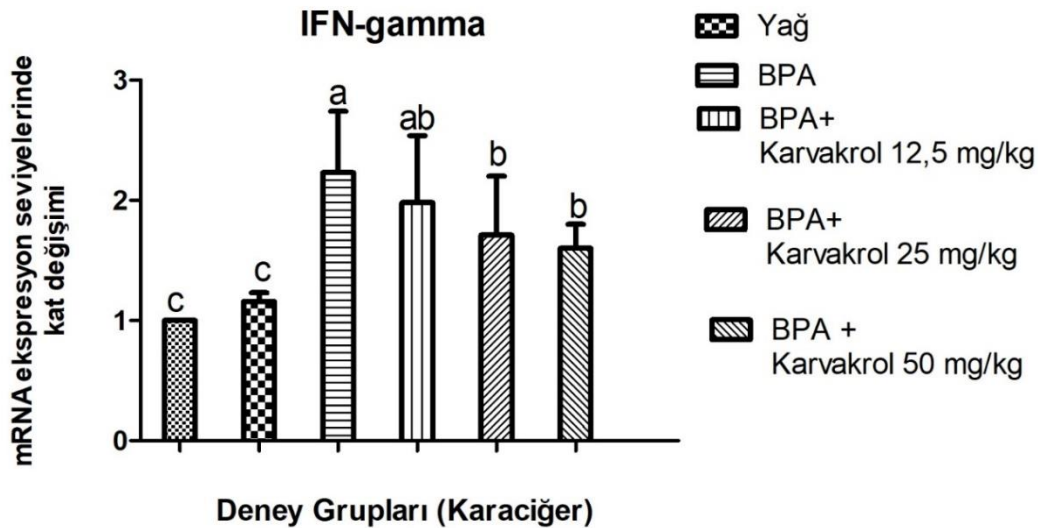
a,b,c,d: Aynı sütunda farklı harfleri taşıyan değerler istatistiksel olarak önemlidir.

3.1.5. Karaciğer ve Böbrekte Değişen Biyokimyasal Gen Parametreleri

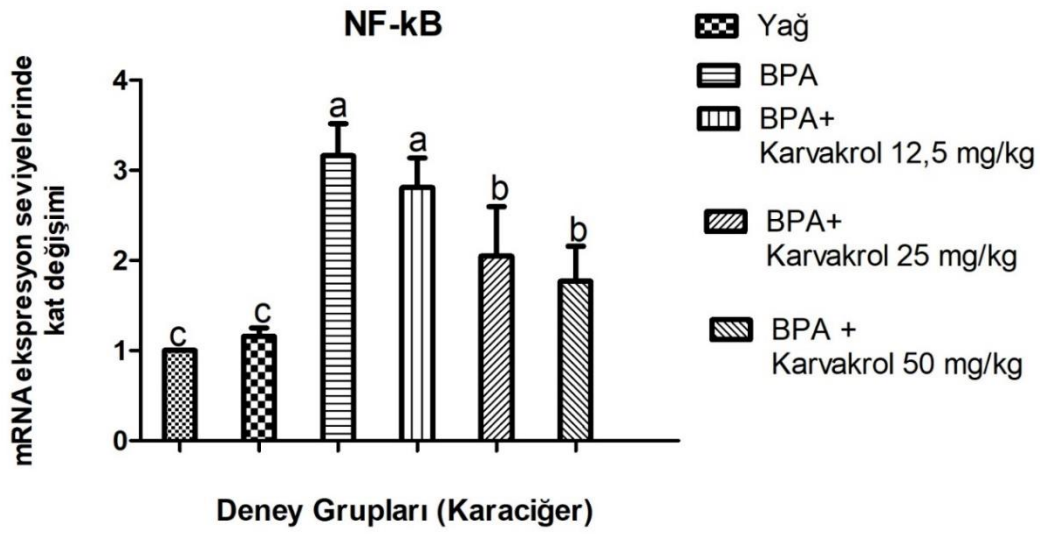
Doku hasarı ile ilişkili yangısal genlerin alınan karaciğer ve böbrek örneklerindeki (IFN-gamma ,TNF- α ve NFkB) ekspresyon düzeylerine bakıldı. Şekil 3.1, şekil 3.2, şekil 3.3, şekil 3.4, şekil 3.5 ve şekil 3.6’da analiz sonucunda alınan değerler gösterilmiştir.



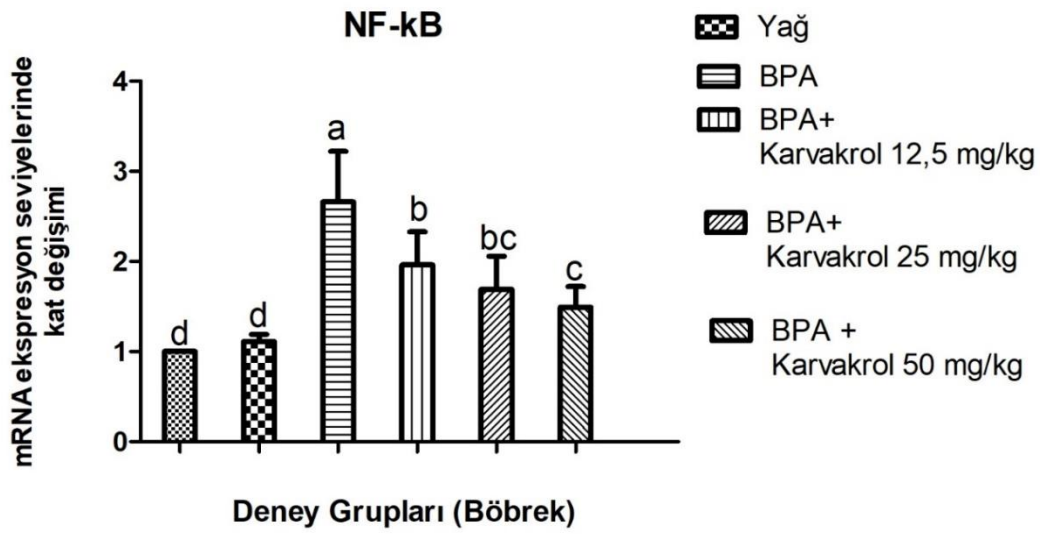
Şekil 3.1: Böbrek dokusunda IFN-gamma seviyesindeki değişimler. (a, b, c) Farklı harflere sahip değerler aynı sütunda istatistiksel farklılıklar gösterir.



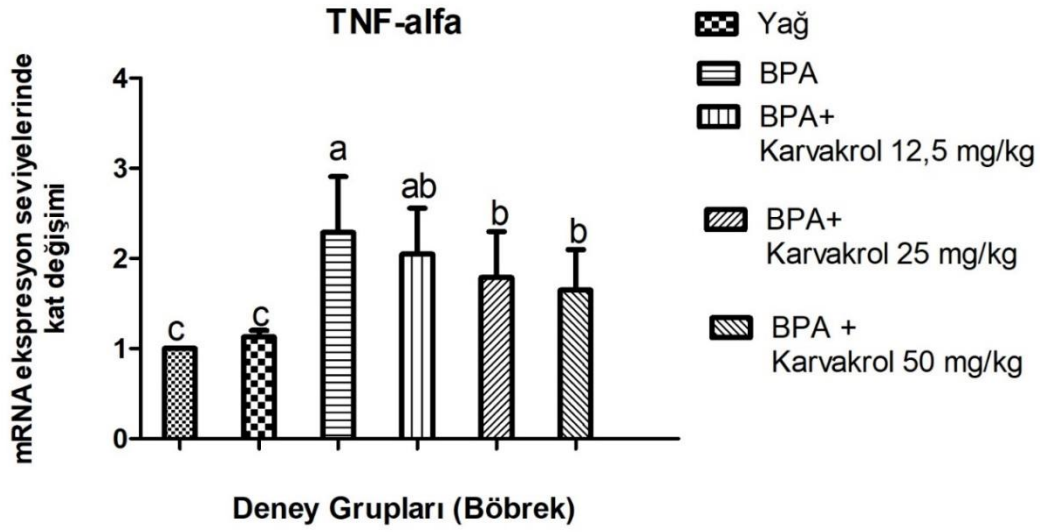
Şekil 3.2: Karaciğer dokusu IFN-gamma seviyesindeki değişimler. (a, b, c) Farklı harflere sahip değerler aynı sütunda istatistiksel farklılıklar gösterir.



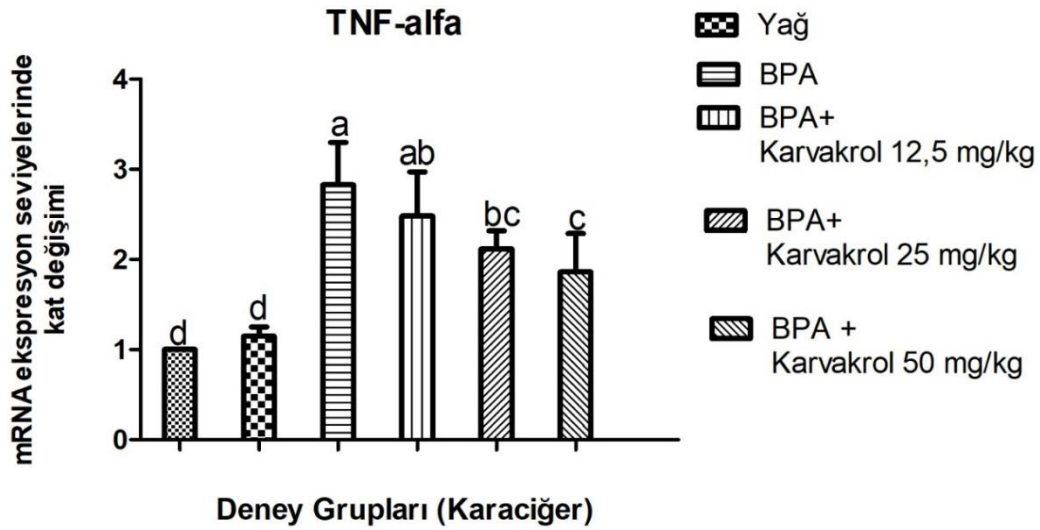
Şekil 3.3: Karaciğer dokusu NF-kB seviyesindeki değişimler. (a, b, c) Farklı harflere sahip değerler aynı sütunda istatistiksel farklılıklar gösterir.



Şekil 3.4: Böbrek dokusu NF-kB seviyesindeki değişimler. (a, b, c, d) Farklı harflere sahip değerler aynı sütunda istatistiksel farklılıklar gösterir.



Şekil 3.5: Böbrek dokusu TNF-alfa seviyesindeki değişimler. (a, b, c) Farklı harflere sahip değerler aynı sütunda istatistiksel farklılıklar gösterir.



Şekil 3.6: Karaciğer dokusu TNF-alfa seviyesindeki değişimler. (a, b, c, d) Farklı harflere sahip değerler aynı sütunda istatistiksel farklılıklar gösterir.

3.2. Histopatolojik Bulgular

Hematoksilen eozin ile boyanan örnekler ışık mikroskobu altında değerlendirildi.

Beyin dokusunda damarlarda hiperemi, nöronlarda vakuolizasyon oluşumları ve fokal glia hücre infiltrasyonu alanları görüldü.

Akciğer dokusunda interalveolar kapillar damarlarda hiperemi ve interstisyel dokuda kalınlaşma, peribronşioler bölgede mononükleer hücre infiltrasyonunda artış, bronşiol lümeninde ödem oluşumu görüldü.

Kalp dokusunda myokard hücrelerinde hyalin dejenerasyonu alanları, myokardda mononükleer hücre infiltrasyonu ve hemoraji alanları görüldü.

Karaciğer dokusunda vena sentralislerde hiperemi, hepatositlerde vakuoler dejenerasyon alanları, kupffer yıldız hücre sayısında artış, sinuzoidal dilatasyon ve hiperemi görüldü.

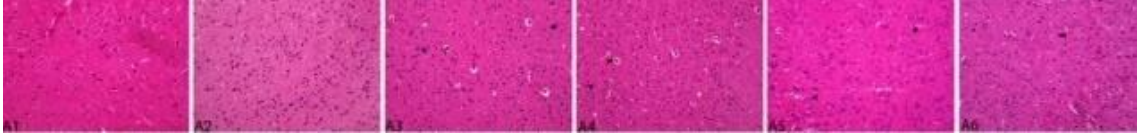
Böbrek dokusunda glomerulus bowman boşluğunda genişleme, tubuluslarda hyalin silindiri oluşumları görüldü.

Testis dokusunda tubulus seminiferus kontortus lümeninde dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış kitle, tubulus seminiferus kontortus lümeninde spermatozoid yoğunluğunda azalma görüldü.

Deney gruplarına ait organların histopatolojik değişiklikleri resimlerde gösterilmiştir.

3.2.1. Beyin Dokusu Histopatolojik İncelemesi

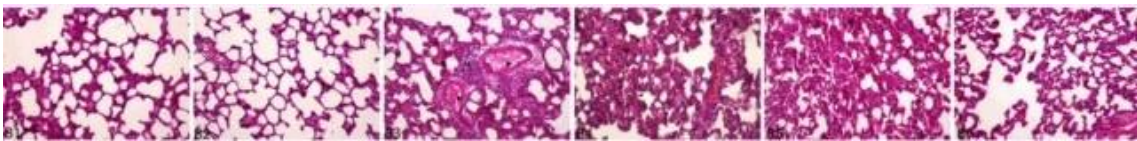
Resim 3.1’de görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler damarlardaki hiperemiyi, ince ok ile belirtilen çizgiler nöronlarda vakualizasyon oluşumları, okbaşı olarak belirtilen yerler ise fokal glia hücre infiltrasyon alanı göstermektedir.



Resim 3.1: A1. Kontrol grubuna ait beyin dokusu, A2. Yağ grubuna ait beyin dokusu A3. BPA grubuna ait beyin dokusu A4. BPA ve Karvakrol(12,5) grubuna ait beyin dokusu A5. BPA ve Karvakrol(25) grubuna ait beyin dokusu A6. BPA ve Karvakrol(50) grubuna ait beyin dokusu

3.2.2. Akciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi

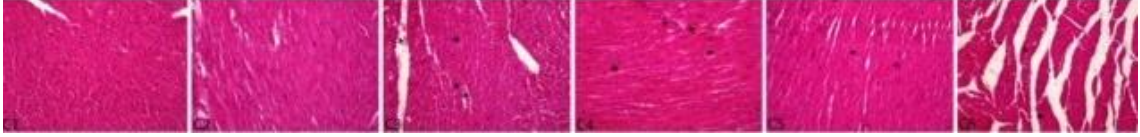
Resim 3.2’de B3, B4 ve B5 Numaralı görsellerde kalın ok ile belirtilen çizgiler interalveolar kapillar damarlarda hiperemi ve interstisyel dokuda kalınlaşma, ince ok ile belirtilen çizgiler peribronşiyoler bölgede mononükleer hücre infiltrasyonunda artışı, okbaşı bronşiyol lümeninde ödem oluşumu göstermektedir.



Resim 3.2: B1. Kontrol grubuna ait akciğer dokusu B2. Yağ grubuna ait akciğer dokusu B3. BPA grubuna ait akciğer dokusu B4. BPA ve Karvakrol(12,5) grubuna ait akciğer dokusu B5. BPA ve Karvakrol(25) grubuna ait akciğer dokusu B6. BPA ve Karvakrol(50) grubuna ait akciğer dokusu

3.2.3. Kalp Dokusu Histopatolojik İncelemesi

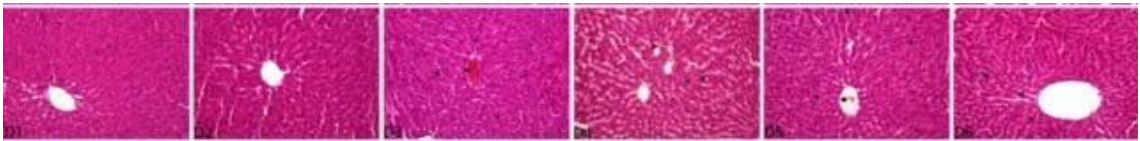
Resim 3.3’de kalın ok ile belirtilen çizgiler myokard hücrelerinde hyalin dejenerasyonu alanları, ince ok ile belirtilen çizgiler Myokardda mononükleer hücre infiltrasyonu alanı, okbaşı olarak belirtilen yerler ise myokardda hemoraji alanlarını göstermektedir.



Resim 3.3: C1. Kontrol grubuna ait kalp dokusu C2. Yağ grubuna ait kalp dokusu C3. BPA grubuna ait kalp dokusu C4. BPA ve Karvakrol(12,5) grubuna ait kalp dokusu C5. BPA ve Karvakrol(25) grubuna ait kalp dokusu C6. BPA ve Karvakrol(50) grubuna ait kalp dokusu

3.2.4. Karaciğer Dokusu Histopatolojik İncelemesi

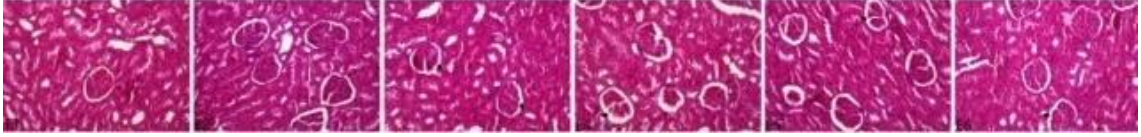
Resim 3.4’de D3, D4,D5 ve D6 numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler vena sentralislerde hiperemiyi, ince ok ile belirtilen çizgiler hepatositlerde vakuoler dejenerasyon alanları, kıvrımlı ok Kupffer yıldız hücre sayısında artışı, okbaşı olarak belirtilen yerler ise Sinuzoidal dilatasyon ve hiperemiyi göstermektedir.



Resim 3.4: D1. Kontrol grubuna ait karaciğer dokusu D2. Yağ grubuna ait karaciğer dokusu D3. BPA grubuna ait karaciğer dokusu D4. BPA ve Karvakrol(12,5) grubuna ait karaciğer dokusu D5. BPA ve Karvakrol(25) grubuna ait karaciğer dokusu D6. BPA ve Karvakrol(50) grubuna ait karaciğer dokusu

3.2.5. Böbrek Dokusu Histopatolojik İncelemesi

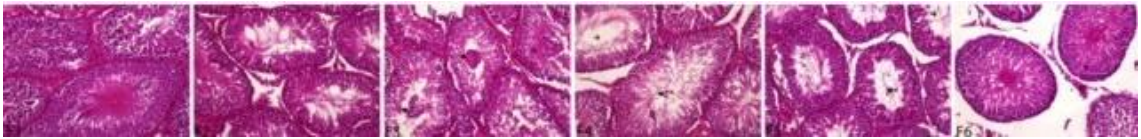
Resim 3.5’de E3, E4 ve E5 numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler glomerulus bowman boşluğunda genişleme, ince ok ile belirtilen çizgiler tubuluslarda hyalin silindiri oluşumları göstermektedir.



Resim 3.5: E1. Kontrol grubuna ait böbrek dokusu E2. Yağ grubuna ait böbrek dokusu E3. BPA grubuna ait böbrek dokusu E4. BPA ve Karvakrol(12,5) grubuna ait böbrek dokusu E5. BPA ve Karvakrol(25) grubuna ait böbrek dokusu E6. BPA ve Karvakrol(50) grubuna ait böbrek dokusu

3.2.6. Testis Dokusu Histopatolojik İncelemesi

Resim 3.6’da F3, F4, F5 ve F6’da numaralı görselde kalın ok ile belirtilen çizgiler TSK lümeninde dökülmüş epitel hücrelerinin oluşturduğu yoğunlaşmış kitle, ince ok ile belirtilen çizgiler TSK lümeninde spermatozoid yoğunluğunda azalmayı göstermektedir.



Resim 3.6: F1. Kontrol grubuna ait testis dokusu F2. Yağ grubuna ait testis dokusu F3. BPA grubuna ait testis dokusu F4. BPA ve Karvakrol(12,5) grubuna ait testis dokusu F5. BPA ve Karvakrol(25) grubuna ait testis dokusu F6. BPA ve Karvakrol(50) grubuna ait testis dokusu

4. TARTIŞMA

Acaröz vd. (2019), borun erkek Wistar Albino ratlarda BPA aracılı oksidatif stres üzerindeki etkilerini değerlendirdikleri çalışmada ratlar eşit olarak 5 gruba ayrıldı. Kontrol grubuna mısır yağı oral olarak verildi; İkinci gruba mısır yağında çözünmüş 25 mg kg⁻¹ BPA oral olarak verildi. Diğer tüm gruplara 30 gün boyunca oral olarak aynı dozda BPA ve farklı dozlarda bor (sırasıyla günde 5, 10 ve 20 mg kg⁻¹) verildi. BPA'nın rat dokularında GSH seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve MDA seviyelerini arttırdığı, ayrıca dokularda ve eritrositlerde CAT ve SOD aktivitelerini azalttığı bildirildi. Bor uygulamasının rat dokularında doza bağlı bir şekilde BPA'nın neden olduğu değişiklikleri tersine çevirdiği, antioksidan ve antiinflamatuvar etkiler gösterdiği, metabolik ve histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği bildirildi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da BPA'nın rat dokularında GSH seviyelerini önemli ölçüde azalttığı ve MDA seviyelerini arttırdığı, ayrıca dokularda ve eritrositlerde CAT ve SOD aktivitelerini azalttığı görüldü. Karvakrol uygulamasının rat dokularında doza bağlı bir şekilde antioksidan etki gösterdiği BPA'nın neden olduğu hasarı, metabolik ve histopatolojik değişiklikleri iyileştirdiği görüldü.

Pratima vd. (2022), karvakrolün antioksidan yapısının zebra balığı beynini BPA'nın neden olduğu değişik davranış tepkilerinden ve oksidatif stresten koruyup koruyamayacağını belirlemek için yaptıkları çalışmada karvakrolün BPA'nın neden olduğu değişen davranışsal yanıtı hafifletmede etkili olduğunu bildirdi. Zebra balığı beynindeki biyokimyasal araştırmalar, karvakrolün BPA tarafından indüklenen oksidatif stresi tedavi etmede terapötik potansiyele sahip olabileceğini gösterdi. Zebra balığı beyninin BPA'nın neden olduğu toksisiteye karşı karvakrol ile korunduğu bildirildi. Araştırma sonuçları karvakrolün reaktif oksijen türlerinin üretimini inhibe ederek zebra balığında BPA'nın neden olduğu toksisitenin tedavisinde yararlı bir müdahale olabileceğini bildirdi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da karvakrolün BPA tarafından indüklenen oksidatif stresi tedavi etmede terapötik potansiyele sahip olabileceği sonucuna varıldı.

Ateş ve Hatipoğlu (2022), hepatotoksik BPA uygulaması yapılan sıçanlarda *Nigella sativa* (çörek otu) yağının (NSO) karaciğer üzerindeki koruyucu etkilerini araştırmak amacıyla yaptıkları çalışmada, birinci grup (Kontrol) (n=6): 1 ml zeytinyağı, oral; İkinci

grup NSO (n=8): 5 ml/kg N. sativa yağı, gavaj; Üçüncü grup BPA (n=8): 100 mg/kg BPA (1 ml zeytinyağında çözülmüş), gavaj; Dördüncü grup BPA+NSO (n=8): 100 mg/kg BPA (1 ml zeytinyağında çözülmüş) + 5 ml/kg N. sativa yağı, oral olarak verildi. 30 günlük süre sonunda ratlardan diseksiyonla çıkarılan karaciğer örneklerinin histopatolojik incelemesi yapıldı. BPA, hepatositlerde dejenerasyon ve nekroz, Kuffper aktivasyonu, safra kanalı hiperplazisi, konjesyon ve hepatik kord ayrışmasına neden olarak total karaciğer lezyon skorlarında ciddi artışlara neden oldu. Diyetle NSO eklenmesiyle histolojik yapı ve karaciğer fonksiyon testleri önemli ölçüde iyileştirildi. Sonuç olarak NSO'nun BPA'nın neden olduğu karaciğer hasarını iyileştirerek hepatoprotektif bir etkiye sahip olduğu bildirildi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da karaciğer dokusunda vena sentralislerde hiperemi, hepatositlerde vakuoler dejenerasyon alanları, kupffer yıldız hücre sayısında artış, sinuzoidal dilatasyon ve hiperemi görüldü. Karvakrolün BPA'nın neden olduğu karaciğer hasarını iyileştirerek hepatoprotektif bir etkiye sahip olduğu görüldü.

Ola-Davies ve Olukole (2018), BPA'nın neden olduğu değişikliklere karşı gallik asitin koruyuculuğunu araştırdıkları çalışmada Grup A (Kontrol): 0.2 ml mısır yağı; Grup B (GA): 20 mg/kg/gün GA (damıtılmış suda çözülmüş); Grup C (BPA): 10 mg/kg/gün BPA, 0.2 ml mısır yağı içinde süspanse; Grup D (BPA + GA) oral olarak uygulanan BPA (10 mg/kg/gün) ve beraberinde GA (20 mg/kg) verildi. BPA'nın reaktif oksijen türleri ve enfeksiyon yoluyla renal toksisiteye neden olduğu, gallik asitin bu koşulları iyileştirdiği ve kan basıncı parametrelerini eski haline getirdiği sonucuna vardı. Düşük doz gallik asitin BPA'nın neden olduğu kalp ve böbrek toksisitesine karşı koruyucu bir işlev gördüğü bildirildi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da karvakrolün BPA'nın neden olduğu böbrek toksisitesine karşı koruyucu bir etki gösterdiği sonucuna varıldı.

Karakuş (2022), ratlarda BPA ile oluşturulan oksidatif strese karşı naringenin'in düzeltici etkilerini araştırdı. Çalışmada kontrol grubu, BPA grubu, naringenin grubu ve BPA+naringenin grubu olmak üzere dört grup oluşturuldu. BPA 25 mg/kg/gün ve naringenin 50 mg/kg/gün olarak uygulandı. Ratların karaciğer ve beyin dokularında MDA ve GSH düzeyleri araştırıldı. BPA uygulanan gruplarda MDA seviyesinde artış gözlemlendi, naringenin etkisiyle MDA seviyesinin azaldığı tespit edildi. BPA uygulanan gruplarda GSH seviyesinde nispi azalma tespit edildi, naringenin etkisiyle GSH

seviyesinde nispi oranda artış saptandı. Sonuç olarak, BPA'nın oluşturduğu oksidatif strese karşı naringenin'in antioksidan olarak koruyucu etkilerinin olduğu bildirildi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da ratların karaciğer ve beyin dokularında MDA ve GSH düzeyleri araştırıldı. BPA uygulanan gruplarda MDA seviyesinde artış gözlemlendi, karvakrolün etkisiyle MDA seviyesinin azaldığı tespit edildi. BPA uygulanan gruplarda GSH seviyesinde nispi azalma tespit edildi, karvakrolün etkisiyle GSH seviyesinde nispi oranda artış saptandı. BPA'nın oluşturduğu oksidatif strese karşı karvakrolün antioksidan olarak koruyucu etkilerinin olduğu görüldü.

Yıldız vd. (2020), BPA'ya maruz bırakılan ratlarda vitamin E'nin böbrek histomorfolojisi üzerindeki etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada sham grubu 0,5 ml mısır yağı gavaj; E vitamini grubu 0.5 ml mısır yağında çözölmüş E vitamini 300 IU/kg/gün gavaj; BPA grubu 0,5 ml mısır yağında çözölmüş 10 mg/kg/gün BPA gavaj; E vitamini+BPA grubu 0.5 ml mısır yağında çözölmüş E vitamini 300 IU/kg/gün ve 10 mg/kg/gün BPA gavajla verildi. BPA grubunda böbrekte malpighi cisimciğı sayısı, tubulus proksimalis, tubulus distalis, pars ascendens ve tubulus collectivus çapları ile SOD aktivitesinde önemli bir azalma gözlemlendi. Ek olarak malpighi cisimciğı sayısı, pars ascendens ve tubulus collectivus çapları ile SOD aktivitesinin E vitamini grubunda arttığını gözlemlendi. MDA seviyesinin BPA grubunda arttığını, E vitamini grubunda ise azaldığını bildirdi. BPA'nın böbrekte histomorfolojik ve oksidatif değışikliklere neden olduğunu, bununla birlikte E vitamininin oksidatif hasarı azaltarak böbrek dokusunun korunmasına katkı sağlayabildiğini bildirdi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da BPA verilen grupta böbrek dokusunda glomerulus bowman boşluğunda genişleme, tubuluslarda hyalin silindiri oluşumları göröldü. BPA uygulanan gruplarda MDA seviyesinde artış, SOD aktivitelerinde azalma gözlemlendi, karvakrolün etkisiyle MDA seviyesinin azaldığı, SOD aktivitelerinde arttığı göröldü.

İştar vd. (2016), BPA'nın ratlarda oluşturabileceğı fizyolojik ve genotoksik etkilerini ve bu etkiler karşısında yeşil kahvenin koruyuculuğünün olup olmadığını araştırdıkları çalışmada kontrol grubuna çeşme suyu; Uygulama grubuna 50 mg/kg BPA ile 100 mg/kg ve 400 mg/kg dozlarında yeşil kahve 10 hafta boyunca verilmiştir. Sonuç olarak yeşil kahvenin BPA'nın olumsuz etkilerini iyileştirdiğı, tüm parametrelerde doza bağı bir iyileşme göröldüğü bildirildi. BPA'nın belli bir dozdan sonra toksisiteye sebep

olduğu, yeşil kahvenin ise bu toksisiteyi azaltmada etkili bir antioksidan olduğu sonucuna varıldı. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da BPA'nın dokularda oksidatif stresin neden olduğu hasara sebebiyet verdiği, artan dozlarda karvakrolün kullanılmasıyla bu tahribatların azaltılabildiği görüldü.

Cengiz vd. (2017), antioksidan özellikleri bilinen ve kekik bitkisinin temel bileşeni olan karvakrolün, siklofosfamid'in testis toksisitesi üzerindeki koruyucu etkilerini saptamayı amaçladıkları çalışmada deney hayvanları her grupta 7 hayvan olacak şekilde 5 gruba (0.5 mL serum fizyolojik (SF) kontrol, 50 ve 100 mg kg⁻¹ CP, 10+50 ve 10+100 mg kg⁻¹ CP+Car) ayrılmıştır. Histolojik ve biyokimyasal analizlerin sonuçlarına göre siklofosfamid kaynaklı testis tahribatının engellenmesinde karvakrolün önemli bir koruma sağladığını kanıtlayarak, karvakrolün antioksidan aktivitesinin yüksek olduğunu ve etkin bir hücre koruyucu olduğunu ortaya koymuştur. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da BPA kaynaklı testis tahribatının engellenmesinde karvakrolün önemli bir koruma sağladığı görüldü.

Turgut vd. (2014), karvakrolün asetaminofen (APAP) kaynaklı karaciğer toksisitesi üzerindeki etkisini ve karvakrol ile N-asetil sistein (NAS)'i karşılaştırmayı amaçladıkları çalışmada birinci gruptaki hayvanlara APAP toksisitesini takiben (tek doz 1000 mg kg⁻¹ APAP) 1.saatte karvakrol (kontrol grubunda verilen SF ile eşit hacimde 73 mg kg⁻¹ ip); İkinci gruptaki (kontrol grubu) hayvanlara 1 ml kg⁻¹ % 0,9'luk NaCl intraperitoneal(ip) tek doz; Üçüncü gruptaki hayvanlara sadece karvakrol (eşit hacimde 73 mg kg⁻¹ ip); Dördüncü gruptaki hayvanlara APAP toksisitesini takiben (tek doz eşit hacimde 1000 mg kg⁻¹ APAP gavajla verildikten sonra 1.saatte N-asetilsistein eşit hacimde 1.2 gr kg⁻¹ ip); Beşinci gruptaki hayvanlara sadece APAP (1000 mg kg⁻¹ tek doz gavajla) verilirken; Altıncı gruptaki hayvanlara sadece N-asetilsistein (eşit hacimde 1.2 gr kg⁻¹ ip) verildi. Sonuç olarak APAP grubu, NAS grubu ve APAP+NAS grubunda kontrol grubuna göre yüksek enflamasyon tespit edildiğini bildirdi. Çalışma neticesinde ratlarda karvakrolün asetaminofene bağlı hepatotoksistide yeterli koruyucu etkisinin olmadığı; karvakrol ile NAS'ın hepatosit hasarını önlemede birbirine üstünlüğünün olmadığı bildirildi. Bu çalışmanın sonucundan farklı olarak, yapılan çalışmada karvakrolün BPA'ya bağlı hepatotoksistide koruyucu etkisinin olduğu görüldü.

Samarghandian vd. (2016), yaptıkları çalışmada kısıtlama stresinin beyin, karaciğer ve böbrekte neden olduğu oksidatif stres hasarı üzerinde karvakrolün koruyucu etkilerini araştırdı. Kronik kısıtlama stresi için ratlar, arka arkaya 21 gün boyunca her gün 6 saat süreyle tutucularda tutuldu. Hayvanlar 21 gün boyunca her gün sistemik karvakrol uygulamaları aldı. (1) taşıyıcı + stressiz (NS) (Veh-NS); (2) taşıyıcı + stresli (Veh-S), (3) CAR (20 mg/kg, İP) + stressiz (CAR20-NS), (4) CAR (30 mg/kg, İP) + stressiz (CAR30-NS); (5) CAR (40 mg/kg, İP) + stressiz (CAR40-NS), (6) CAR (20 mg/kg, İP) + stresli (CAR20-S), (7) CAR (30 mg/kg, İP) + stresli (CAR30-S), ve (8) CAR (40 mg/kg, İP) + stresli (CAR40-S). Kısıtlama stresini takiben oksidatif stres parametrelerindeki değişiklikleri değerlendirmek için malondialdehit (MDA), indirgenmiş glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon redüktaz (GR) ve katalaz (CAT) seviyelerinin beyin, karaciğer ve böbrekteki aktiviteleri ölçüldü. Kısıtlama stresli hayvanlarda MDA düzeyi anlamlı olarak yüksek; GSH düzeyleri ve antioksidan enzim düzeyleri stressiz hayvanlara nazaran anlamlı derecede düşüktü. Karvakrol, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında stresli hayvanlardaki değişiklikleri iyileştirdi. Sonuç olarak karvakrolün kısıtlama stresinin neden olduğu oksidatif hasarı önleyebileceği bildirildi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da karvakrolün BPA'nın neden olduğu oksidatif hasarı önleyebileceği görüldü.

Nafees vd. (2013), yaptıkları çalışmada karvakrolün Wistar ratlarının karaciğerinde tiyoasetamid (TAA) ile indüklenen oksidatif stres, inflamasyon ve apoptoza karşı koruyucu etkilerini araştırdılar. Çalışmada ratlar, TAA'nın (300 mg/kg vücut ağırlığı) intraperitoneal uygulanmasıyla indüklenen hepatotoksisiteye karşı eş zamanlı profilaktik oral karvakrol uygulamasına (25 ve 50 mg/kg vücut ağırlığı) tabi tutuldu. Karvakrolün hepatotoksisiteye karşı etkinliği, antioksidan enzim aktivitelerinin biyokimyasal tahmini, histopatolojik değişiklikler ve inflamasyon ve apoptoz ekspresyonları açısından değerlendirildi. Karvakrol uygulamasının oksidatif stres, inflamasyon ve apoptozun azaltılmasını içeren doza bağlı bir şekilde koruyucu bir mekanizma yoluyla TAA'nın neden olduğu olumsuz etkileri önlediği bildirildi. Karvakrol uygulamasının koruyucu etkisine, nükleer faktör kappa B aktivasyonu, Bax ve Bcl-2 ekspresyonu üzerindeki inhibitör etkisinin yanı sıra TAA uygulamasına karşı histopatolojik değişikliklerin restorasyonu aracılık ettiğini bulduklarını bildirdiler. Karvakrolün, TAA'nın neden olduğu karaciğer hasarını etkili bir şekilde iyileştirdiğini

bildirdiler. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da karvakrolün BPA'nın neden olduğu karaciğer hasarını iyileştirdiği görüldü.

El-sayed vd. (2015) timol ve karvakrolün sisplatin (CP) kaynaklı nefrotoksisiteye karşı olası koruyucu etkilerini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada erkek ratlara enjekte edilen tek doz sisplatin (6 mg/kg, intraperitoneal) serum üre, kreatinin ve TNF- α düzeylerinde önemli artışlar gösterdi. Aynı zamanda, kontrol grubuna kıyasla, serum albümininde ve GSH seviyesinde, CAT ve SOD aktivitesinde önemli azalma; MDA ve kaspaz-3 seviyesinde artış görüldü. Buna karşılık, sisplatin enjeksiyonundan 14 gün önce ve sisplatin uygulamasından 7 gün sonra timol (20 mg/kg, oral) ve/veya karvakrol (15 mg/kg, p.o.) uygulamasının böbrek fonksiyonunu düzelttiği ve oksidatif stres parametrelerini iyileştirdiği bildirildi. Sonuç olarak timol ve karvakrol kombinasyonunun antioksidan, antienflamatuar ve antiapoptotik aktivitelere atfedilebilecek sinerjistik bir nefroprotektif etkiye sahip olduğu bildirildi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da karvakrol uygulamasının böbrek fonksiyonunu düzelttiği ve oksidatif stres parametrelerini iyileştirdiği, BPA'nın neden olduğu nefrotoksisiteye karşı nefroprotektif etkiye sahip olduğu görüldü.

El-Sayed vd. (2016) timol ve karvakrolün doksorubisin (DOX) kaynaklı kardiyotoksisiteye karşı olası koruyucu etkilerini değerlendirmek amacıyla yaptıkları çalışmada erkek ratlara enjekte edilen tek doz DOX (10 mg/kg i.v.), serumlaktat dehidrogenaz, kreatin kinaz, kreatin kinaz izoenzim-MB, aspartat transaminaz, TNF- α ve kardiyak troponin seviyelerinde önemli artışlar gösterdi. Aynı zamanda, kontrol grubuyla karşılaştırıldığında kalpteki MDA ve kaspaz-3 seviyesini arttırdı, buna eşlik eden kalpteki indirgenmiş GSH seviyesinde ve CAT ve SOD aktivitesinde önemli bir azalma oldu. Buna karşılık, doksorubisin uygulamasından 14 gün önce ve doksorubisin enjeksiyonundan 2 gün sonra timol (20 mg/kg p.o.) ve/veya karvakrol (25 mg/kg p.o.) uygulaması kalp fonksiyonunu ve oksidatif stres parametrelerini iyileştirdi. Özetle timol ve karvakrol kombinasyonunun antioksidan, antienflamatuar ve antiapoptotik aktivitelere atfedilebilecek sinerjistik bir kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu bildirildi. Benzer şekilde yapılan bu çalışmada da karvakrol uygulamasının kalp fonksiyonunu ve oksidatif stres parametrelerini iyileştirdiği, BPA'nın neden olduğu kardiyotoksisiteye karşı kardiyoprotektif etkiye sahip olduğu görüldü.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada BPA'nın neden olduğu oksidatif strese ratların dokularında karvakrolün koruyucu etkisi histopatolojik analizler, moleküler analizler ve biyokimyasal testlerle tespit edildi. BPA uygulanmasıyla SOD ve CAT enzim aktivitelerinde, azalma tespit edildi. BPA uygulaması dokularda MDA seviyelerinin belirgin şekilde artmasına neden olurken glutatyon seviyesinde azamaya sebep oldu. Bununla birlikte yüksek dozda BPA uygulaması dokularda histopatolojik değişikliklere ve yangısal genlerin ekspresyon düzeylerinin artışına neden oldu. Karvakrol uygulaması BPA tarafından indüklenen oksidatif hasarı azaltıcı yönde etki gösterdiği belirlendi.

Sonuç olarak BPA, karaciğer ve böbreklerdeki gen ekspresyonlarını olumsuz etkilemiş ve dokularda oksidatif stresin neden olduğu hasara sebebiyet vermiştir. Artan dozlarda karvakrolün kullanılmasının histolojik ve biyokimyasal sonuçlarla bu tahribatların azaltılabildiği görülmüştür. Doğal bir antioksidan olan Karvakrolün alımı BPA'nın oluşturduğu toksik etkilere karşı anlamlı derecede iyileştirme sağlamıştır.

Günlük hayatta mümkün oldukça gıdaların ambalajlanmasında plastik malzemelerle teması azaltılmalıdır ve bununla birlikte ambalaj amacına kullanılabilen diğer alternatiflerde kullanılmalıdır. Karvakrol ve diğer antioksidanları içeren gıda maddelerine beslenme rutininde daha fazla önem verilmelidir.

6. KAYNAKLAR

- Acaroz, U., Ince, S., Arslan-Acaroz, D., Gurler, Z., Demirel, H. H., Kucukkurt, I., Eryavuz, A., Kara, R., Varol, N., ve Zhu, K. (2019). Bisphenol-A induced oxidative stress, inflammatory gene expression, and metabolic and histopathological changes in male Wistar albino rats: Protective role of boron. *Toxicology Research*, 8, 262-269. <https://doi.org/10.1039/c8tx00312b>
- Acconcia, F., Pallottini, V., ve Marino, M. (2015). Molecular mechanisms of action of BPA. *Dose-Response*, 13(4), 1-9. <https://doi.org/10.1177/1559325815610582>
- Aebi, H. (1974). Catalase. *İçinde Methods of Enzymatic Analysis* (ss. 673-684). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-091302-2.50032-3>
- Aeschbach, R., Loliger, J., Scott, C., Murcia, A., Butler, J., ve Aruoma, O. I. (1994). Antioxidant Actions Of Thymol, Carvacrol, 6-Gingerol, Zingerone And Hydroxytyrosol. *Fd Chem. Toxic*, 32, 31-36.
- Akbulut, C., ve Yn, N. D. (2013). Bisfenol a'nın zebra balıklarında (danio rerio) teratolojik etkileri. *SAU J. Sci*, 17(1), 105-111.
- Aksoy, Y. (2002). Antioksidan Mekanizmada Glutatyonun Rol. *T Klin J Med Sci*, 22, 442-448.
- Antonia Nostro, ve Teresa Papalia. (2012). Antimicrobial Activity of Carvacrol: Current Progress and Future Prospectives. *Recent Patents on Anti-Infective Drug Discovery*, 7(1), 28-35. <https://doi.org/10.2174/157489112799829684>
- Arakawa, C., Fujimaki, K., Yoshinaga, J., Imai, H., Serizawa, S., ve Shiraishi, H. (2004). Daily Urinary Excretion of Bisphenol A. *İçinde Environmental Health and Preventive Medicine* (C. 9).
- Ateş, M. B., ve Hatipoğlu, D. (2022). Effect of nigella sativa oil on bisphenol a-induced hepatotoxicity in wistar albino rats: histopathological and biochemical investigation. *International Journal of Agriculture*,

Environment and Food Sciences, 402-409.
<https://doi.org/10.31015/jaefs.2022.3.9>

Atkinson, A., ve Roy, D. (1995). In Vivo DNA Adduct Formation by Bisphenol A. Environmental and Molecular Mutagenesis, 26, 60-66.

Ayazgök, B., ve Tüylü Küçükkılınç, T. (2017). Düşük Doz Bisfenol A'nın Büyük Etkileri. FABAD J. Pharm. Sci, 42, 139-150.

Balakrishnan, B., Henare, K., Thorstensen, E. B., Ponnampalam, A. P., ve Mitchell, M. D. (2010). Transfer of bisphenol A across the human placenta. American Journal of Obstetrics and Gynecology, 202(4), 393.e1-393.e7. <https://doi.org/10.1016/j.ajog.2010.01.025>

Baldi, F., ve Mantovani, A. (2008). A new database for food safety:EDID (Endocrine disrupting chemicals -Diet Interaction Database). Ann Ist Super SanItà, 44(1), 57-63.

Baratta, T. M., Dorman, H. J. D., Deans, S. G., Figueiredo, A. C., Barroso, J. G., ve Ruberto, G. (1998). Antimicrobial and antioxidant properties of some commercial essential oils. Flavour And Fragrance Journal, 13, 235-244.

Başer, K. H. C. (2022). Kekik. Türkiye Tabiatını Koruma Derneği Tabiat Ve İnsan Dergisi Journal Of Nature And Man, 1(191).

Baydar, H., ve Arabacı, O. (2013). Türkiye'nin Kekik Üretim Merkezi Olan Denizli'de Kültür Kekiğinin (*Origanum onites* L.) Tarımsal ve Teknolojik Özellikleri. İçinde H. Baydar ve O. Arabacı (Ed.), 10. Tarla Bitkileri Kongresi, Konya.

Bertuola, M., Fagali, N., ve Fernández Lorenzo de Mele, M. (2020). Detection of carvacrol in essential oils by electrochemical polymerization. Heliyon, 6(4).
<https://doi.org/10.1016/j.heliyon.2020.e03714>

Beutler, E., Duron, O., ve Kelly, B. M. (1963). Improved method for the determination of blood glutathione. J. Lab. Clin. Med., 61, 882-888.

- Bhatnagar, A., ve Anastopoulos, I. (2017). Adsorptive removal of bisphenol A (BPA) from aqueous solution: A review. *Çinde Chemosphere* (C. 168, ss. 885-902). Elsevier Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.10.121>
- Biedermann, S., Tschudin, P., ve Grob, K. (2010). Transfer of bisphenol A from thermal printer paper to the skin. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 398(1), 571-576. <https://doi.org/10.1007/s00216-010-3936-9>
- Bindhumol, V., Chitra, K. C., ve Mathur, P. P. (2003). Bisphenol A induces reactive oxygen species generation in the liver of male rats. *Toxicology*, 188(2-3), 117-124. [https://doi.org/10.1016/S0300-483X\(03\)00056-8](https://doi.org/10.1016/S0300-483X(03)00056-8)
- Bolognesi, C., Castle, L., Cravedi, J.-P., Engel, K.-H., Fowler, P. A. F., Franz, R., Grob, K., Gürtler, R., Husøy, T., Mennes, W., Penninks, A., Roland, F., Silano, V., ve Smith, A. (2015). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs : Executive summary. *EFSA Journal*, 13(1), 3978.
- Braunrath, R., Podlipna, D., Padlesak, S., ve Cichna-Markl, M. (2005). Determination of bisphenol A in canned foods by immunoaffinity chromatography, HPLC, and fluorescence detection. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 53(23), 8911-8917. <https://doi.org/10.1021/jf051525j>
- Cao, X.-L., Corriveau, J., ve Popović, S. (2010). Bisphenol A in Canned Food Products from Canadian Markets. *Journal of Food Protection*, 73(6), 1085-1089.
- Cao, X.-L., Perez-Locas, C., Dufresne, G., Clement, G., Popovic, S., Beraldin, F., Dabeka, R. W., ve Feeley, M. (2011). Concentrations of bisphenol a in the composite food samples from the 2008 Canadian total diet study in Quebec City and dietary intake estimates. *Food Additives and Contaminants - Part A*, 28(6), 791-798. <https://doi.org/10.1080/19440049.2010.513015>

- Careghini, A., Mastorgio, A. F., Saponaro, S., ve Sezenna, E. (2015). Bisphenol A, nonylphenols, benzophenones, and benzotriazoles in soils, groundwater, surface water, sediments, and food: a review. *Environmental Science and Pollution Research*, 22(8), 5711-5741. <https://doi.org/10.1007/s11356-014-3974-5>
- Çelik, Y., ve Şahin, S. (2021). Endokrin Bozucu Bir Kimyasal Olan Bisfenol A'nın Sağlık Üzerine Etkileri. *STED / Sürekli Tıp Eğitimi Dergisi*. <https://doi.org/10.17942/sted.771150>
- Cemeli, E., Baumgartner, A., ve Anderson, D. (2009). Antioxidants and the Comet assay. *İçinde Mutation Research - Reviews in Mutation Research* (C. 681, Issue 1, ss. 51-67). <https://doi.org/10.1016/j.mrrev.2008.05.002>
- Cengiz, M., Tekin, Y., İnal, B., ve Ayhancı, A. (2017). Kekik Bitkisinin Temel Bileşeni Olan Karvakrolün Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Üreme Sistemi Hasarı Üzerine Muhtemel Etkileri. *Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi*, 4(2). <https://doi.org/10.19159/tutad.295505>
- Çetinkaya, S. (2009). Endokrin çevre bozucular ve ergenlik üzerine etkileri. *Dicle Tıp Dergisi*, 36(1), 59-66.
- Cho, Y. J., Park, S. bin, Park, J. W., Oh, S. R., ve Han, M. (2018). Bisphenol A modulates inflammation and proliferation pathway in human endometrial stromal cells by inducing oxidative stress. *Reproductive Toxicology*, 81, 41-49. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.06.016>
- Çiftçi, S. (2019). Anne Sütünün Bisfenol A Düzeyi İle Maternal Beslenme Arasındaki İlişkinin Değerlendirmesi [Doktora Tezi]. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Cousins, I. T., Staples, C. A., Klečka, G. M., ve Mackay, D. (2002). A multimedia assessment of the environmental fate of bisphenol A. *Human and Ecological Risk Assessment*, 8(5), 1107-1135. <https://doi.org/10.1080/1080-700291905846>

- Diamanti-Kandarakis, E., Bourguignon, J. P., Giudice, L. C., Hauser, R., Prins, G. S., Soto, A. M., Zoeller, R. T., ve Gore, A. C. (2009). Endocrine-disrupting chemicals: An Endocrine Society scientific statement. *Endocrine Reviews*, 30(4), 293-342. <https://doi.org/10.1210/er.2009-0002>
- Dianin, AP. (1891). ., Zhurnal Russkogo Fizikokhimicheskogo Obshchestva, 23, 492.
- Dodds, E., ve Lawson, W. (1936). Synhyetic, oestrogenic agents without the phenanthrene nucleus. *Nature*, 137, 996.
- Drabkin, D. L., ve Austin, J. H. (1935). Spectrophotometric Studies II. Preparations From Washed Blood Cells; Nitric Oxide Hemoglobin And Sulfhemoglobin. *Journal of Biological Chemistry*, 112(1), 51-65.
- Draper, H. H., ve Hardley, M. (1990). Malondialdehyde determination as index of lipid peroxidation. *Methods Enzymol*, 186, 421-431.
- Durmaz, E., ve Koçer Giray, B. (2013). Çevresel bir endokrin bozucu: Bisfenol A ve toksik etkilerinin değerlendirilmesi. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 192-199.
- Eid, J. I., Eissa, S. M., ve El-Ghor, A. A. (2015). Bisphenol A induces oxidative stress and DNA damage in hepatic tissue of female rat offspring. *The Journal of Basic & Applied Zoology*, 71, 10-19. <https://doi.org/10.1016/j.jobaz.2015.01.006>
- El-Sayed, E. S. M., Mansour, A. M., ve Abdul-Hameed, M. S. (2016). Thymol and Carvacrol Prevent Doxorubicin-Induced Cardiotoxicity by Abrogation of Oxidative Stress, Inflammation, and Apoptosis in Rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 30(1), 37-44. <https://doi.org/10.1002/jbt.21740>
- El-Sayed, M. E.-S., Abdallah, A. R., Mansour, A. M., ve EL-Arabey, A. A. (2015). Thymol and carvacrol prevent cisplatin-induced nephrotoxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in rats.

- Journal of Biochemical and Molecular Toxicology, 29(4), 165-172.
<https://doi.org/10.1002/jbt.21681>
- Fu, P., ve Kawamura, K. (2010). Ubiquity of bisphenol A in the atmosphere. Environmental Pollution, 158(10), 3138-3143.
<https://doi.org/10.1016/j.envpol.2010.06.040>
- Gassman, N. R. (2017). Induction of oxidative stress by bisphenol A and its pleiotropic effects. İçinde Environmental and Molecular Mutagenesis (C. 58, Issue 2, ss. 60-71). John Wiley and Sons Inc.
<https://doi.org/10.1002/em.22072>
- Goodson, A., Summerfield, W., ve Cooper, I. (2002). Survey of bisphenol A and bisphenol F in canned foods. Food Additives and Contaminants, 19(8), 796-802. <https://doi.org/10.1080/02652030210146837>
- Guerin, P., Mouatassim, S. el, ve Menezo, Y. (2001). Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. Human Reproduction Update, 7(2), 175-189.
- Güven, N. M., ve Can Eke, B. (2022). Çevresel Bir Endokrin Bozucu Kimyasal: Bisfenol A Ve Polikistik Over Sendromu Oluşumunda Olası Etkileri. Türk Bilimsel Derlemeler Dergisi, 15(1), 1-41.
- Halliwell, B. B., ve Poulsen, H. E. (2006). Chapter 1: Oxidative Stress. İçinde Cigarette Smoke and Oxidative Stress. Springer.
- Hassan, Z. K., Elobeid, M. A., Virk, P., Omer, S. A., Elamin, M., Daghestani, M. H., ve Alolayan, E. M. (2012). Bisphenol a induces hepatotoxicity through oxidative stress in rat model. Oxidative Medicine and Cellular Longevity. <https://doi.org/10.1155/2012/194829>
- Hormann, A. M., vom Saal, F. S., Nagel, S. C., Stahlhut, R. W., Moyer, C. L., Ellersieck, M. R., Welshons, W. v., Toutain, P. L., ve Taylor, J. A. (2014). Holding thermal receipt paper and eating food after using hand sanitizer results in high serum bioactive and urine total levels of

bisphenol A (BPA). PLOS ONE, 9(10).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0110509>

İştar, B., Yapar, K., Acar, A., Yalçın, E., Seven, B., ve Çavuşoğlu, K. (2016). Albino Farelerde Bisfenol A Tarafından Teşvik Edilen Genotoksisiteye Karşı Yeşil Kahvenin Koruyucu Rolünün Araştırılması. Cumhuriyet Science Journal, 37(4), 339. <https://doi.org/10.17776/csaj.64101>

Ince, S., Kucukkurt, I., Demirel, H. H., Acaroz, D. A., Akbel, E., ve Cigerci, I. H. (2014). Protective effects of boron on cyclophosphamide induced lipid peroxidation and genotoxicity in rats. Chemosphere, 108, 197-204. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2014.01.038>

Jaafar, A. M., Hasnu, N., Zainal, Z., Masarudin, M. J., Mokrish, M., Ajat, M., Aung, M. M., ve Rayung, M. (2021). Preparation, Characterisation and Antibacterial Activity of Carvacrol Encapsulated in Gellan Gum Hydrogel. <https://doi.org/10.3390/polym>

Jain, S. K. (2006). Oxidative stress and metabolic diseases: Introduction. İçinde Pathophysiology (C. 13, Issue 3, ss. 127-128). <https://doi.org/10.1016/j.pathophys.2006.05.001>

Kalendar, R., Lee, D., ve Schulman, A. H. (2009). FastPCR software for PCR primer and probe design and repeat search The Role of Viruses in Genome Evolution and Adaptation View project. Genes, Genomes and Genomics, 3, 1-14. <https://www.researchgate.net/publication/284652273>

Karabulut, H. (2019). Erkek Yeni Zelanda Tavşanlarında Subakut Bisfenol A Toksisitesi [Doktora Tezi]. Afyon Kocatepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Karakuş, M. (2022). Bisfenol A'ya Maruz Kalan Rat Dokularına Naringenin Etkisi [Yüksek Lisans Tezi]. Adıyaman Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü .

- Kasai, H. (1997). Analysis of a form of oxidative DNA damage, 8-hydroxy-2 X-deoxyguanosine, as a marker of cellular oxidative stress during carcinogenesis. *İçinde Mutation Research (C. 387)*.
- Kobayashi, K., Liu, Y., Ichikawa, H., Takemura, S., ve Minamiyama, Y. (2020). Effects of bisphenol a on oxidative stress in the rat brain. *Antioxidants*, 9(3). <https://doi.org/10.3390/antiox9030240>
- Kokkini, S., ve Vokou, D. (1989). Carvacrol-rich Plants in Greece. *Flavour And Fragrance Journal*, 4, 1-7.
- Korkmaz, A., Ahbab, M. A., Kolankaya, D., ve Barlas, N. (2010). Influence of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced oxidative damages in liver of male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2865-2871. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2010.07.019>
- Kosaka, Y., ve Sinclair, K. B. (1982). Bisphenol-A From Phenol And Acetone With An Ion Exchange Resin Catalyst--Union Carbide Technology. *Process Economics Reviews*, PEP'82-1, 1(1), 1-33.
- Küçükler, S., Özdemir, S., Kandemir, F. M., ve Çağlayan, C. (2020). Ratlarda Kadmiyum Kaynaklı Mide Toksisitesine Karşı Karvakrol'un Etkileri. *Türk Doğa ve Fen Dergisi*, 12-18. <https://doi.org/10.46810/tdfd.717802>
- Kulisic, T., Radonic, A., Katalinic, V., ve Milos, M. (2004). Use of different methods for testing antioxidative activity of oregano essential oil. *Food Chemistry*, 85(4), 633-640. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2003.07.024>
- Le, H. H., Carlson, E. M., Chua, J. P., ve Belcher, S. M. (2008). Bisphenol A is released from polycarbonate drinking bottles and mimics the neurotoxic actions of estrogen in developing cerebellar neurons. *Toxicology Letters*, 176(2), 149-156. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2007.11.001>
- Liao, C., ve Kannan, K. (2011). Widespread occurrence of bisphenol A in paper and paper products: Implications for human exposure.

Environmental Science and Technology, 45(21), 9372-9379.
<https://doi.org/10.1021/es202507f>

Liguori, F., Moreno-Marrodan, C., ve Barbaro, P. (2020). Biomass-derived chemical substitutes for bisphenol A: Recent advancements in catalytic synthesis. İçinde Chemical Society Reviews (C. 49, Issue 17, ss. 6329-6363). Royal Society of Chemistry. <https://doi.org/10.1039/d0cs00179a>

Lowry, O. H., Rosebrough, N. J., Farr, A. L., ve Randall, R. J. (1951). Protein Measurement With The Folin Phenol Reagent. J Biol Chem, 265-275.

Lück, H. (1965). Catalase. İçinde Methods of Enzymatic Analysis (ss. 885-894). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-0-12-395630-9.50158-4>

Luna, L. G. (1968). Manual of histologic staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology. İçinde McGraw-Hill Book Company (3rd Ed, ss. 1-253).

Marwah, R. G., Fatope, M. O., Deadman, M. L., Ochei, J. E., ve Al-Saidi, S. H. (2007). Antimicrobial activity and the major components of the essential oil of *Plectranthus cylindraceus*. Journal of Applied Microbiology, 103(4), 1220-1226. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2672.2007.03365.x>

Matsumoto, H., Adachi, S., ve Suzuki, Y. (2005). Bisphenol A in ambient air particulates responsible for the proliferation of MCF-7 human breast cancer cells and its concentration changes over 6 months. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 48(4), 459-466. <https://doi.org/10.1007/s00244-003-0243-x>

Meli, R., Monnolo, A., Annunziata, C., Pirozzi, C., ve Ferrante, M. C. (2020). Oxidative stress and BPA toxicity: An antioxidant approach for male and female reproductive dysfunction. İçinde Antioxidants (C. 9, Issue 5). MDPI. <https://doi.org/10.3390/antiox9050405>

Meydan, D. (2021). Maternal Uygulanan Bisfenol-A'nın Sıçan Böbreğinin Gelişimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi [Histoloji Ve Embriyoloji

Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi]. Pamukkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.

Moghaddam, H. S., Samarghandian, S., ve Farkhondeh, T. (2015). Effect of bisphenol A on blood glucose, lipid profile and oxidative stress indices in adult male mice. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 25(7), 507-513. <https://doi.org/10.3109/15376516.2015.1056395>

Mondal, A., Bose, S., Mazumder, K., ve Khanra, R. (Ed.). (2020). Part of the Advanced Structured Materials book series (Structmat, volume 140). Bioactive Natural Products for Pharmaceutical Applications, 437-462.

Moon, M. K., Kim, M. J., Jung, I. K., Koo, Y. do, Ann, H. Y., Lee, K. J., Kim, S. H., Yoon, Y. C., Cho, B. J., Park, K. S., Jang, H. C., ve Park, Y. J. (2012). Bisphenol a impairs mitochondrial function in the liver at doses below the no observed adverse effect level. *Journal of Korean Medical Science*, 27(6), 644-652. <https://doi.org/10.3346/jkms.2012.27.6.644>

Mourad, I. M., ve Khadrawy, Y. A. (2012). The Sensitivity Of Liver, Kidney And Testis Of Rats To Oxidative Stress Induced By Different Doses Of Bisphenol A. *International Journal of Life Science & Pharma Research*, 2(2), 19-28.

Murata, M., ve Kang, J. H. (2018). Bisphenol A (BPA) and cell signaling pathways. *Çinde Biotechnology Advances* (C. 36, Issue 1, ss. 311-327). Elsevier Inc. <https://doi.org/10.1016/j.biotechadv.2017.12.002>

Nafees, S., Ahmad, S. T., Arjumand, W., Rashid, S., Ali, N., ve Sultana, S. (2013). Carvacrol ameliorates thioacetamide-induced hepatotoxicity by abrogation of oxidative stress, inflammation, and apoptosis in liver of Wistar rats. *Human and Experimental Toxicology*, 32(12), 1292-1304. <https://doi.org/10.1177/0960327113499047>

Nam, S. H., Seo, Y. M., ve Kim, M. G. (2010). Bisphenol A migration from polycarbonate baby bottle with repeated use. *Chemosphere*, 79(9), 949-952. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.02.049>

- Nane, İ. D., Özil, Ö., Minaz, M., Nazıroğlu, M., Diler, Ö., ve Özmen, Ö. (2021). Bisfenol A'nın Japon Balığı (*Carassius Auratus*) Dokularındaki Toksik Etkisi. 4th International Health Sciences and Life Congress.
- Ohkawa, H., Ohishi, N., ve Yagi, K. (1978). Reaction of linoleic acid hydroperoxide with thiobarbituric acid. *Journal of Lipid Research*, 19(8), 1053-1057. [https://doi.org/10.1016/s0022-2275\(20\)40690-x](https://doi.org/10.1016/s0022-2275(20)40690-x)
- Öksüz, T., Özdal, T., Şahin-Yeşilçubuk, N., ve Nilüfer-Erdil, D. (2012). Gıdalara Bisfenol A (BPA) Migrasyonu ve İnsan Sağlığı Üzerine Etkileri. *Akademik Gıda / Academic Food Journal*, 10(3), 93-98. <http://www.academicfoodjournal.comAkademikGıda10>
- Ola-Davies, O. E., ve Olukole, S. G. (2018). Gallic acid protects against bisphenol A-induced alterations in the cardio-renal system of Wistar rats through the antioxidant defense mechanism. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 107, 1786-1794. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.08.108>
- Pfaffl, M. W. (2001). A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *İçinde Nucleic Acids Research* (C. 29, Issue 9).
- Pratima, B. J., Ragunath, R., ve Nalini, N. (2022). Carvacrol Prevents Bisphenol A-Induced Behavioral Changes And Oxidative Stress in Zebrafish Through Modulating Brain Antioxidant Defense Mechanism. *Bioscience Biotechnology Research Communications*, 15(1), 260-267. <https://doi.org/10.21786/bbrc/15.1.40>
- Rathee, M., Malik, P., ve Singh, J. (2012). Bisphenol A in dental sealants and its estrogen like effect. *Indian Journal of Endocrinology and Metabolism*, 16(3), 339. <https://doi.org/10.4103/2230-8210.95660>
- Rezg, R., El-Fazaa, S., Gharbi, N., ve Mornagui, B. (2014). Bisphenol A and human chronic diseases: Current evidences, possible mechanisms, and future perspectives. *Environment International*, 64, 83-90. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2013.12.007>

- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Çinde Reproductive Toxicology* (C. 42, ss. 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>
- Rudel, R. A., Camann, D. E., Spengler, J. D., Korn, L. R., ve Brody, J. G. (2003). Phthalates, alkylphenols, pesticides, polybrominated diphenyl ethers, and other endocrine-disrupting compounds in indoor air and dust. *Environmental Science and Technology*, 37(20), 4543-4553. <https://doi.org/10.1021/es0264596>
- Samarghandian, S., Farkhondeh, T., Samini, F., ve Borji, A. (2016). Protective Effects of Carvacrol against Oxidative Stress Induced by Chronic Stress in Rat's Brain, Liver, and Kidney. *Biochemistry Research International*, 2016. <https://doi.org/10.1155/2016/2645237>
- Sasaki, N., Okuda, K., Kato, T., Kakishima, H., Okuma, H., Abe, K., Tachino, H., Tuchida, K., ve Kubono, K. (2005). Salivary bisphenol-A levels detected by ELISA after restoration with composite resin. *Journal of Materials Science: Materials in Medicine*, 16, 297-300.
- Schug, T. T., Janesick, A., Blumberg, B., ve Heindel, J. J. (2011). Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *Çinde Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology* (C. 127, Issues 3-5, ss. 204-215). <https://doi.org/10.1016/j.jsbmb.2011.08.007>
- Schwarz, K., Ernst, H., ve Ternes, W. (1996). Evaluation of Antioxidative Constituents from Thyme. *J Sci Food Agric*, 70, 217-223.
- Sharifi-Rad, M., Varoni, E. M., Iriti, M., Martorell, M., Setzer, W. N., del Mar Contreras, M., Salehi, B., Soltani-Nejad, A., Rajabi, S., Tajbakhsh, M., ve Sharifi-Rad, J. (2018). Carvacrol and human health: A

- comprehensive review. *Phytotherapy Research*, 32(9), 1675-1687.
<https://doi.org/10.1002/ptr.6103>
- Sheng, Z.-G., Tang, Y., Liu, Y.-X., Yuan, Y., Zhao, B.-Q., Chao, X.-J., ve Zhu, B.-Z. (2012). Low concentrations of bisphenol a suppress thyroid hormone receptor transcription through a nongenomic mechanism. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 259(1), 133-142.
<https://doi.org/10.1016/j.taap.2011.12.018>
- Sies, H., ve Cadenas, E. (1985). Oxidative stress: damage to intact cells and organs. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 311(1152), 617-631.
<https://doi.org/10.1098/rstb.1985.0168>
- Sirasnanagandla, S. R., Al-Huseini, I., Sakr, H., Moqadass, M., Das, S., Juliana, N., ve Abu, I. F. (2022). Natural Products in Mitigation of Bisphenol A Toxicity: Future Therapeutic Use. *İçinde Molecules* (C. 27, Issue 17). MDPI. <https://doi.org/10.3390/molecules27175384>
- Somogyi, A., Rosta, K., Pusztai, P., Tulassay, Z., ve Nagy, G. (2007). Antioxidant measurements. *Physiological Measurement*, 28(4).
<https://doi.org/10.1088/0967-3334/28/4/R01>
- Staples, C., Dorn, P., Klecka, G., ve O'Block, S. (1998). A Review of The Environmental Fate, Effects and Exposures Of Bisphenol A. *Chemosphere*, 36(10), 2149-2173.
- Strakovsky, R. S., ve Schantz, S. L. (2018). Impacts of bisphenol A (BPA) and phthalate exposures on epigenetic outcomes in the human placenta. *İçinde Environmental Epigenetics* (C. 4, Issue 3). Oxford University Press. <https://doi.org/10.1093/eep/dvy022>
- Sun, Y., Oberley, L. W., ve Li, Y. (1988). A Simple Method for Clinical Assay of Superoxide Dismutase. *Clinical Chemistry*, 34(3), 497-500.
<https://academic.oup.com/clinchem/article-abstract/34/3/497/5661714>

- Sungur, Ş., ve Kanan, F. (2019). Termal kağıtlardaki bisfenol A'nın saptanması için optimizasyon çalışması. Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 397-403. <https://doi.org/10.25092/baunfbed.548550>
- Suntres, Z. E., Coccimiglio, J., ve Alipour, M. (2015). The Bioactivity and Toxicological Actions of Carvacrol. Critical Reviews in Food Science and Nutrition, 55(3), 304-318. <https://doi.org/10.1080/10408398.2011.653458>
- Tan, E. (2019). Tiroid Hücrelerinde Bisfenol A'nın Toksik Etkileri Ve Selenyum Bileşiklerinin Koruyucu Rolünün Değerlendirilmesi [Farmasötik Toksikoloji Programı Yüksek Lisans Tezi]. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Tavakkoli, A., Abnous, K., Vahdati Hassani, F., Hosseinzadeh, H., Birner-Gruenberger, R., ve Mehri, S. (2020). Alteration of protein profile in cerebral cortex of rats exposed to bisphenol a: a proteomics study. NeuroToxicology, 78, 1-10. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2020.01.013>
- T.C. Resmi Gazete Sayı: 27960 10 Haziran. (2011). Tarım ve Köyişleri Bakanlığından: Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde ve Malzemeler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2011/29).
- Thomas Zoeller, R., Brown, T. R., Doan, L. L., Gore, A. C., Skakkebaek, N. E., Soto, A. M., Woodruff, T. J., ve vom Saal, F. S. (2012). Endocrine-disrupting chemicals and public health protection: A statement of principles from the Endocrine Society. Endocrinology, 153(9), 4097-4110. <https://doi.org/10.1210/en.2012-1422>
- Tsikakos, D. (2017). Assessment of lipid peroxidation by measuring malondialdehyde (MDA) and relatives in biological samples: Analytical and biological challenges. Analytical Biochemistry, 524, 13-30. <https://doi.org/10.1016/j.ab.2016.10.021>

- Tuğlu, Ü., Baydar, H., ve Erbaş, S. (2021). Distilasyon Yöntemlerinin, Sürelerinin ve Fraksiyonlarının Kekik (*Origanum onites* L.) Uçucu Yağ Oranları ve Bileşenleri Üzerine Etkisi. *Journal of the Institute of Science and Technology*, 3195-3202. <https://doi.org/10.21597/jist.810615>
- Turgut, H. C., Erden, İ. A., Akıncı, S. B., Sarıcaoğlu, F., Önder, S., Kılınç, K., Başer, H. C., ve Aypar, Ü. (2014). Asetaminofen'in Neden Olduğu Hepatotoksisitede Karvakrol'ün Etkisinin Değerlendirilmesi ve N-Asetil Sistein ile Karşılaştırılması. *Anestezi Dergisi*, 22, 13-17.
- Ultee, A., Slump, R. A., Steging, G., ve Smid, E. J. (2000). Antimicrobial Activity of Carvacrol toward *Bacillus cereus* on Rice. *Journal of Food Protection*, 63(5), 620-624.
- Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., ve Welshons, W. v. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *İçinde Reproductive Toxicology* (C. 24, Issue 2, ss. 139-177). <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010>
- Veldhuizen, E. J. A., Tjeerdsma-Van Bokhoven, J. L. M., Zweijtzter, C., Burt, S. A., ve Haagsman, H. P. (2006). Structural requirements for the antimicrobial activity of carvacrol. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(5), 1874-1879. <https://doi.org/10.1021/jf052564y>
- Wang, K., Zhao, Z., ve Ji, W. (2019). Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner. *Biomedicine and Pharmacotherapy*, 117. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.109182>
- Warner, G. R., Mourikes, V. E., Neff, A. M., Brehm, E., ve Flaws, J. A. (2020). Mechanisms of action of agrochemicals acting as endocrine disrupting chemicals. *İçinde Molecular and Cellular Endocrinology* (C. 502). Elsevier Ireland Ltd. <https://doi.org/10.1016/j.mce.2019.110680>
- Winterbourn, C. C., Hawkins, R. E., Brain, M., ve Carrell, R. W. (1975). The estimation of red cell superoxide activity. *J Lab Clin Med*, 55, 337-341.

- Yaman, S., Özdemir, Z., Şit, M., Özer, B., ve Çatal, O. (2018). Kekik Yağı Karvakrol'ün İnsan Sağlığına Etkileri. SETSCI Conference Indexing System, 2, 391-392.
- Yanishlieva, N. v, Marinova, E. M., Gordon, M. H., ve Raneva, V. G. (1999). Antioxidant activity and mechanism of action of thymol and carvacrol in two lipid systems. Food Chemistry, 64, 59-66.
- Yirün, A. (2018). Prenatal Bisfenol A Ve/Veya Di-2-Etil Hekzil Ftalat Maruziyetinin Nöroendokrin Bozucu Etkilerinin Değerlendirilmesi [Yüksek Lisans Tezi]. Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü.
- Yıldız, M., Güleş, Ö., Boyacıoğlu, M., ve Kum, Ş. (2020). Bisfenol A'ya maruz kalan sıçanlarda E vitamininin böbrek histomorfolojisi üzerine etkisi. Cukurova Medical Journal Cukurova Med J, 45(4), 1411-1417. <https://doi.org/10.17826/cumj.733337>
- Yıldız, Ş., ve Turan, S. (2021). Timokinon, Timol ve Karvakrolün Antioksidan Aktiviteleri ve Lipit Oksidasyonunu Önleme Kapasiteleri. Atatürk Üniversitesi Ziraat Fakültesi Dergisi. <https://doi.org/10.17097/ataunizfd.773499>
- Yoshikawa, T., ve Naito, Y. (2002). What Is Oxidative Stress? JMAJ, 45(7), 271-276.
- Yuan, J., Kong, Y., Ommati, M. M., Tang, Z., Li, H., Li, L., Zhao, C., Shi, Z., ve 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>
- Zacharewski, T. (1998). Identification and Assessment of Endocrine Disruptors: Limitations of in Vivo and in Vitro Assays. Environmental Health Perspectives, 106(2), 577-582.

- Zalko, D., Jacques, C., Duplan, H., Bruel, S., ve Perdu, E. (2011). Viable skin efficiently absorbs and metabolizes bisphenol A. *Chemosphere*, 82(3), 424-430. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2010.09.058>
- Zhang, D., Gan, R.-Y., Ge, Y.-Y., Yang, Q.-Q., Ge, J., Li, H.-B., ve Corke, H. (2018). Research progress on the antibacterial mechanisms of carvacrol: A mini review. *Çinde Bioactive Compounds in Health and Disease* (C. 1, Issue 6, ss. 71-81). Functional Food Institute. <https://doi.org/10.31989/bchd.v1i6.551>
- Zhang, Z., Alomirah, H., Cho, H. S., Li, Y. F., Liao, C., Minh, T. B., Mohd, M. A., Nakata, H., Ren, N., ve Kannan, K. (2011). Urinary bisphenol A concentrations and their implications for human exposure in several Asian countries. *Environmental Science and Technology*, 45(16), 7044-7050. <https://doi.org/10.1021/es200976k>
- Zotti, M., Colaianna, M., Morgese, M. G., Tucci, P., Schiavone, S., Avato, P., ve Trabace, L. (2013). Carvacrol: From ancient flavoring to neuromodulatory agent. *Molecules*, 18(6), 6161-6172. <https://doi.org/10.3390/molecules18066161>