



T.C.

GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ

TIP FAKÜLTESİ

HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BİSFENOL A VE S'NİN SIÇAN GASTROİNTESTİNAL
SİSTEMİNDEKİ HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ VE
İDRAR KÜTLE SPEKTROMETRİK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Abdullah MAHİROĞLU

UZMANLIK TEZİ

GAZİANTEP

2023

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ ve EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**BİSFENOL A VE S'NİN SIÇAN GASTROİNTESTİNAL
SİSTEMİNDEKİ HİSTOPATOLOJİK ETKİLERİ VE
İDRAR KÜTLE SPEKTROMETRİK
DEĞERLENDİRİLMESİ**

Dr. Abdullah MAHİROĞLU

UZMANLIK TEZİ

TEZ DANIŞMANI

Dr. Öğr. Üyesi Nuray BOSTANCIERİ

GAZİANTEP

2023

TEZ ONAY SAYFASI

T.C.
GAZİANTEP ÜNİVERSİTESİ
TIP FAKÜLTESİ
HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI

TEZİN ADI:
BİSFENOL A VE S'NİN SIÇAN GASTROİNTESTİNAL SİSTEMİNDEKİ HİSTOPATOLOJİK
ETKİLERİ VE İDRAR KÜTLE SPEKTROMETRİK DEĞERLENDİRİLMESİ

Dr Abdullah Mahiroğlu

TARİH: 16.08.2023

Tıp Fakültesi Dekanlığı Onayı

Prof. Dr. Şevki Hakan EREN
Tıp Fakültesi Dekanı

Bu tez çalışmasının “Tıpta Uzmanlık” derecesine uygun ve yeterli bir çalışma olduğunu onaylıyorum.

Anabilim Dalı Başkanı: Prof. Dr. Serap İNALÖZ DEMİR

Bu tez tarafımdan okunmuş ve her yönü ile “Tıpta Uzmanlık” tezi olarak uygun ve yeterli bulunmuştur.

Tez Danışmanı: Dr. Öğr. Üyesi Nuray BOSTANCIERİ

TEZ JÜRİSİ:

1. Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ:
2. Dr. Öğr. Üyesi Nuray BOSTANCIERİ
3. Dr. Öğr. Üyesi Çiğdem KARACA

TEŞEKKÜR

Asistanlık eğitimim boyunca üzerimde çokça emeği bulunan, desteğini her zaman hissettiğim danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Nuray BOSTANCIERİ'ne,

Değerli hocalarım Prof. Dr. Serap İNALÖZ DEMİR, Prof. Dr. Mehmet YÜNCÜ ve Dr. Öğr. Üyesi Mehmet TÜRKER başta olmak üzere bütün hocalarıma,

Deney hayvanları ile çalışmamda sorularıma anlayışla yaklaşan Doç. Dr. Davut Sinan KAPLAN ile Dr. Öğr. Üyesi Ahmet Sarper BOZKURT'a,

Sorumlu veteriner hekim Filiz BİÇİCİ ile Betül YILDIRIM, Cengiz YENİCİL, Mahli GÖYDENİZ başta olmak üzere bütün Gaziantep Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi (GAÜNDAM) çalışanlarına,

Araştırmam sırasında desteklerini esirgemeyen tüm çalışma arkadaşlarıma,

Yorulduğumda yüzündeki gülücüğü görüp çalışmaya devam edebildiğim yeğenim Ayşe Hümeysra'ya ve aileme teşekkürü bir borç bilirim.

ÖZET

Mahiroğlu, A. Bisfenol A ve S'nin Sıçan Gastrointestinal Sistemindeki Histopatolojik Etkileri ve İdrar Kütle Spektrometrik Değerlendirilmesi, Gaziantep Üniversitesi Tıp Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Tıpta Uzmanlık Tezi, Gaziantep, 2023. Bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH) dünya üzerinde sıklığı artmakta olan bir halk sağlığı problemidir. Bulaşıcı olmayan hastalıklar arasında gıda alerjisi ve inflamatuvar barsak hastalıkları (İBH) gibi pek çok hastalık sayılabilir. Endokrin bozucu kimyasallardan olan bisfenol A (BPA), polikarbonat plastikler ve epoksi reçinelerde kullanılmaktadır. Başlıca gıda ve sağlık endüstrisi olmak üzere geniş bir kullanım alanının olması insanlar üzerinde kronik maruziyete yol açmaktadır. BPA'nın zararlı etkilerinin ortaya çıkması üzerine başta bisfenol S (BPS) olmak üzere pek çok bisfenol türevi geliştirilmiş ve kullanılmaya başlanmıştır. *BPA-free* olarak ifade edilen ürünlerde kullanılan başlıca bisfenol türevi BPS'dir. Çalışmamızda bisfenol türevlerinden olan BPA ve BPS'nin dişi Sprague-Dawley cinsi sıçanların gastrointestinal sistemi üzerindeki inflamatuvar etkisi araştırılmıştır. 21 gün boyunca oral gavaj ile BPA ve BPS'ye maruz bırakılan sıçanların kalın barsaklarında inflamasyon gelişimi açısından Erben histomorfolojik skora sistemi yapılmıştır. Bisfenol türevlerinin metabolizmasının kıyasına yönelik idrar atılım miktarları Sıvı Kromatografi-Kütle Spektrometresi (LC-MS/MS) ile; kan total kolesterol, idrar kreatinin değerleri ise biyokimyasal analiz ile tespit edilmiştir. BPA'nın BPS'ye kıyasla kalın barsakta inflamasyonu daha fazla tetiklediği gösterilmiştir. Hem BPA hem BPS'nin total kolesterolü artırdığı gözlenmiştir. İdrarda spektrometrik analizlerde BPS'nin BPA'ya göre biyo-yıkımının daha az olduğu tespit edilmiştir. Bu durum BPS'nin vücutta birikimi açısından endişe vericidir.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A, Bisfenol S, barsak inflamasyonu, kütle spektrometresi

ABSTRACT

Mahiroğlu, A. The Evaluation of Histopathologic Effects of Bisphenol A and S on Gastrointestinal Systems of Rats and Their Urinary Mass Spectrometric Results, Gaziantep University Faculty of Medicine, Department of Histology and Embryology, Medical Specialty Thesis, 2023. Non-communicable diseases (NCDs)

are an increasing public health problem all around the world. Food allergy and inflammatory bowel diseases (IBD) can be counted among the NCDs. Bisphenol A (BPA), as an endocrine disrupting chemical, is used for the production of the polycarbonate plastics and epoxy resins. With vast area of usage of BPA, humans are exposed to it chronically. When BPA's damaging effects came in sight, other bisphenol analogues developed and came into use. One of the most common bisphenol analogues used as an alternative to BPA in BPA-free labeled product is Bisphenol S (BPS). In this study, the inflammatory effects of Bisphenol A and S on gastrointestinal system of Sprague-Dawley rats are investigated. After 21 days of exposure of BPA and BPS via oral gavage, Erben histomorphological scoring has been calculated for the assessment of development of inflammation in large intestine. In order to compare the bisphenol analogues' metabolism, their excretions in urine have been assessed with liquid chromatography–mass spectrometry (LC-MS/MS). And the levels of total cholesterol in blood and creatinine in urine have been analysed with biochemical tests. The results showed that, BPA has more pro-inflammatory impact than BPS on large intestine. Both BPA and BPS increased the level of total cholesterol. Because of less biodegraded than BPA, BPS wasn't detected in the urine. It is a concerning result about bioaccumulation of BPS in the body.

Keywords: Bisphenol A, Bisphenol S, intestinal inflammation, mass spectrometry

İÇİNDEKİLER

TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
İÇİNDEKİLER	vi
KISALTMALAR	viii
ŞEKİLLER.....	x
TABLolar	xi
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Bulaşıcı olmayan Hastalıklar ve İnflamatuvar Barsak Hastalıkları	4
2.2. Bisfenol ve Türevleri.....	6
2.3. Kalın Barsak Anatomisi ve Embriyolojisi.....	11
2.4. Kalın Barsak Histolojisi	14
2.5. İnflamasyon ve İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu	15
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	19
3.1. Araştırma Yöntemi:	19
3.2. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması.....	19
3.3. İdrar Örneklerinin LC-MS/MS ile Kantitatif Analizi.....	20
3.4. Jasem Glukuronidaz Enziminin Hazırlanması	20
3.5. Kalibratör Seviyelerinin Hazırlanması	20
3.6. İdrar Numune Hazırlığı	20
3.7. Cihaz Parametreleri	21
3.8. Kontrol Kromatogramları:.....	23
3.9. İdrar Kreatinin Analizi	23
3.10. Dokuların Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi.....	24
3.11. Erben Histomorfolojik Skorlaması	24
3.12. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi:.....	25
3.13. Deney Grupları	26
4. BULGULAR.....	28
4.1. İdrar Kreatininini Bulguları	28
4.2. İdrar BPA Değerleri Bulguları	29

4.3.	Düzeltilmiş BPA Değerleri Bulguları	30
4.4.	İdrar BPS Değerlerine Dair Bulgular	31
4.5.	Kan Total Kolesterol Değeri Bulguları	31
4.6.	Erben Skorlaması Bulguları	32
4.7.	Işık Mikroskopik Bulgular	33
4.7.1.	Negatif Kontrol Grubu (Grup 1):	34
4.7.2.	Taşıyıcı Kontrol Grubu (Grup 2):	36
4.7.3.	0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3)	38
4.7.4.	5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4)	41
4.7.5.	0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5).....	43
4.7.6.	5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6).....	46
5.	TARTIŞMA	49
6.	SONUÇ	52
7.	KAYNAKÇA.....	53

KISALTMALAR

ABD: Amerika Birleşik Devleti

AFP: Alfa-Fetoprotein

AIP: Anterior Intestinal Portal

BHPF: Fluorene-9-Bisfenol

BOH: Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar

BPA: Bisfenol A

BPF: Bisfenol F

BPS: Bisfenol S

CH: Crohn Hastalığı

CIP: Caudal/Posterior Intestinal Portal

DM: Diabetes Mellitus

E2: Östradiol

ECHA: Avrupa Kimyasal Ajansı

EFSA: Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi

EPA: Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı

ER: Östrojen Reseptör

GALT: Gut-Associated Lymphoid Tissue

GPR15: G Protein-Kenetli Reseptör 15

GPR30: G protein kenetli reseptör

HpF: High-power field

HPLC: High Performance Liquid Chromatography: Yüksek Performanslı Sıvı Kromatografisi

IEL: İntraepitelyal lenfositler

IFN γ : İnterferon- γ

IgA: İmmünglobulin A

IL: İnterlökin

ILF: İzole Lenfoid Foliküller

İBH: İnflamatuvar Barsak Hastalıkları

LC-MS/MS: Liquid chromatography–Mass Spectrometry, Sıvı Kromatografi Kütle Spektrometresi

N-CoR: The Nuclear Receptor Co-Repressor

PET: Polyethylene Terephthalate

SILT: Solitary Isolated Lymphoid Tissues

T3: Triiyodotironin

TDI: Tolere Edilebilen Günlük Alım Miktarı

T_H: T Helper

TLR: Toll-like receptor

T-reg: Regülatör T lenfosit

ÜK: Ülseratif Kolit

WHO: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER

Şekil 3.1. 50ng/ml Bisfenol A kalibratörüne ait kromatogram	23
Şekil 3.2. Bisfenol A internal standartına ait kromatogram	23
Şekil 4.1. İdrar Kreatinin Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	29
Şekil 4.2. İdrar BPA Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	30
Şekil 4.3. İdrar Düzeltilmiş BPA İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	31
Şekil 4.4. Kan Total Kolesterol İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları.....	32
Şekil 4.5. Erben Skorlaması İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	33
Şekil 4.6. Negatif Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 4x)	34
Şekil 4.7. Negatif Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)	35
Şekil 4.8. Negatif Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)	35
Şekil 4.9. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 4x)	36
Şekil 4.10. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)	37
Şekil 4.11. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 4x).....	37
Şekil 4.12. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)	38
Şekil 4.13. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 4x).....	39
Şekil 4.14. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 20x).....	39
Şekil 4.15. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 20x).....	40
Şekil 4.16. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 40x).....	40
Şekil 4.17. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 4x).....	41
Şekil 4.18. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 20x).....	42
Şekil 4.19. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 20x).....	42
Şekil 4.20. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 20x).....	43
Şekil 4.21. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 4x)	44
Şekil 4.22. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 10x)	44
Şekil 4.23. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 20x)	45
Şekil 4.24. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 40x)	45
Şekil 4.25. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (4x).....	46
Şekil 4.26. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (20x).....	47
Şekil 4.27. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (20x).....	47
Şekil 4.28. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (40x).....	48

TABLÖLAR

Tablo 2.1. Barsak gelişimi sırasında gerçekleşen başlıca embriyolojik aşamalar.....	12
Tablo 3.1. MS/MS Sistemi Parametreleri	21
Tablo 3.2. HPLC Parametreleri	21
Tablo 3.3. Kütle Geçişleri	22
Tablo 3.4. Segment.....	22
Tablo 3.5. Erben Histomorfolojik Skorlaması	25
Tablo 3.6. Deney Grupları.....	26
Tablo 4.1. İdrar Kreatinin Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	28
Tablo 4.2. İdrar BPA Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	29
Tablo 4.3. İdrar Düzeltilmiş BPA İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları	30
Tablo 4.4. Kan Total Kolesterol Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları.....	32
Tablo 4.5. Erben Skorlaması İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları.....	33

1. GİRİŞ

Günümüzde alerjiler başta olmak üzere pek çok immünite ilişkili hastalığın sıklığı gittikçe artmaktadır. Bunlar arasında inflamatuvar barsak hastalıkları (İBH) da sayılabilir. Kronik inflamasyon zemininde gelişen bozulmuş immün toleransın eşlik ettiği bu hastalıklar Dünya Sağlık Örgütü (WHO) tarafından bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH) içerisinde değerlendirilir (1).

İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH); Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn Hastalığı (CH)'ndan oluşmaktadır. Gastrointestinal sistemde kronik inflamasyona sebep olup, ataklarla seyrederekler (2, 3). İnflamatuvar Barsak Hastalıkları'nın kesin tedavisi henüz bulunamamıştır. Ülseratif Kolit yalnızca kolonda mukozal ve submukozal tutulum yapar. Buna karşın Crohn Hastalığı ağızdan anüse kadar gastrointestinal sistemin her segmentini, tam kat tutabilir. (4)

Barsakların bariyer fonksiyonu vücudun en önemli savunma hatlarından birisini oluşturmaktadır. Barsakların bu bariyer fonksiyonlarında bozulma oluşması İBH ve maligniteler gibi çeşitli hastalılara sebep olmaktadır (5-8).

İnce barsaklar bir yandan sindirim ve emilim fonksiyonlarını üstlenirken, öte yandan patojenler ve zararlı maddelere karşı savunma hattı oluştururlar. Bu anlamda barsakların epitelyal bütünlüğü, barsak lümeni ile dokular arasında temel bir bariyer teşkil eder (9).

Gıda sektöründe ürünlerin paketlenmesi ve saklanması büyük önem arz eder (10). Aralarında plastik, cam, metal, silikon gibi materyaller ile polyethylene terephthalate (PET) ve bisfenoller gibi pek çok kimyasal, gıda paketlenmesinde kullanılmaktadır (11). Bisfenol A (BPA), gıda ambalaj endüstrisi başta olmak üzere pek çok alanda yaygın olarak kullanılan bir endokrin bozucu kimyasaldır. Yapılan çalışmalara göre insan vücudunda da tespit edilmiştir (12, 13). Araştırmacılar endokrin bozucu kimyasalların, İBH gibi bulaşıcı olmayan hastalıklara sebep olduğunu ortaya koymuştur (14, 15).

BPA, polikarbonat plastiklerin, epoksi reçinelerin ve ısıya duyarlı kağıtların üretiminde kullanılmaktadır. Diyet ile alınan BPA'nın ana kaynağı hazır konserveler gibi ambalajlı gıdalardır. Epoksi reçineler, yiyecek ve içeceklerin metal içerikli

ambalajlarında kullanılmaktadır (16, 17). Polikarbonat plastikler, gıda ilişkili paketlemelerde bulunmaktadır. Araştırmacılar BPA'nın gastrointestinal sistem enflamasyonunu artırdığını tespit etmişlerdir (18). Her geçen gün endokrin bozucu kimyasalların İBH gelişmesi riskini arttırdığına dair veriler çoğalmaktadır (19-23). BPA'nın özellikle barsak florasında değişiklik yaparak bu duruma sebep olduğu düşünülmektedir (24).

Barsakların epitelyal bütünlüğü sürekli hücre yenilenmesi ile sağlanır. BPA gibi kimyasallar barsak mukozasında oksidatif strese (25) sebep olmakta, intrasellüler serbest radikallerin birikmesine, epitelyal yenilenmede ve bariyer fonksiyonunda bozulmaya (26), immün sistemi aktive ederek inflamasyona ve bunun sonucunda kolit tablosuna, İBH ve gastrointestinal kanserler gibi pek çok hastalığa zemin oluşturmaktadır (27-29). Bu nedenle barsak epitel bütünlüğünün sağlanması ve intrasellüler redoks dengesinin korunması önem arz etmektedir (30-34). BPA'nın inflamatuvar cevabı tetiklediği, barsak epitel hücrelerinde oksidatif stresi artırdığı ve böylece barsak bariyer fonksiyonunun bozulmasında ciddi bir risk faktörü olduğu çalışmalar sonucunda bildirilmiştir. (8, 35).

BPA'nın oluşturduğu zararlar ortaya çıktıkça, alternatifler üzerine düşünölmeye başlanmıştır (36). Zaman içerisinde çeşitli düzenlemelerle BPA'nın gıda ambalajları başta olmak üzere pek çok alanda kullanımı sınırlandırılmıştır (22, 37). Bu düzenlemelerle birlikte BPA'ya alternatif bisfenol türevlerinin geliştirilmesi hız kazanmıştır (38, 39). Böylece BPA türevlerinin kullanıldığı pek çok ürün *BPA-free* etiketiyle piyasada yaygınlaşmaya başlamıştır. BPA'ya alternatif olarak kullanımına başlanan bisfenol türevleri arasında bisfenol AF, bisfenol AP, bisfenol B, bisfenol F, bisfenol P, bisfenol S (BPS), bisfenol Z, fluorene-9-bisfenol (BHPF) gibi pek çok kimyasal madde söylenebilir (13, 40, 41).

Ancak yakın zamanda kullanımına başlanan BPF ve BPS gibi BPA analogları ile ilgili yeterli çalışma bulunmamaktadır. Özellikle bisfenol türevlerinin gastrointestinal sistem üzerine etkilerine dair daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (22, 32, 42-44).

BPA'nın aksine BPS'ye dair henüz yasal kısıtlamalara gidilmemiştir. Ancak moleküler açıdan BPA'ya benzerliği ve yapılan az sayıda çalışma BPA yerine kullanılan bu bisfenol analogu ile ilgili soru işareti oluşturmaktadır.

Bisfenol türevlerinin insan sağlığı açısından oluşturduğu potansiyel risklerin tespit edilmesi, bir yandan gıda tedarik zinciri ve ambalajlama sistemlerini baştan yenileyecek, bir yandan da İBH gibi immünite ile ilişkili pek çok hastalığa bakış açımızı değiştirecektir.

Çalışmamızda bisfenol türevleri olan bisfenol A ve bisfenol S'nin sıçan kalın barsağı üzerine inflamatuvar etkileri kıyaslanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

2.1. Bulaşıcı olmayan Hastalıklar ve İnflamatuvar Barsak Hastalıkları

Dünya üzerinde kronik bulaşıcı olmayan hastalıkların sayısı gün geçtikçe artmaktadır. Bulaşıcı olmayan hastalıklar (BOH) genellikle süregelen bir inflamasyon zemininde gelişmektedir. Gıda alerjisi ve inflamatuvar barsak hastalıkları (İBH) başta olmak üzere bozulmuş immün tolerans, bu hastalıkların gelişiminde büyük rol almaktadır. Kuzey Amerika ve Avrupa ülkeleri gibi sanayileşmiş ülkelerde toplumun %20'sinden fazlası gıda alerjisi ile baş etmek durumunda kalmaktadır (45, 46). Bunun yanı sıra inflamatuvar barsak hastalıkları insidansında da artış gözlenmektedir. Kolit ilişkili inflamasyon, kolon kanseri gibi pek çok komplikasyonu beraberinde getirmektedir (22). İnflamasyon bozukluklarının eşlik ettiği bulaşıcı olmayan hastalıklar arasında; astım, gıda alerjisi, kalp hastalıkları, inme, kanser, romatolojik hastalıklar, psöriyazis, obezite ve ilişkili metabolik hastalıklar söylenebilir (14, 47). Dünya Sağlık Örgütü'ne göre küresel ölçekte bütün ölümlerin yaklaşık %70'inden bulaşıcı olmayan hastalıklar sorumludur (1).

İnflamatuvar Barsak Hastalıkları (İBH); gastrointestinal sistemde kronik inflamasyona sebep olan, ataklarla seyreden, tekrarlayıcı özelliğe sahip Ülseratif Kolit (ÜK) ve Crohn Hastalığı (CH)'ndan oluşmaktadır (2, 3). İnflamatuvar Barsak Hastalıkları kesin olarak tedavi edecek veya uzun dönem morbiditesi üzerinde önemli etki oluşturacak bir ilaç henüz bulunamamıştır. Ülseratif Kolit yalnızca kolonda mukoza ve submukoza tutulumu yapar. Buna karşın Crohn Hastalığı ağızdan anüse kadar gastrointestinal sistemin her segmentini, tam kat tutabilir. (4)

İBH risk faktörleri arasında; genetik yatkınlık, barsak florasında değişiklik olması, gastrointestinal sistemin bariyer görevinde defekt gelişmesi, mikrobiyal enfeksiyonlara uygunsuz immün yanıt verilmesi sayılabilir. Bu anlamda İBH'nin etiyolojisinde genetik etmenler ile; mikrobiyal ortam ve çevre faktörlerinin etkisinin olduğunu söyleyebiliriz. Son 50 yıl içerisinde başlangıç yaşı gittikçe düşmek üzere İBH insidansında sürekli bir artış görülmektedir (4, 48).

Bu haliyle İBH dünya çapında bir sağlık sorunu haline gelmiştir (49). 2013 senesinde yapılan bir çalışmaya göre Kuzey Amerika'da ve Avrupa'da sırasıyla 1,5 ve 2 milyon İBH hastası mevcut olduğu ifade edilmiştir. (50, 51)

Hastalık Kontrol ve Korunma Merkezi (*The Centers for Disease Control and Prevention*)'nin 2015 verilerine göre ABD'de yaklaşık olarak 3 milyon yetişkin İBH (ÜK veya CH) tanılıdır. İBH insidansında 2030 yılında 4-6 kata varan bir artış beklenmektedir (52). İBH yaygın olarak gelişmiş ve gelişmekte olan ülkelerde görülmektedir (53, 54). Bu durum İBH gelişiminde endüstriyel kirlilik gibi çevresel etmenlerin önemine işaret etmektedir (13, 51, 55-57).

İBH gastrointestinal sistemin uzun süreli inflamasyonla seyreden kronik inflamatuvar bozukluğudur (58). İBH patogenezinde doğal ve adaptif immün cevapta bozukluk yer almaktadır. İnterlökin sekresyonu direkt hücre hasarına neden olmaktadır (13, 59).

Her ne kadar İBH'a yatkınlık genleri (NOD2 gen varyantları gibi) (60, 61) tespit edilmiş olsa da yapılan araştırmalar sigara, oral kontraseptifler, beslenme şekli, apendektomi, antibiyotikler, enfeksiyonlar, özellikle çocukluk döneminde aşırı steril ortam, endüstriyel kirlilik gibi faktörlerin etkisini ortaya koymaktadır (62-64). Bütün bunlara rağmen şimdiye dek İBH'ın etiyolojisi ve patogenezinin kesin olarak belirleyecek veriler elde edilememiştir. Bu nedenle bu alanda ek çalışmalar yapılmasına ihtiyaç duyulmaktadır. İBH patogenezinde, genetik yatkınlığı olan konak ile çevresel faktörler arasındaki etkileşimin normal barsak florasını etkilediği ve bu antijen-antikor reaksiyonunun uygunsuz mukozal immün yanıtı tetiklediği düşünülmektedir (4).

İBH için bildirilen en yüksek prevalans değerleri Avrupa (ÜK Norveç'te 505/100 000, CH Almanya'da 322/100 000) ve Kuzey Amerika'ya (ÜK ABD'de 286/100 000, CH Kanada'da 319/100 000) aittir. Böylece Kuzey Amerika ve Avrupa'da İBH prevalansı %0,3'ü aşmıştır (51).

ÜK için en yüksek yıllık insidans değeri 24,3/100 000 ile Avrupa'dadır. Bunu 19,2/100 000 ile Kuzey Amerika takip etmektedir. Asya ve Orta Doğu için yıllık ÜK insidansı ise 6,3/100 000'dir. CH için bildirilen en yüksek yıllık insidans değeri 20,2/100 000 ile Kuzey Amerika'ya aittir. Bunu 12,7/100 000 ile Avrupa takip etmektedir. Asya ve

Orta Doğu için ise 5/100 000'dir. İBH için bildirilen en yüksek prevalans değerleri Avrupa (ÜK için 505/100 000, CH için 322/100 000) ve Kuzey Amerika (ÜK 249/100 000, CH 319/100 000)'ya aittir (4).

1998 Mart Ayı ile 2002 Mart Ayı arası Türkiye'nin Trakya bölgesi ÜK insidansı 0,59-0,89/100 000, ÜK prevalansı ise 4,5/100 000 olarak bildirilmiştir (65).

Tozun ve arkadaşlarının yaptığı çok merkezli çalışmada ise ÜK insidansı 4,4/100 000, CH insidansı ise 2,2/100 000 bulunmuştur (66).

ÇAKIR yaptığı çalışmada ÜK insidansını 3,67/100 000, CH insidansını 7,34/100 000, ÜK prevalansını 17,6/100 000, CH prevalansını ise 16/100 000 olarak bildirmiştir (67).

2.2. Bisfenol ve Türevleri

Yiyecek ve içeceklerin paketlenip saklanması modern gıda temin zincirinin önemli bir parçasını teşkil etmektedir (10). Aralarında plastik, cam, metal, silikon ve polyethylene terephthalate (PET) ve bisfenollerin bulunduğu pek çok materyal çeşidi gıda paketlenmesinde kullanılmaktadır (11). Bisfenol A (BPA), gıda ambalaj endüstrisi başta olmak üzere pek çok alanda yaygın olarak kullanılan bir kimyasaldır. Yapılan çalışmalara göre insan vücudunda da tespit edilmiştir (12, 13). Araştırmacılar endokrin bozucu kimyasalların, bulaşıcı olmayan hastalıklara sebep olduğunu ortaya koymuştur (14, 15).

En yaygın bulunan endokrin bozucu kimyasallardan olan BPA (2,2-bis(4-hydroxyphenyl) propane) (68), zayıf östrojenik etki gösteren sentetik bir moleküldür (69, 70). BPA, diğer plastikler için polimer olmayan bir katkı maddesidir (71-73). BPA, polikarbonat plastiklerin ve epoksi reçinelerin (ör. metal gıda ambalajlarının iç yüzlerinin kaplamaları) üretiminde yaygın bir şekilde kullanılır (74). Kullanıldığı ürünler arasında plastik bardaklar, tabaklar, oyuncaklar, kağıt havlular, su şişeleri (11, 75), biberonlar (73, 76), ısıya duyarlı kağıtlar (42), medikal aletler, dental kompozitler (22, 77), dental dolgu malzemeleri (78-80), pek çok elektronik ürün (36, 81) başta olmak üzere pek çok mamul sayılabilir. Gerek dünya çapında kullanımı gerekse kullanıldığı alanların yaygınlığı BPA'yı çok önemli bir çevre kirletici yapmaktadır (82-84). BPA kolaylıkla yiyecek ve içeceklere sızar, bu ürünlerin tüketimiyle birlikte

vücuda alınır (8, 32, 85-89). Diyet ile ve diğer yollarla vücuda alınan BPA, kan ve idrar örneklerinde litre başına pikomolden mikromole varıncaya dek değişen konsantrasyonlarda tespit edilebilir (90-93). Her gün kullanılan pek çok üründe bulunduğu değerlendirildiğinde, BPA maruziyetinden kaçınmanın hemen hemen imkansız hale geldiği söylenebilir (42, 94).

BPA'nın insanlar ve hayvanlar üzerine olan zararlı etkileri yaygın bir şekilde bildirilmiştir (73, 95-97). Bisfenol'e maruziyet genelde diyet yoluyla olmaktadır (98). BPA, çeşitli nükleer reseptör ilişkili yollar aracılığıyla pek çok olumsuz etkiye sebep olabilir (99-101). Bu nükleer reseptörler arasında östrojen reseptörü (ER), androjen reseptörü (AR), tiroid hormon reseptörü (TR) sayılabilir. BPA'nın genomik olmayan yollar aracılığıyla etkisini gösterdiği bildirilmiştir (102, 103).

Düşük doz BPA'nın pek çok hastalık ile olan ilişkisi araştırmalarla ortaya konmuştur. BPA'nın insanlarda; gelişimsel ve metabolik (104) zararları ile üreme sistemi (105-107), kardiyovasküler sistem (104), bağışıklık sistemi, sinir sistemi (32) üzerine olan olumsuz etkileri kanıtlanmıştır. Karaciğer hasarı yaptığı (108, 109), hatta karsinojenik olduğu pek çok çalışmada belirtilmiştir (11, 32, 68, 110, 111). BPA'nın meme, pankreas ve kolorektal kanser hücrelerinin büyümesini artırdığı bulunmuştur (112). Yapılan çalışmalarda BPA'nın Alkolik Olmayan Yağlı Karaciğer Hastalığı (113), hipertansiyon, obezite (42, 114, 115), diabetes mellitus (DM) (116, 117), tiroid fonksiyon bozukluğu riskini artırdığı tespit edilmiştir (118). BPA, sperm üretiminde azalmaya neden olmaktadır (119). BPA plasentayı geçip, embriyo gelişiminde bozukluğa (120), kromozomal hasarlara, abortus ve doğum anomalilerine yol açabilir (121, 122). Yakın zamanda yapılmış çalışmalar, özellikle hamilelik ve emzirme döneminde endokrin bozucu kimyasallara maruziyetin daha zararlı olduğunu (36, 123); ve immün sistem gelişiminin olumsuz etkilendiğinin altını çizmektedir (42, 97). BPA'nın gastrointestinal sistem üzerine olumsuz etkileri olduğu tespit edilmiştir. Ancak gastrointestinal sistem gelişimi üzerine olan etkisi ile ilgili daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (93).

Barsak florasının insan sağlığı açısından kritik önemi yapılan çalışmalarca gösterilmiştir (124). Gıda yoluyla maruz kaldığımız kimyasallar barsak floramızda bulunan trilyonlarca mikroorganizmanın yapısını ve aktivitesini değiştirmektedir (89,

125, 126). Böylece immün dengemiz bozulmaktadır (13, 114, 127, 128). Besinlerinde BPA bulunan farede barsak florasındaki mikroorganizma çeşitliliğinin azaldığı ve değişime uğradığı tespit edilmiştir (89).

Gastrointestinal sistem dışarıdan gelen zararlı maddelere karşı vücudun savunma hattını oluşturmaktadır (32). BPA maruziyeti barsak hasarına, barsak epitel hücrelerinde mitokondriyal hasarın eşlik ettiği proliferasyon inhibisyonuna ve apoptozis aktivasyonuna neden olmaktadır. Bu durum barsak bariyer fonksiyonunda bozulmayı beraberinde getirmektedir (129, 130). BPA, barsak sıkı bağlantı proteinlerinin (zona occludens-1 ve occludin) azalmasına sebep olmakta, böylece barsak geçirgenliğini artırmakta ve endotoksin seviyelerini yükseltmektedir (89).

Sıçanlarda perinatal dönemde BPA maruziyetinin barsak immüncesinin homeostasisini bozduğu (128) ve erişkin dönemde pro-inflamatuar patolojilere risk teşkil ettiği tespit edilmiştir (131). Endokrin Bozucu Kimyasallar barsak immüncesini bozmaktadır. İmmün cevabı baskılayarak enfeksiyonlara veya immün cevabı aşırı hale getirerek gıda alerjisi (131, 132) ve İBH gibi bulaşıcı olmayan hastalıklara yatkınlığı artırabilmektedir (19-21, 24, 82, 133-135). Araştırmacılar BPA'nın barsak florasında bozulma (136) ile kronik enflamasyonu artırdığı (42) ve kolit tablosuna yol açtığını belirtmişlerdir (8, 12, 137). Sıçanlarda yapılan bir çalışmada BPA ile bozulmuş immün yanıtın barsaklarda parazit enfeksiyonlarını arttırdığı tespit edilmiştir (138). Ancak ne yazık ki literatürde BPA'nın gastrointestinal sistem üzerine etkileri açısından sınırlı sayıda araştırma mevcuttur.

Yapılan araştırmalarda BPA'nın kan-beyin bariyerini geçtiği kanıtlanmıştır (139). Farelerde yapılan çalışmalarda düşük doz BPA ile kronik maruziyetin beyin hücrelerinde DNA hasarına sebep olduğu ve böylece öğrenme ve hafıza yeteneklerinde bozukluklara yol açtığı (80, 140) tespit edilmiştir. Ayrıca BPA maruziyeti ile davranış değişikliklerini ilişkilendiren çalışmalar mevcuttur (141, 142).

1980'li yıllarda Amerika Birleşik Devletleri Çevre Koruma Ajansı (EPA) BPA referans dozu olarak 50 µg/kg/gün'ü belirlemiştir (143). BPA ve istenmeyen etkileri ile ilgili yeni bir risk değerlendirme yapılması ihtiyacı sonucunda Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA), tolere edilebilen günlük alım miktarını (TDI) 50 µg/kg/gün'den 4 µg/kg/gün'e düşürmüştür (98). Ancak BPA maruziyetinin tolere edilebilen günlük

alım miktarının altında olmasına rağmen; üremeye dair, gelişimsel, immün ve metabolik fonksiyonları olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (89, 106, 144). 2023 senesinde EFSA, BPA ile ilgili tabloyu tekrar gözden geçirerek tolere edilebilen günlük alım miktarını 0,2 ng/kg/gün olarak güncellemiştir (145). BPA, 2017 senesinde Avrupa Kimyasal Ajansı (ECHA) tarafından “çok yüksek seviyede endişelendiren maddeler” arasında listelenmiştir. Bütün bu zararlı etkiler nedeniyle 2011 yılında Kanada, ABD, Avrupa Birliği ve Çin BPA’nın bebek ürünlerinde kullanımını yasaklamıştır (11, 69, 80, 146). BPA’nın hayatın her alanında yaygın olarak kullanılması ile gün geçtikçe maruziyetinin artması, insan sağlığı üzerine olan olumsuz etkileri üzerinde daha fazla düşünülmesine sebep olmuştur (73).

BPA’nın yarı ömrü yaklaşık 6 saattir. BPA idrarda konjuge formda atılır. Bu konjuge formları BPA-glukuronid ve BPA-sülfat’tır (147). BPA’nın vücuttan ana atılımı feçes ileidir. Bunun yanında idrar yoluyla da atılır (148).

BPA’nın insan sağlığı üzerine oluşturduğu riskler, BPA maruziyetini azaltacak stratejiler geliştirmeye yol açmıştır (36). Yakın zamanda getirilen düzenlemelerle birlikte BPA’nın gıda ile temas eden materyallerde daha fazla kullanımının önüne geçilmiştir (22, 37). Güncel düzenlemeler ışığında gıda ambalaj şirketleri BPA’nın kullanımını azaltacak ve sonlandıracak alternatifler üzerinde araştırma yapmaktadır (38, 39). Bu durumun neticesinde BPA analoglarının kullanıldığı pek çok ürün *BPA-free* etiketiyle piyasada yaygınlaşmaya başlamıştır.

BPA’ya alternatif olarak kullanımına başlanan bisfenol türevleri arasında bisfenol AF, bisfenol AP, bisfenol B, bisfenol F, bisfenol P, bisfenol S, bisfenol Z, fluorene-9-bisfenol (BHPF) gibi pek çok kimyasal madde sayılabilir (13, 40, 41). 2017 yılında küresel çapta üretilen ve kullanılan BPA miktarı 7.1 milyon tonu geçmiştir. Yıllık % 4.6 oranı ile bu miktarın artışı beklenmektedir (149, 150). Bu nedenle BPA’nın zararlı etkilerinin yakından takip edilmesi sürdürülmelidir (80).

BHPF’nin anti-östrojenik etki ile gebelik komplikasyonlarına sebep olduğu bildirilmiştir (151). Ayrıca farelerde yapılan çalışmalar BHPF’nin over ve karaciğer üzerindeki zararlı etkisini ortaya koymuştur (13, 152, 153)

Bisfenol F (BPF) ve Bisfenol S (BPS) gibi bazı BPA analogları, kısa bir karbon zinciri ile birbirinden ayrılmış iki benzen halkasından oluşan temel bisfenol yapısını muhafaza etmektedir. Bu durum BPA alternatiflerinin sağlık açısından güvenli olup olmadığının sorgulanmasına yol açmaktadır (38).

BPS, BPA'dan daha fazla ısıya dirençli (154) ve fotorezistan özellik göstermektedir. Polikarbonat ve epoksi reçinelerin (155), endüstriyel ve tüketiciye yönelik ürünlerin (156) üretiminde BPA'nın yerine kullanılmaktadır (43, 157). Henüz BPS'i kısıtlayan çok fazla düzenleme bulunmamaktadır (157-159). Avrupa'da yıllık BPS üretimi 1000 ile 10 000 ton arasında değişmektedir ve bu miktar sürekli artış göstermektedir (160). BPA'nın aksine BPS henüz ECHA tarafından toksik etkileri ile ilgili sınıflandırılmamıştır. Avrupa Birliği'nde üreme sağlığına olan toksik etkileri açısından BPS'nin sınıflandırılması Kasım 2023'te başlayacaktır. BPAF'nin toksisite sınıflandırılması ise Avrupa Birliği komisyonunda karar aşamasındadır (161).

Her ne kadar molekül büyüklüğü ve yapısı BPA ile benzer olsa da BPS, nükleer östrojen reseptör (ER) a ve b'ye daha az afinite sergilemektedir (162, 163). Ancak membran östrojen reseptörüne bağlanabilmektedir (164). BPS plasentayı geçip fetal gelişim açısından risk teşkil etmektedir (120, 165, 166). Son yıllarda fetal ve neonatal dönemdeki risklerini azaltmak amacıyla BPA kullanımına pek çok kısıtlama getirildiği düşünülecek olursa; BPS'nin olası risklerinin alternatif olarak kullanılmasını sorgulatacağı düşünülmektedir. BPS'nin olası zararları ile ilgili yeterli çalışma henüz mevcut değildir (42).

BPS, vücutta metabolize olması sonrası idrarda %81-84 oranında konjuge formlarında atılır. Bu konjuge formunun ise %83'ünü BPS-glukuronid, %16'sını ise BPS-sülfat oluşturur. Yapılan çalışmalarda BPS'nin biyo-yıkımının BPA'ya göre daha düşük olduğu tespit edilmiştir. BPS'nin konjuge formları çok hidrofiliktir ve yarı ömrü 12 saatten daha düşüktür. Hızlıca idrarla atılırlar. BPS'nin vücuttan ana atılımı idrar ile olmaktadır. Konjuge BPS vücutta en fazla barsaklarda birikir. Bu durum barsak flora bakterlerinin serbest BPS'i konjuge formlarına çevirecek pek çok enzime sahip olmaları ile açıklanmaktadır. Hem BPA hem BPS için barsaklar, başlıca metabolize oldukları alandır (148).

Diğer BPA analogu olan BPF, kalın bir tabaka oluşturmaya ve dayanıklılığı nedeniyle epoksi reçine üretimi ve kaplamalarda kullanılmaktadır (167). BPF epoksi reçineleri vernik, cila, kaplama, yapıştırıcı, su tesisatı, diş dolguları ve gıda paketlenmesi gibi pek çok alanda kullanılmaktadır (168). BPF, BPA ile kıyaslanabilir ölçüde östrojenik ve anti-androjenik aktivite sergilemektedir (169).

Bahsedilen Bisfenol çeşitleri kolayca çevreye yayılmaktadır. İnsanlar özellikle yiyecekler ve içecekler aracılığıyla bu kimyasallara maruz kalmaktadır (170). ABD’de yiyeceklerde yapılan bir çalışmada test edilen numunelerin %75’inde BPA, BPF ve BPS gibi bisfenol çeşitlerine rastlanmıştır (39).

BPA’ya göre kullanımı daha yeni olan analoglar üzerinde daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır(22, 43, 44).

2.3. Kalın Barsak Anatomisi ve Embriyolojisi

Erişkin bir insanda kalın barsağın toplam uzunluğu ortalama 1300 mm’dir (1100-2108 mm). Barsak gelişimi doğum sonrası 4-5 yaşına kadar devam eder. Kalın barsak toplam uzunluğu gebeliğin 14. haftasında 80 mm iken 23. haftada 250 mm ve 40. haftada 327 mm’ye ulaşır. Fetal dönemde 10. haftadan 40. haftaya kadar kalın barsak çapı 0,75 mm’den 15.44 mm’ye ulaşır. Oransal olarak transverse kolon ve sigmoid kolon kalın barsağın en uzun bölümleridir (Sırasıyla %30 ve %27). Diğer daha küçük bölümlerden olan çekum %3, çıkan kolon %12, inen kolon %14, rektum %14 ve son olarak anal kanal kalın barsağın yaklaşık %3’ünü teşkil eder. Gelişimi esnasında kalın barsak batın sağ alt kadranda yükselmeye başlar, bütün batın boşluğunu kat ettikten sonra son olarak anüse inişini gerçekleştirir. Sağ ve sol kolik fleksuralar transverse ile, çıkan kolon ve inen kolon arasında bulunan bükülme bölgeleridir.

Yapılan araştırmalara göre postnatal 6. Aya kadar kalın barsak uzunluğu 568 ± 27 mm’ye ulaşır. 49-60 aylar arası bu uzunluk 1224 ± 57 mm’yi bulur. Bu dönemde kalın barsak uzunluğunda artışın vücut uzunluğu ile doğru orantılı olduğu gösterilmiştir. 5 yaş sonrası kalın barsaktaki hızlı uzama son bulur ve erişkin kalın barsak uzunluğuna benzer bir hal alır (171).

Kalın barsak 3 germ tabakası olan endoderm, mesoderm ve ektoderm'den gelişmiştir. Bu germ tabakaları sırasıyla epitel tabakası; düz kas tabakası, bağ dokusu ile kan damarları ve enterik sinir sistemini oluşturmuşlardır.

Anterior intestinal portal (AIP) ve caudal/posterior intestinal portal (CIP) katlantılarının gelişip kapanmaları ile primordial barsak oluşur. Bu gelişim süreci preanatal 4. haftadan sonra barsak taslağında ön barsak (*foregut*), orta barsak (*midgut*), son barsak (*hindgut*)'ın görülmesine yol açar. Kalın barsak, orta barsak ve son barsaktan gelişmiştir.

Barsak epiteli devamlı gelişimini sürdürmektedir. Bu devamlı gelişimini barsak kriptlerinin tabanında bulunan öncül (*progenitor*) kök hücreler sağlamaktadır.

Tablo 2.1. Barsak gelişimi sırasında gerçekleşen başlıca embriyolojik aşamalar (172)

Embriyonik Hafta	Gelişim Evresi
3. hafta	– Gastrulasyon – Primordial Barsak oluşumu
4. hafta	– Ön barsak, orta barsak, son barsağın ayırt edilebilir olması
6. hafta	– Barsak lümeninin kaybolması
7. hafta	– Omfaloenterik kanalın kaybolması
8. hafta	– Barsak tüpünün tekrar kanalize olması – Umbilikal kord içerisindeki orta barsak halkasının saat yönünün tersine 90° dönmesi
9. hafta	– Villus yapısının oluşmaya başlaması

10. hafta	– Orta barsağın saat yönünde 180° dönerek karın boşluğuna dönmesi
11. hafta	– Sirküler ve longitudinal düz kas tabakalarının oluşması
12. hafta	– Kript yapısının oluşması
14. hafta	– Mukozada kas tabakasının oluşması (muscularis mucosa)
24. hafta	– Barsağın emilim fonksiyonu kazanması
32. hafta	– Erişkin seviyesinde emilim kabiliyeti kazanılması

Prenatal 9. Haftada orta ve son barsaktaki çok katlı kübik epitel yerini tek katlı kolumnar epitele bırakmaya başlar. 10. Haftada villus benzeri yapılar ortaya çıkar. 11-12. haftalarda epitelyal hücrelerin farklılaşmasıyla goblet hücreleri ilk defa görünür (Tablo 2.1) (172).

Sıçanlar ile insanların sindirim sistemi anatomileri genel olarak birbirine benzerdir. Her ne kadar organ büyüklükleri arasındaki fark çok olsa da, sıçanların anatomik açıdan küçük olmaları deneysel çalışmalarda avantaj sağlamaktadır.

İnsanların aksine sıçanlarda sigmoid kolon bulunmamaktadır, çekumları görece sivri uçlu büyük bir boru şeklindedir. Özellikle oransal olarak insan çekumuna göre sıçan çekumunun büyük olması dikkat çekicidir. Ayrıca sıçanlarda solucansı (*vermiform*) appendiks bulunmamaktadır. Bahsedilen anatomik farklılıklara rağmen histolojik yapılarının benzerliği dikkat çekicidir (173).

2.4. Kalın Barsak Histolojisi

Kolon mukozası tek katlı kolumnar epitel ile döşelidir. Bu tek katlı kolumnar epitel hem lümene bakan yüzeyi hem de kriptlerin üzerini örter. Epitel tabakasının altında lamina propriya ve muskularis mukoza adı verilen ince bir kas tabakası bulunur. Mukoza tabakasında bulunan intestinal glandlar, bir diğer deyişle Lieberkühn kriptaları tübüler bir yapıya sahiptirler ve lümene açılırlar. Normal şartlarda bütün kolon mukozasında bulunan kriptler lenfoid agregasyonların olduğu alanlarda bulunmazlar.

Kolonun tek katlı kolumnar epiteli vücut ile luminal çevre arasında bariyer fonksiyonu görür. Bu epitel tabakası, emilim yapan (*absorptif*) hücreler ile goblet hücreleri barındırır. Emilim yapan hücreler kolondaki iyon ve su transferinden sorumludurlar. Goblet hücreleri müköz granülleri sentezler, depolar ve sekrete eder. Rutin Hematoksilen - Eosin boyamada (H-E) müköz granüller nedeniyle goblet hücreleri sitoplazmaları boşmuşçasına bir görüntüye sahiptir.

Kriptlerin intestinal gland olarak bulunmalarının yanı sıra bir diğer önemli görevleri de yüzey epitelini yenilemektir. Kript tabanında bulunan proliferatif kök hücrelerin varlığı bu fonksiyonu sağlar (174).

Mukoza epitel tabakasının altında lamina propriya ile devam eder. Gevşek bağ dokusu özelliği taşıyan bu tabakada bol miktarda kollajen bulunur. Lamina propriya, bağışıklık sisteminin koruyuculuğuna dair önemli görevler üstlenir.

Mukoza içerisinde lamina propriyanın derininde muskularis mukoza tabakası bulunur. Burada bulunan düz kas hücrelerinin kasılıp gevşemesi, mukozanın emilim ve sekresyon görevlerini yapmasına katkı sağlar.

Mukoza tabakasının derininde bulunan submukoza sıkı bağ dokusu yapısına sahiptir. Burada bulunan enterik sinir sistemi hücreleri Submukozal Meissner Pleksusu'nu oluşturur. Bunun yanında submukozada arteriyol, venül ve lenfatik damarlar da gözlenir.

Muskularis eksterna tabakası submukoza tabakasının derininde yer alan esas kas tabakasıdır. İçte sirküler dışta longitudinal düz kas hücreleri içerir. Bunun yanı sıra burada bulunan Auerbach Pleksusu enterik sinir sisteminin bir parçasıdır.

Kolonun intraperitoneal olarak bulunan alanlarında serosa tabakası, periton dışında diğer yapılara tutunduğu bölümlerinde ise adventisya tabakası muskularis eksterna tabakasını sarar. Serosa, mesotel adı verilen tek katlı kübik epitel ile hemen altında yer alan bağ dokusundan oluşur. Adventisya denildiğinde ise yalnızca bağ dokusu yapısından söz edilir (175).

2.5. İnflamasyon ve İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu

Lokal bağışıklık sistemleri değişen çevre şartlarına uyum sağlamak zorundadır. Sindirim sistemi çevresel değişikliğin en fazla arttığı bölgelerden biridir. Gastrointestinal sistemde immün savunma genelde mukozada gerçekleşir. Lamina propria doğal ve kazanılmış bağışıklık sistemine dair pek çok hücre içerir. Epitel tabakasında pek çok lenfosit bulunur. Her ne kadar ince bir basement membran ile birbirlerinden ayrılırlar da lamina propria ve epitel tabakası iki farklı immün ortam oluşturur. Bunun yanı sıra sindirim sistemi boyunca bu ortamları da değişiklik gösterir. Kalın barsağın bakteriyal flora açısından büyük bir zenginliğe sahip olması bağışıklık sisteminin sağlığı açısından önem arz eder. Mukus üreten goblet hücreleri kalın barsakta fazladır. Distal kolon seviyesinde goblet hücreleri epitelyal hücrelerin % 25'ini oluşturur. Bu oran ince barsaklarda % 10 kadardır. Bunun yanı sıra glikokaliks olarak adlandırılan mukus tabakası da kalın barsakta en fazladır. Kalın barsaktaki mukus tabakası kendi içerisinde 2 farklı tabakaya ayrılır: içte, barsak yüzeyine yapışık daha yoğun mukus tabakası ile, dışta daha gevşek mukus tabakası. Dıştaki daha gevşek mukus tabakası ince barsaklarda bulunan mukus tabakasına benzer. Sağlıklı bir bireyin kalın barsağında bakteriler dış mukus tabakasında bulunurlar, iç mukus tabakasına ulaşamazlar. Mukus üretimi lökotrienler, interferon- γ (IFN γ), interlökin-9 (IL-9) ve IL-13 tarafından kontrol edilir. Mukus fiziki bir bariyer görevi görmesinin yanı sıra içerisinde bulunan müsin glikoproteinleri aracılığıyla bakterilere direkt toksik etki eder. Mukus sentezinde sorun olması, flora bakterilerinin epitelyal yüzeye temas etmesi ile inflamasyona sebep olup kolit ve kansere yatkınlığı artırmaktadır. Bariyer ve absorptif fonksiyonlarına ilave olarak epitelyal hücreler, örnek tanımlama reseptörleri (*pattern recognition receptor*) (PRR) ile aktive olarak ürettikleri mediatörler ile bağışıklık sistemi hücrelerini harekete geçirirler. Örneğin *toll-like receptor-2* (TLR2) en fazla proksimal kolonun epitelyal hücreleri tarafından eksprese edilir. TLR4 ve CD14 ince barsağa kıyasla kalın barsakta daha fazla eksprese edilir.

Barsaklarda *gut-associated lymphoid tissue* (GALT) ile drene olduğu lenf nodları, kazanılmış immün yanıtın temel bölgelerini teşkil eder. Bunun yanında efektör bağışıklık sistemi hücreleri epitel tabakası ve lamina propriada diffüz olarak yayılmış olarak bulunur. GALT, mukosa ve submukosada bulunan subepitelyal lenfoid agregatları içerir. Bu agregatlar, folikül ilişkili epitel tarafından örtülmüştür. Bu lenfoid alanlar kalın barsakta kolon plakları (*colonic patches*) olarak adlandırılmıştır. Bu lenfoid bölgelerin gelişimi intrauterin hayatta başlayıp doğum sonrası tamamlanır. Yapılan araştırmalar farklı bölgelerdeki lenfoid bölgelerin gelişim hızlarının da farklı olduğunu göstermiştir. GALT tekli izole lenfoid dokular (*solitary isolated lymphoid tissues*) (SILT) denen küçük lenfoid agregatları da içerir. Tekli izole lenfoid dokular, başlangıçta kript plakları (*cryptopatches*) halindeyken olgunlaşıp izole lenfoid foliküller (ILF)'e dönüşürler. ILF'ler daha artan bakteri yükü nedeniyle daha fazla ileum ve kolonda bulunmaktadır. Farelerde yapılan araştırmalarda kript plaklarının postnatal ilk 2 haftada geliştiği tespit edilmiştir. İnsanlarda kript plaklar henüz gösterilememiştir. Bu alanda daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Barsakların lenfatik drenajını sağlayan lenf nodları vücudun en büyük lenf nodlarıdır. Bu durum barsakların çevresel etkiye sürekli maruz kaldığının bir göstergesidir.

Lamina propriya ve epitel sahip oldukları bağışıklık hücreleri açısından farklılık arz etmektedir. Lamina propriya B ve T lenfositler ile dentritik hücreler, makrofajlar, eozinofiller ve mast hücreleri gibi doğal bağışıklık elemanlarına sahiptir. Buna karşın epitel tabakası yalnızca T lenfositlere ev sahipliği yapar. Lamina propriya ve epitel tabakası birlikte, vücudun en fazla sayıda T lenfosit, plasma hücresi ve makrofajlarını bulundurur. Ancak barsak segmentleri içerisinde hücre dağılımlarının değiştiği unutulmamalıdır.

İntraepitelyal lenfositler (IEL) enterositler arasında 100 epitel hücresine karşılık 10-15 T lenfosit olacak şekilde bulunurlar. İleum ve kolon $\alpha\beta\text{TCR}^+\text{CD4}^-\text{CD8}^-$ intraepitelyal lenfositlerini fazlaca bulundurur.

Lamina propriada CD4^+ ve CD8^+ T lenfositleri 2/1 oranında bulunur. Lamina propriada bulunan CD4^+ T lenfositleri çok çeşitli alt kümelere sahiptir. IL-2^+ , IL-2^+ , $\text{IFN}\gamma^+$, $\text{IFN}\gamma^+$ ve IL-17^+ IL-10 üreten FOXP3^+ regülatör T (T_{reg}) ve FOXP3^- T_{reg} hücreleri bunlar arasında sayılabilir. T helper 17 (T_{H17}) ve T_{reg} hücrelerinin dağılımı

arasında ters orantı vardır. T_H17 hücrelerinin sayısı duodenumdan kolona doğru gittikçe azalırken, T_{reg} hücreleri en fazla kolonda bulunur. Her ne kadar barsak mukozası boyunca IL-10 üreten $CD4^+$ T hücrelerine rastlansa da en fazla kolonda bulunur. Kolondaki IL-10 üreten bu $CD4^+$ T hücrelerinin çoğunluğunu ise $FOXP3^+$ T_{reg} hücreler oluşturmaktadır. Öte yandan IL-17 üreten $CD4^+$ T hücrelerinin de çoğu ileum ve kolonda lamina propriasında bulunur.

Normal barsak lamina propriasında pek çok plasma hücresi yer almaktadır. Özellikle distal kolonda bu plasma hücrelerinin yoğunluğu artar. Bu plasma hücrelerinin çoğunluğu IgA üretir. Bahsedilen plasma hücreleri duodenum ve jejunumda IgA1 üretirken, kolonda IgA2 üretir. Bu durum ince ve kalın barsaklardaki B lenfosit olgunlaşmalarının da farklı olduğunu göstermektedir.

Mononükleer fagositer sistem makrofajlar ve dendritik hücrelerden oluşmaktadır. İkisi de antijenlerin alımı ve sunumunda görev alır. Sağlıklı barsak lamina propriasında en fazla bulunan lökosit çeşidi makrofajlardır. Fagositozla mikroorganizmaları ve ölü hücreleri yıkmasının yanı sıra epitelyal hücre yenilenmesini artıran mediatörleri de üretir. Ürettiği IL-10 ile TLR ligand gibi uyarılara inflamatuvar cevabı engellediği gibi mukozadaki $FOXP3^+$ T_{reg} hücrelerinin hayatta kalmasını ve aktivitesini artırır. IL-10 reseptör sinyal yolağı *knock-out* olan farelerde kolit gelişimi gözlenmiştir. Barsak makrofajları; F4/80 (EMR4), CD68 (macrosialin) ve CD163 marker'larına sahiptir. Hem ince barsak hem kalın barsakta bulunan makrofajlar MHC-2, CD163 eksprese ederler. Ancak kalın barsak makrofajları asit fosfataz, non-spesifik esteraz, CD40, CCR5 ve formil peptit reseptörüne daha fazla sahiptir.

Barsak dendritik hücreleri, $CD11c^+$, $MHC-2^+$, $CD64^-$, $F4/80^-$ özellik sergilerler. $CD103$ ve $CD11b$ eksprese edip etmemelerine göre sınıflandırılırlar. $CD103^+CD11b^-$ dendritik hücreler kolonda en fazla bulunan alt tipidir.

Eosinofiller de barsak immünitesinde görev alır. CCR3 ve Siglec-F eksprese ederler. Barsakta doku yenilenmesinde görev aldıkları düşünülmektedir.

Sağlıklı sindirim sisteminde mast hücreleri genellikle lamina propria ve submukozada bulunur. Epitelyal bariyerin bütünlüğü ile peristaltizmi düzenleyen mediatörler üretir.

CCR10 ve ligandı CCL822 kolona IgA⁺ plasmablastların yerleşmesinde yer alır. G protein-coupled reseptör 15 (GPR15) kolonda T lenfosit homeostasisini düzenler (174).



3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Araştırma Yöntemi:

Hayvanlar her grupta 8 sıçan olacak şekilde 6 gruba ayrılmıştır.

Grup 1: Negatif Kontrol Grubu: Yalnızca *ad libitum* su ve yem verilmiştir.

Grup 2: Taşıyıcı kontrol grubu: %0,1 ethanol mısırözü yağı içerisinde 21 gün oral gavaj yolu ile verilmiştir. (22, 36)

Grup 3: Bisfenol A (BPA) grubu: 0,5 µg/kg/gün BPA (HPC, Ürün Kodu: 674645), oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde 21 gün oral gavaj yolu ile verilmiştir. (22, 36)

Grup 4: Bisfenol A (BPA) grubu: 5 µg/kg/gün BPA (HPC, Ürün Kodu: 674645), oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde 21 gün oral gavaj yolu ile verilmiştir. (22, 36)

Grup 5: Bisfenol S (BPS) grubu: 0,5 µg/kg/gün BPS (ALFA AESAR, Ürün Kodu: A17342.30), oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde 21 gün oral gavaj yolu ile verilmiştir. (22, 36)

Grup 6: Bisfenol S (BPS) grubu: 5 µg/kg/gün BPS (ALFA AESAR, Ürün Kodu: A17342.30), oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde 21 gün oral gavaj yolu ile verilmiştir. (22, 36)

3.2. Kan ve Doku Örneklerinin Alınması

Deneyin sonunda sıçanlar 90 mg/kg ketamin / 10 mg/kg ksilazin anestezi ile sakrifiye edilerek, vena cava inferior'larından 5 ml kan alındıktan sonra kalın barsak dokuları çıkarılmıştır. Alınan dokular %10 tamponlanmış formaldehit içerisinde fikse edilip oda ısısında muhafaza edilmiştir. Alınan kan 10 ml'lik sarı kapaklı jelli biyokimya tüplerine konulmuştur. Sonrasında 5000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek serum kısımları mikropipet tüplerine aktarılmıştır. Ölçüm yapılana kadar serumlar -80 °C' de muhafaza edilmiştir. Serum örneklerinde total kolesterol değerleri Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında Beckman Coulter

AU5800 biyokimya otoanalizatöründe, sıçana uyumlu kitler kullanılarak ölçülmüştür. (153).

3.3. İdrar Örneklerinin LC-MS/MS ile Kantitatif Analizi

Sıçan idrar numuneleri 21 günlük Bisfenol analogları maruziyeti sonrası denek mesanelerinden alındı. Sıçan idrarında BPA ve BPS düzeylerinin analizi proje kapsamında hizmet alımı sağlanan bir analiz laboratuvarında gerçekleştirilmiştir. BPA ve BPS ölçümü için sıvı kromatografi-kütle spektrometre cihazı (LC-MS/MS) kullanılmıştır. Kullanılan LC-MS/MS cihazı Agilent marka 6470 modelidir.

3.4. Jasem Glukuronidaz Enziminin Hazırlanması

BPA ve BPS'nin idrardaki konjuge formlarını serbest hale getirmek için glukuronidaz enzimi kullanıldı (147, 148).

2 mg jasem glukuronidaz enzimi tartıldı ve 1ml Jasem buffer reaktifi ile çözüldü. Çalışma yapılacak numune sayısına bağlı olarak çalışma öncesinde taze olarak hazırlandı.

3.5. Kalibratör Seviyelerinin Hazırlanması

BPA kalibrasyonu yapmak için hazırlanan standart konsantrasyonları; BPA için 0.5, 1, 2, 5, 10, 50, 100 ng/mL metanol içerisinde olmak üzere, her bir kalibratör seviyesinden HPLC viali içerisine 200 µL alındı. Üzerine sırasıyla 25 µL internal standard, 50 µL Jasem buffer reaktifi ve 250 µL Jasem reaktif-1 eklenip 5 sn karıştırıldı. Daha sonra LC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

3.6. İdrar Numune Hazırlığı

Kapaklı cam santrifüj tüpü içerisine 200 µL idrar numunesi alındı. Üzerine 25 µL internal standard ve 50 µL Jasem glukuronidaz enzimi eklenip 5 sn karıştırılıp ağzı kapatılarak 37oC'de 3 saat boyunca bekletildi. Daha sonra 250 µL Jasem reaktif-1 eklenip 5 sn karıştırıldı. 5000 rpm'de 5 dakika santrifüj edildi. Elde edilen üst faz LC-MS/MS sistemine enjekte edildi.

3.7. Cihaz Parametreleri

Tablo 3.1. MS/MS Sistemi Parametreleri

Agilent 6470 LC-MS/MS	
Ion source	ESI (Agilent Jet Stream)
Polarity	Negatif
Gas Temperature	350 °C
Gas Flow	10 L/min
Nebulizer Pressure	40 psi
Sheath Gas Temperature	400 °C
Sheath Gas Flow	10 L/min
Capillary Voltage	2500 V (Negatif)
Nozzle Voltage	500 V
Resolution MS1 and MS2	Unit resolution

Tablo 3.2. HPLC Parametreleri

Time	Solvent A (%)	Solvent B (%)	Flow (ml/min)
0.0	67	33	0.7
3.5	67	33	0.7
4.0	40	60	0.7
6.0	5	95	0.7
7.0	5	95	0.7
7.1	67	33	0.7
9.5	67	33	0.7

Kolon Fırını : 40 °C
 Enjeksiyon Hacmi : 10 µL
 Analiz Süresi :10.0 dakika

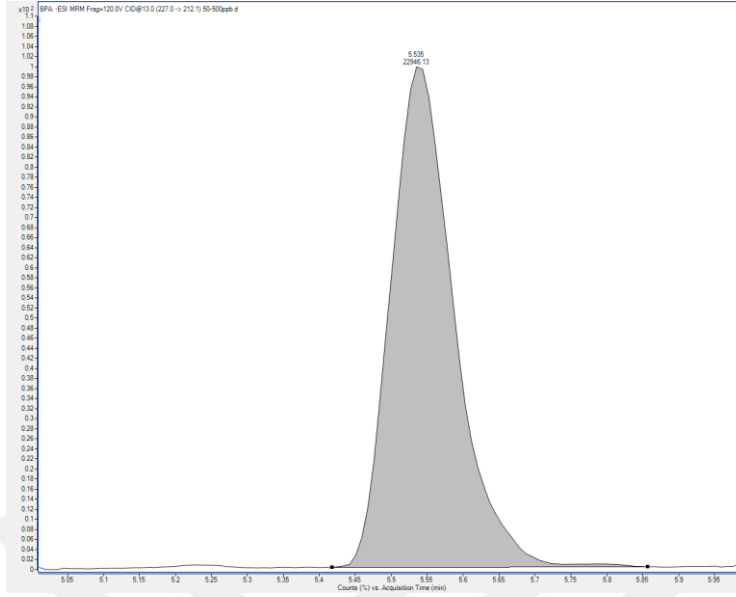
Tablo 3.3. Kütle Geçişleri

Analit	Precursor (m/z)	Product (m/z)	Dwell (ms)	Frag. (V)	CE (V)	Polarite
BPA	227,0	212,1	150	120	14	Negative
BPA Confirm	227,0	133,1	150	100	28	Negative
BPA-IS	241,2	223,2	150	120	14	Negative

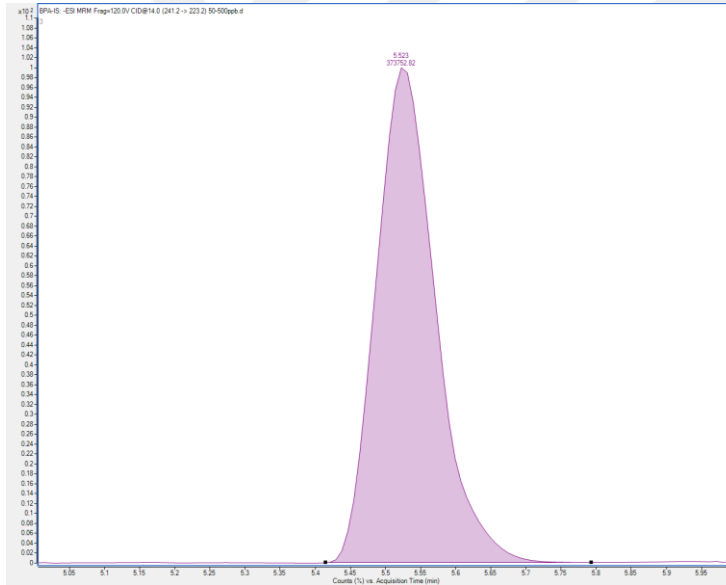
Tablo 3.4. Segment

Time	
0,0	Waste
1,8	MS
5,0	MS
6,0	Waste

3.8. Kontrol Kromatogramları:



Şekil 3.1. 50ng/ml Bisfenol A kalibratörüne ait kromatogram



Şekil 3.2. Bisfenol A internal standartına ait kromatogram

3.9. İdrar Kreatinin Analizi

21. gün oral gavaj uygulanmasını takiben deney hayvanları metabolik kafese taşındı ve 24 saatlik idrarları toplandı. İdrar kreatinin değerleri Gaziantep Üniversitesi Tıbbi Biyokimya Anabilim Dalı Laboratuvarında Beckman Coulter AU5800 biyokimya otoanalizatöründe, sıçana uyumlu kitler kullanılarak ölçüldü.

İdrar konsantrasyonu su tüketimine göre değişebildiğinden tüm örneklerde idrar kreatinin seviyesi de ölçüldü. İdrar BPA konsantrasyonları (ng/ml), kreatinine (mg/dl) göre düzeltme uygulandıktan sonra, düzeltilmiş BPA ($\mu\text{g/g}$ kreatinin) değerleri istatistiksel analizler için değerlendirilmiştir. (104, 115).

3.10. Dokuların Histopatolojik Olarak Değerlendirilmesi

Işık mikroskopik incelemeler için alınan kalın barsak doku örnekleri %10'luk tamponlanmış formaldehit içinde fikse edildi. Artan konsantrasyonlardaki etanol solüsyonlarıyla dehidrasyonu yapılan doku örnekleri şeffaflaştırma aşaması için ksilende yarım saat bekletildi. Parafin serilerinden geçirilerek dokular parafin bloklara gömüldü. Parafin bloklardan mikrotomla kesilen $4,5 \mu\text{m}$ kalınlığındaki doku kesitleri, ışık mikroskopisinde değerlendirilmek üzere Hematoksilen Eosin ile boyandı. Tüm ışık mikroskopik kesitleri, fotomikroskoba bağlı bir dijital kamera ile gözlemlendi ve cellSens yazılımı ile fotoğraflandı. Barsak dokularının histomorfolojik skorlaması Erben, Loddenkemper (176)'ın yaptığı skorlama temel alınarak değerlendirildi (22, 176). Tüm histopatolojik değerlendirme süreci Gaziantep Üniversitesi Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı Laboratuvarında yapılmıştır.

3.11. Erben Histomorfolojik Skorlaması

Çalışmada, kimyasal maddeye maruz kalma yollarının farklılığına göre alternatif skorlama sistemleri geliştirdiği için Erben histomorfolojik skorlama sistemi kullanıldı. Oral gavaj ile bisfenol analoglarının inflamatuvar etkisini kıyas etmek için Tablo.3.5'teki parametreler kullanılmıştır (176).

Lamina propriayı infiltre eden lökositler bazen daha derindeki tabakalara da yayılabilmektedir. Her ne kadar bu lökositler arasında nötrofiller, eosinofiller, monositler, plasma hücreleri ve lenfositler bulunsa da Erben skorlama sisteminde "inflamatuvar hücreler" genel isimlendirilmesi ile ifade edilmiş ve skorlamaya dahil edilmişlerdir. Bu inflamatuvar hücreler *high-power field* (hpf: $0,306 \text{ mm}^2$) başına çevre dokuya oranlarına göre puanlanmıştır (176).

Tablo 3.5. Erben Histomorfolojik Skorlaması (176)

İnflamatuvar Hücre İnfiltrasyonu		Skor -1	Barsak Mimarisi		Skor -2
Şiddeti	Kapsamı		Epitelyal Değişiklikler	Mukoza Mimarisi	
Hafif (<hpf'nin %25'i)	Mukoza	1	Fokal erozyonlar		1
Orta hpf'nin (%25-50'si)	Mukoza ve submukoza	2	Erosyonlar	± Fokal Ülserasyonlar	2
Belirgin (>hpf'nin %51'i)	Transmural	3		Yaygın ülserasyonlar ± granülasyon dokusu± psödopolip	3
Skor 1 ve 2'nin Toplamı			0-6		

3.12. Verilerin İstatistiksel Değerlendirilmesi:

Çalışma öncesi, çalışmada kullanılacak denek sayısını belirlemek için “Power Analizi” yapılmıştır. Gruplar arası Erben Histomorfolojik Skorlamaları (176) arasında büyük bir etki büyüklüğü ($f=0,8$) oluşacağı beklentisinin istatistiksel olarak anlamlı bulunması amacıyla her grupta gerekli minimum denek sayısı 7 olarak belirlenmiştir

($\alpha=0,05$; $1-\beta=0,80$) (22). Çalışma sırasında oluşabilecek kayıplar göz önüne alınarak her gruptaki denek sayısının %10 artırılması planlanmıştır. Bu nedenle her grupta 8 denek kullanılarak toplam 48 denek üzerinde çalışmanın yürütülmüştür. Güç analizi Gpower 3.9.1 yazılımında yapılmıştır. Sayısal değişkenlerin normal dağılıma uygunluğu Shaphiro Wilk testi test edilmiştir. Normal dağılmayan değişkenlerin 6 grupta karşılaştırılmasında Kruskal Wallis ve Dunn testi kullanılmıştır. Analizlerde SPSS 22,0 Windows versiyon paket programı kullanılmıştır. $p<0,05$ anlamlı kabul edilmiştir.

3.13. Deney Grupları

Hayvan türü olarak yapılan literatür taramaları sonucunda sıklıkla kullanılan ve bu çalışmalar için uygun olduğu düşünülen 250-300 gram ağırlığında, 4 aylık Sprague Dawley ırkı dişi sıçanlar seçilmiştir (36, 73).

Deney grupları Tablo 3.6’da belirtilmiştir.

Tablo 3.6. Deney Grupları

GRUPLAR	UYGULAMA SÜRESİ	GRUP BAŞINA HAYVAN ADEDİ
Grup 1: Negatif Kontrol Grubu: Yalnızca <i>ad libitum</i> su ve pellet verildi.	21 gün	8
Grup 2: Taşıyıcı kontrol grubu: %0,1 ethanol mısırözü yağı içerisinde oral gavaj yolu ile verildi. (22, 36)	21 gün	8
Grup 3: Bisfenol A (BPA) grubu: 0,5 $\mu\text{g/kg}$ /gün BPA, oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde oral gavaj yolu ile verildi. (22, 36)	21 gün	8

Grup 4: Bisfenol A (BPA) grubu: 5 µg/kg /gün BPA, oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde oral gavaj yolu ile verildi. (22, 36)	21 gün	8
Grup 5: Bisfenol S (BPS) grubu: 0,5 µg/kg /gün BPS, oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde oral gavaj yolu ile verildi. (22, 36)	21 gün	8
Grup 6: Bisfenol S (BPS) grubu: 5 µg/kg /gün BPS, oral % 0,1 ethanol mısırözü yağı çözücüsü içerisinde oral gavaj yolu ile verildi. (22, 36)	21 gün	8
Araştırmada kullanılan toplam hayvan sayısı		48

4. BULGULAR

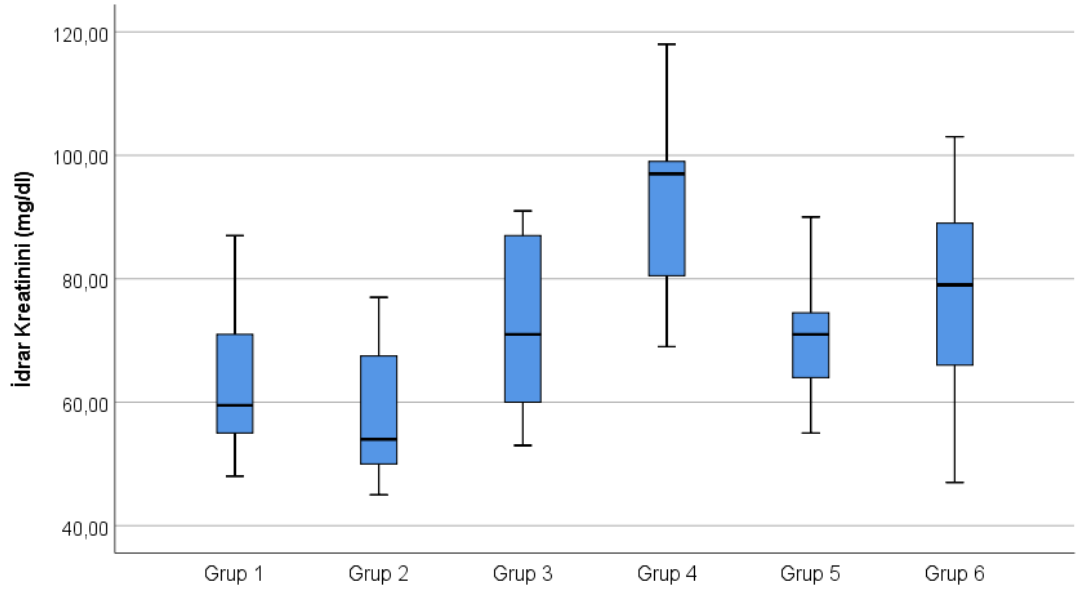
4.1. İdrar Kreatinini Bulguları

İdrar kreatinini bakımından (mg/dl) gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,022$). Grup 4'ün idrar kreatinin miktarı grup 1 ve grup 2'den anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,006$, $p=0,001$) (Tablo 4.1), (Şekil 4.1).

Tablo 4.1. İdrar Kreatinin Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

		n	Ort $\pm$ St.Sapma	Medyan (Min-Max)	P
İdrar Kreatinini (mg/dl)	Grup 1	6	63,33 $\pm$ 13,81	59,5 (48 -87)	0,022*
	Grup 2	7	58,71 $\pm$ 12,24	54 (45 -77)	
	Grup 3	5	72,4 $\pm$ 16,52	71 (53 -91)	
	Grup 4	7	91,86 $\pm$ 17,02	97 (69 -118)	
	Grup 5	7	70,43 $\pm$ 11,15	71 (55 -90)	
	Grup 6	7	77 $\pm$ 18,8	79 (47 -103)	

* $p<0,05$ düzeyinde anlamlı, Kruskal Wallis ve Dunn testi



Şekil 4.1. İdrar Kreatinin Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

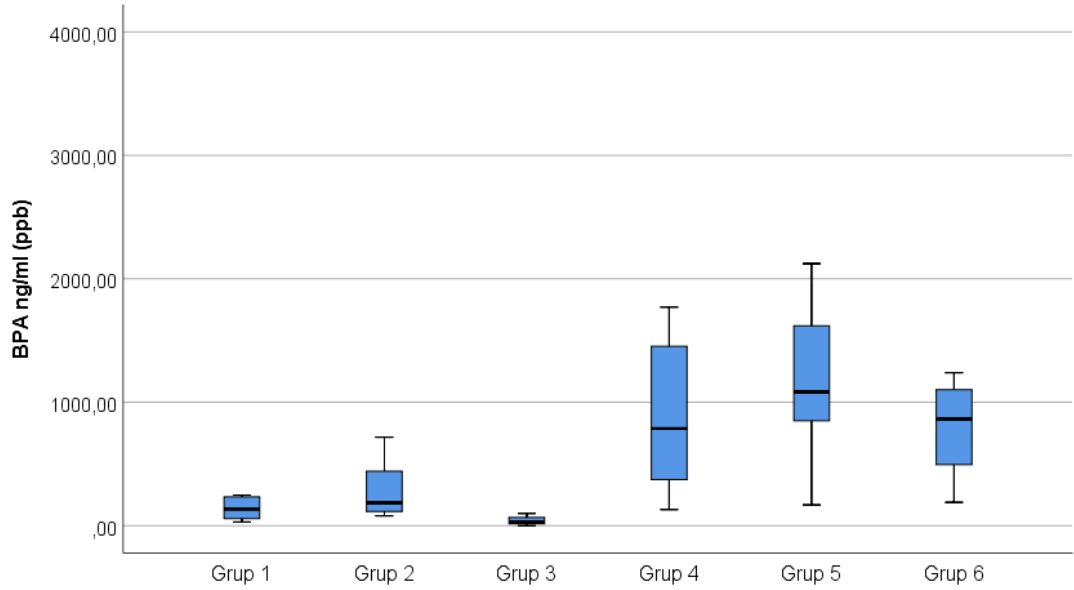
4.2. İdrar BPA Değerleri Bulguları

İdrar BPA değerleri bakımından (ng/ml (ppb)) gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,001$). Grup 4'ün idrar BPA miktarı grup 1 ve grup 3'ten anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,017$, $p=0,001$). Grup 6'nın idrar BPA miktarı grup 1 ve grup 3'ten anlamlı derece yüksek bulundu ($p=0,010$, $p=0,001$). Grup 5'in idrar BPA miktarı grup 1, grup 2 ve grup 3'ten anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,005$, $p=0,029$, $p=0,001$) (Tablo 4.2), (Şekil 4.2).

Tablo 4.2. İdrar BPA Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

		n	Ort±St.Sapma	Medyan (Min-Max)	P
BPA ng/ml (ppb)	Grup 1	6	139,28 ± 92,49	133,77 (29,62 -248,08)	0,001*
	Grup 2	7	298,65 ± 244,59	184,89 (79,03 -716,26)	
	Grup 3	5	41,9 ± 40,28	29,06 (0 -99,3)	
	Grup 4	7	1104,88 ± 1065,61	787,1 (130,46 -3165,38)	
	Grup 5	7	1325,6 ± 971,44	1083,11 (167,74 -3091,81)	
	Grup 6	7	1175,94 ± 1288,53	863,56 (188,53 -3988,39)	

* $p<0,05$ düzeyinde anlamlı, Kruskal Wallis ve Dunn testi



Şekil 4.2. İdrar BPA Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

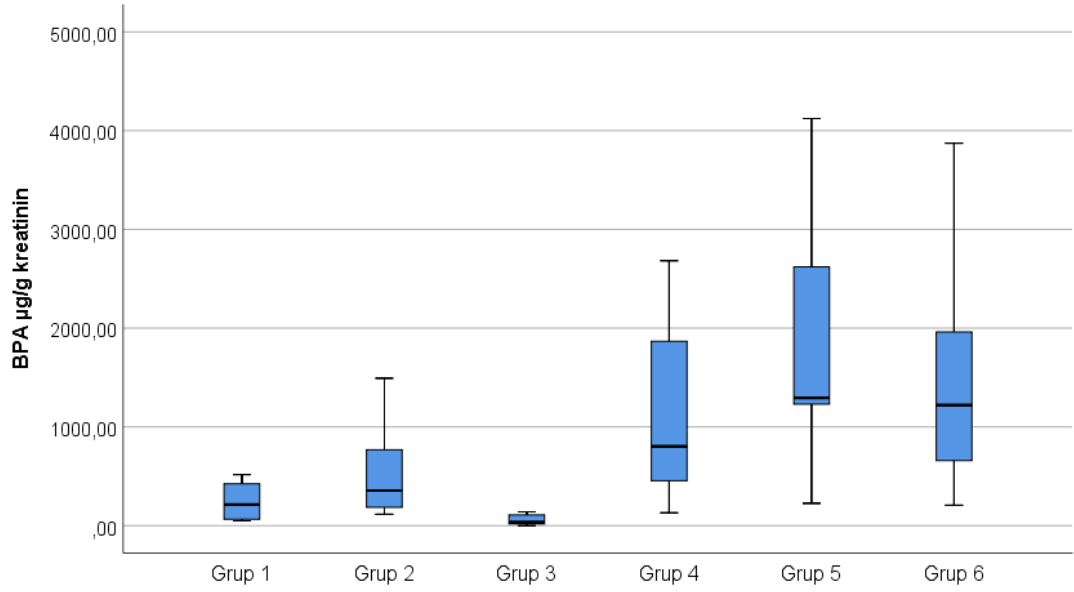
4.3. Düzeltilmiş BPA Değerleri Bulguları

Düzeltilmiş BPA ($\mu\text{g/g}$ kreatinin) değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,001$). Grup 2'nin düzeltilmiş idrar BPA miktarı grup 3'ten anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,046$). Grup 4'ün düzeltilmiş idrar BPA miktarı grup 3'ten anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,004$). Grup 5'in düzeltilmiş idrar BPA miktarı grup 1, grup 2 ve grup 3'ten anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,005$, $p=0,049$, $p=0,001$). Grup 6'nın düzeltilmiş BPA miktarı grup 1 ve grup 3'ten anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,018$, $p=0,001$) (Tablo 4.3), (Şekil 4.3).

Tablo 4.3. İdrar Düzeltilmiş BPA İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

		n	Ort $\pm$ St.Sapma	Medyan (Min-Max)	P
BPA $\mu\text{g/g}$ kreatinin	Grup 1	6	247,13 $\pm$ 195,86	213,33 (49,37 -516,83)	0,001*
	Grup 2	7	553 $\pm$ 509,48	355,56 (115,17 -1492,21)	
	Grup 3	5	59,95 $\pm$ 61,26	33,4 (0 -139,85)	
	Grup 4	7	1180,28 $\pm$ 1016,19	803,16 (130,46 -2682,52)	
	Grup 5	7	1906,87 $\pm$ 1338,65	1294,64 (226,67 -4122,41)	
	Grup 6	7	1505,88 $\pm$ 1299,45	1220 (207,18 -3872,22)	

* $p<0,05$ düzeyinde anlamlı, Kruskal Wallis ve Dunn testi



Şekil 4.3. İdrar Düzeltilmiş BPA İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

4.4. İdrar BPS Değerlerine Dair Bulgular

Sıçanların idrar örneklerinde yapılan LC-MS/MS analizlerine göre BPS tespit edilmedi (<1 ng/ml (ppb)).

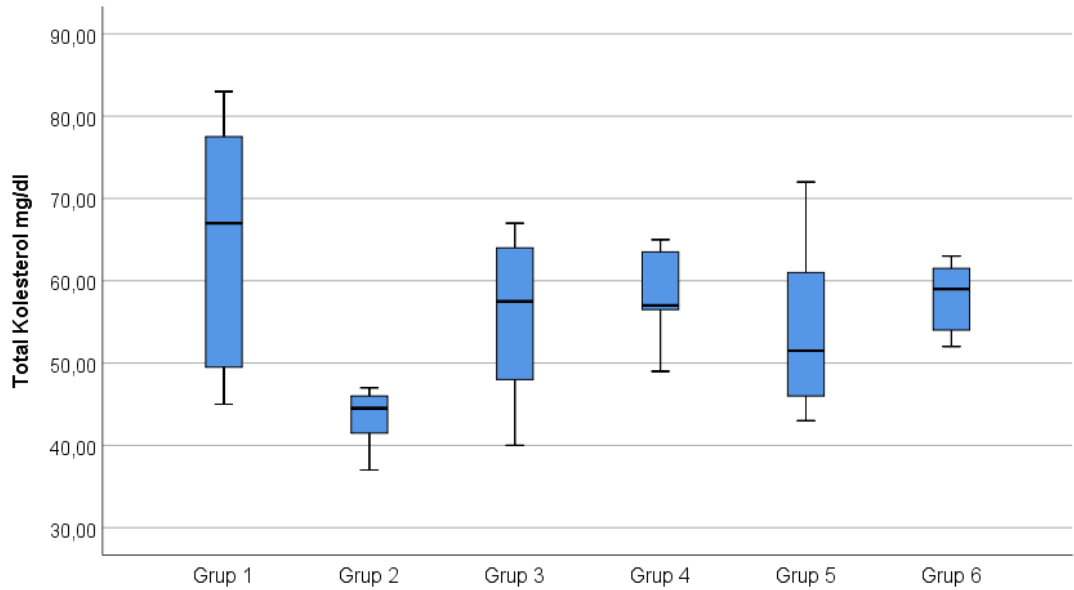
4.5. Kan Total Kolesterol Değeri Bulguları

Kan total kolesterol değerleri bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,011$). Grup 5'in total kolesterol değeri grup 2'den anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,044$). Grup 3'ün total kolesterol değeri grup 2'den anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,017$). Grup 6'nın total kolesterol değeri grup 2'den anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,007$). Grup 4'ün total kolesterol değeri grup 2'den anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,002$). Grup 1'in total kolesterol değeri grup 2'den anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,001$) (Tablo 4.4), (Şekil 4.4).

Tablo 4.4. Kan Total Kolesterol Miktarı İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

		n	Ort±St.Sapma	Medyan (Min-Max)	P
Total	Grup 1	7	64,14 ± 15,96	67 (45 -83)	0,011*
Kolesterol (mg/dl)	Grup 2	8	43,5 ± 3,59	44,5 (37 -47)	
	Grup 3	6	55,67 ± 10,48	57,5 (40 -67)	
	Grup 4	7	61 ± 10,15	57 (49 -81)	
	Grup 5	8	54 ± 9,91	51,5 (43 -72)	
	Grup 6	7	59 ± 13,54	59 (39 -84)	

*p<0,05 düzeyinde anlamlı, Kruskal Wallis ve Dunn testi



Şekil 4.4. Kan Total Kolesterol İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

4.6. Erben Skorlaması Bulguları

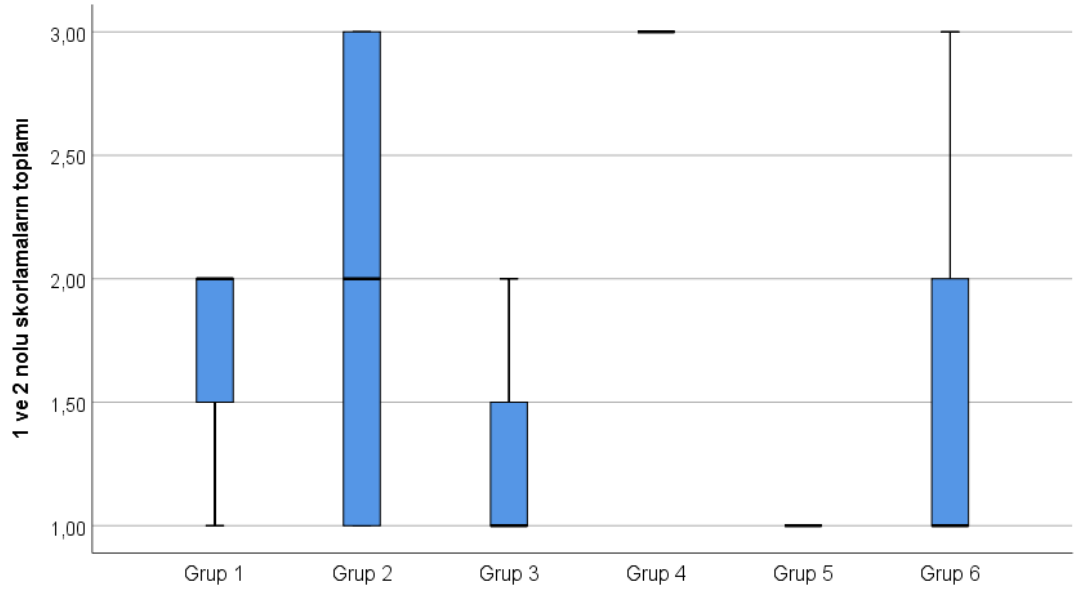
Kalın barsak doku örneklerinde Erben Histomorfolojik skorlaması bakımından gruplar arasında anlamlı farklılık bulundu ($p=0,036$). Grup 4 'ün Eben skorlaması grup 3'ten anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,008$). Grup 4 'ün Eben skorlaması grup 5'ten

anlamlı derecede yüksek bulundu ($p= 0,002$). Grup 4 ‘ün Eben skorlaması grup 6’dan anlamlı derecede yüksek bulundu ($p=0,020$).

Tablo 4.5. Erben Skorlaması İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

		n	Ort±St.Sapma	Medyan (Min-Max)	P
1 ve 2 nolu skorlamaların toplamı	Grup 1	4	1,75 ± 0,5	2 (1 -2)	0,036*
	Grup 2	4	2 ± 1,15	2 (1 -3)	
	Grup 3	4	1,25 ± 0,5	1 (1 -2)	
	Grup 4	4	3 ± 0	3 (3 -3)	
	Grup 5	4	1 ± 0	1 (1 -1)	
	Grup 6	4	1,5 ± 1	1 (1 -3)	

* $p<0,05$ düzeyinde anlamlı, Kruskal Wallis ve Dunn testi



Şekil 4.5. Erben Skorlaması İstatistiksel Değerlendirme Sonuçları

4.7. Işık Mikroskopik Bulgular

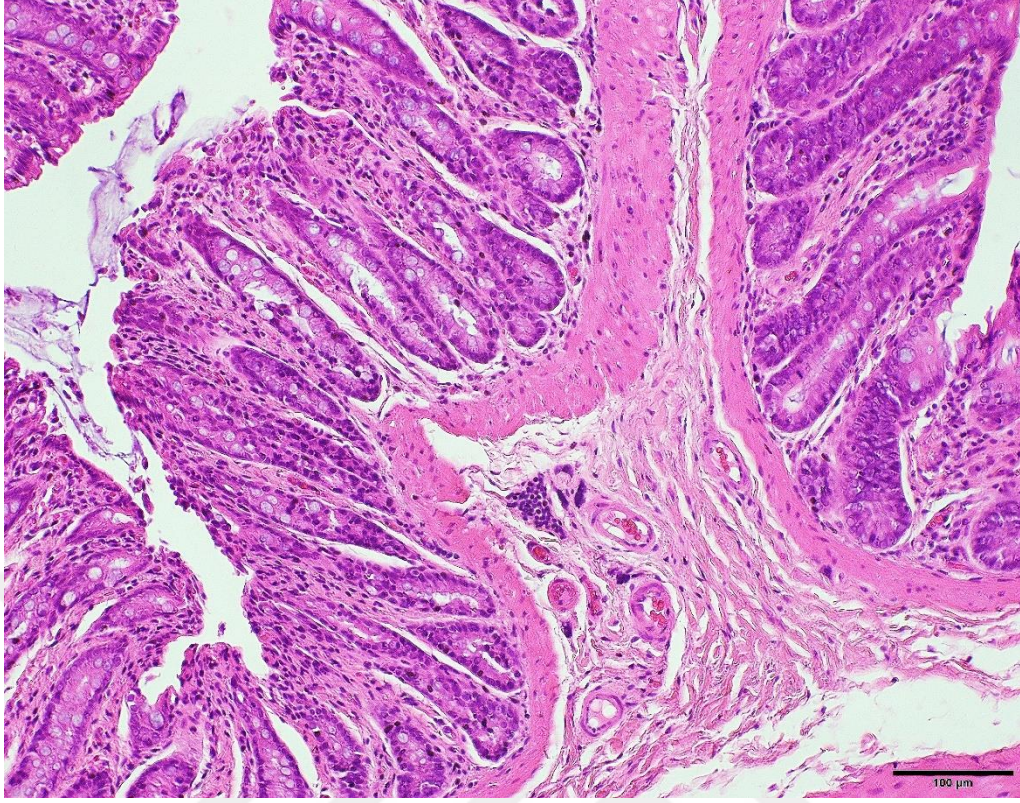
Çalışmamızda negatif kontrol, taşıyıcı kontrol ve deney gruplarının inflamasyonunu değerlendirmeye yönelik yapılan Erben histomorfolojik skorlaması için Hematoksilen-Eosin (H-E) boya kullanıldı (176).

4.7.1. Negatif Kontrol Grubu (Grup 1):

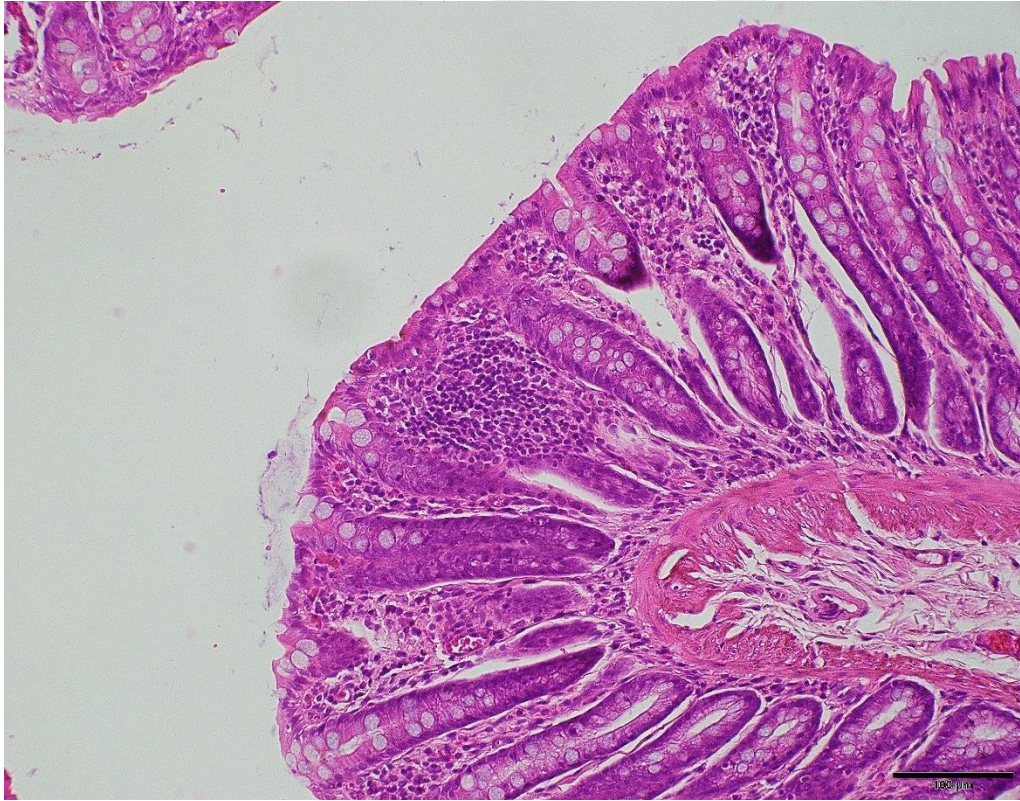
Mukoza ve submukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.6, 7). Mukozada kriptaları yer yer kenara iten nodül benzeri inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 4.8).



Şekil 4.6. Negatif Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 4x)



Şekil 4.7. Negatif Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)



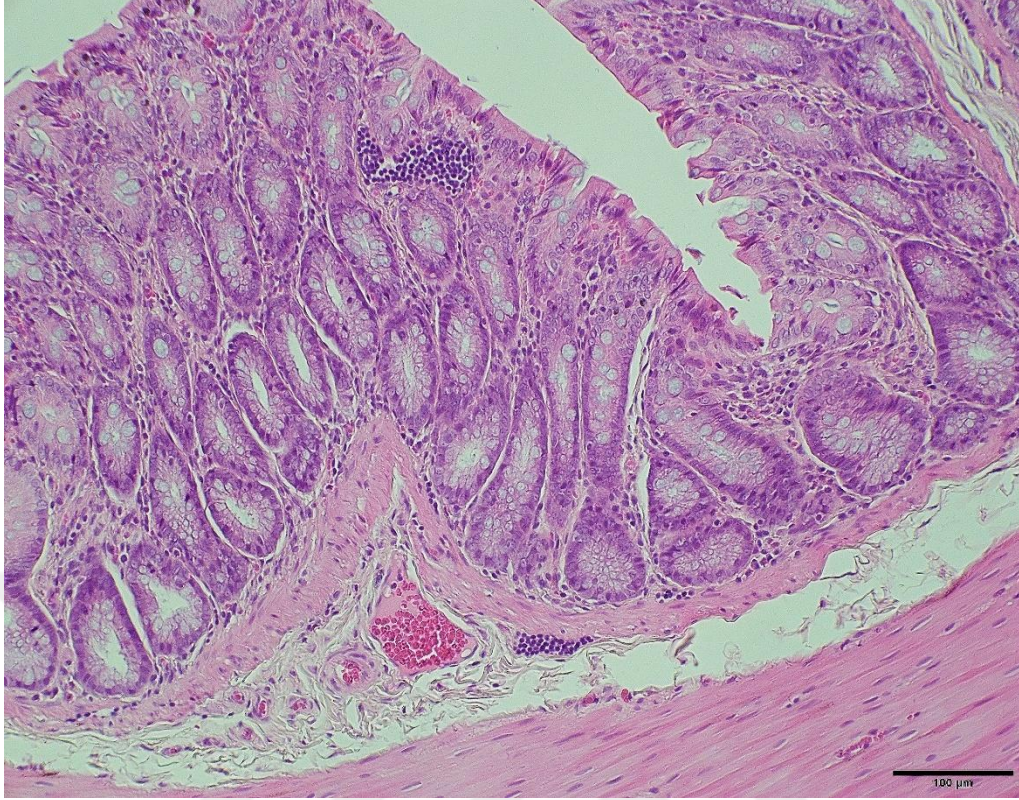
Şekil 4.8. Negatif Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)

4.7.2. Taşıyıcı Kontrol Grubu (Grup 2):

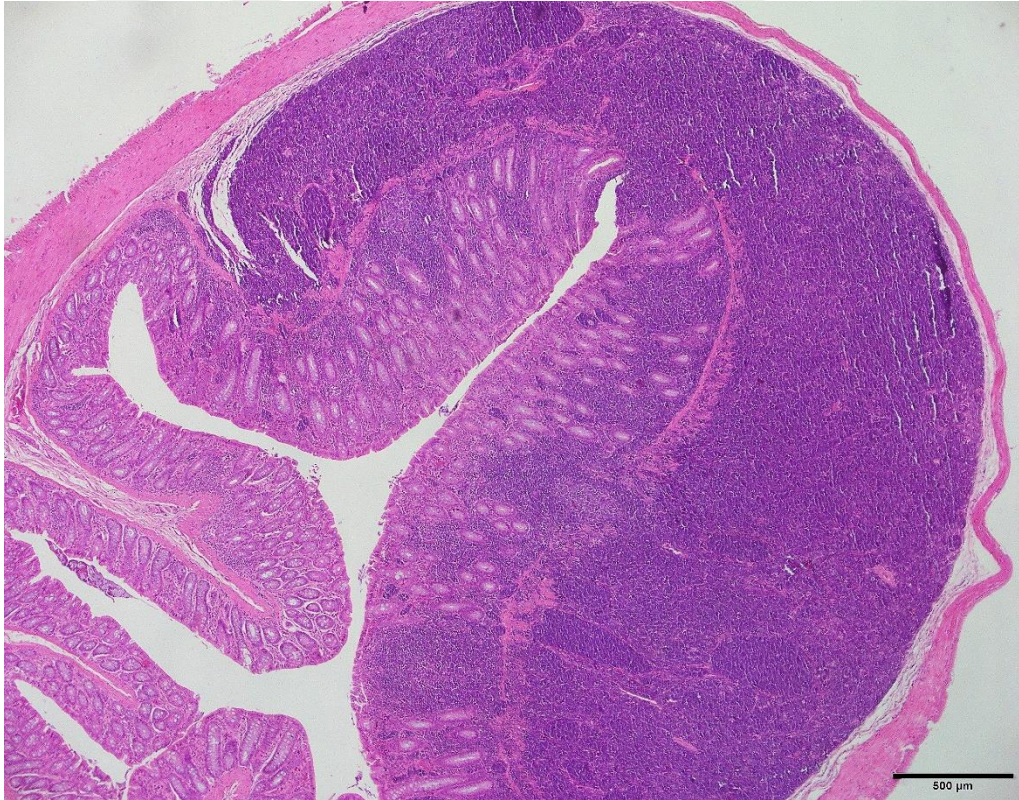
Mukoza ve submukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.9, 10). Zaman zaman bu infiltrasyonun aşırı arttığı görüldü (Şekil 4-11). Özellikle inflamatuvar invazyonun aşırı arttığı bölgelerde vaskülarizasyonda artış dikkat çekici bulundu (Şekil 4.10). Mukozada kriptaları yer yer kenara iten nodül benzeri inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 4.10). Bu inflamatuvar hücrelerin kripteleri de invaze ederek kriptit tablosuna sebep oldukları tespit edildi (Şekil 4.12)



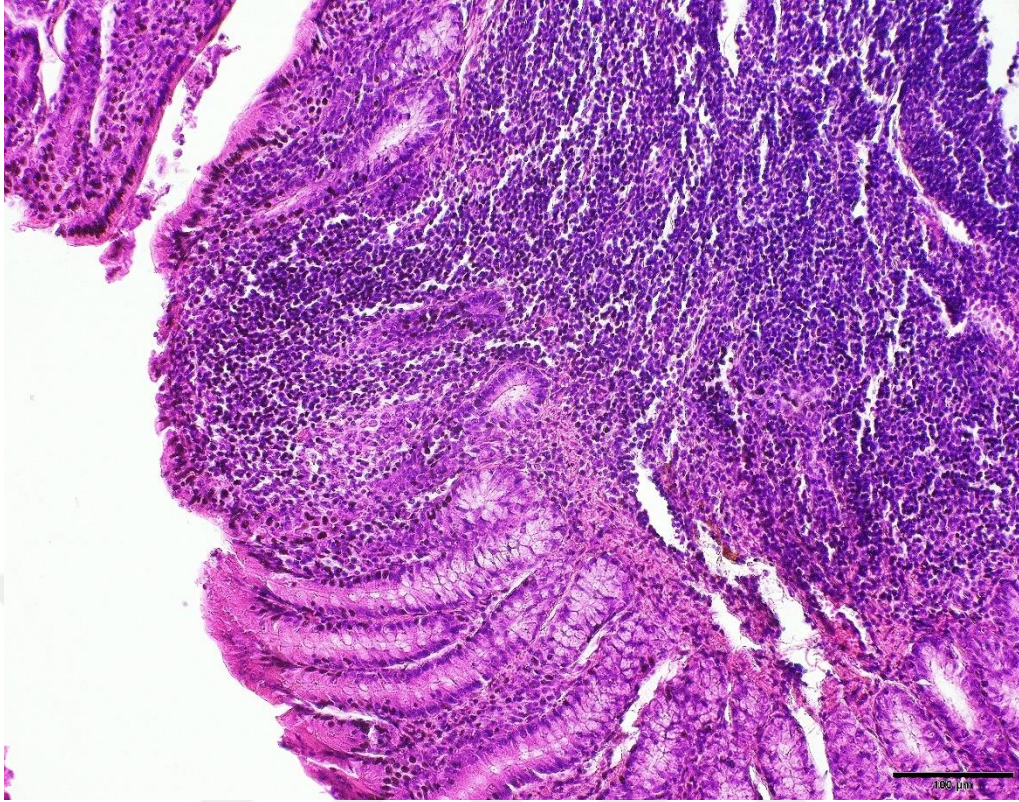
Şekil 4.9. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 4x)



Şekil 4.10. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)



Şekil 4.11. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 4x)



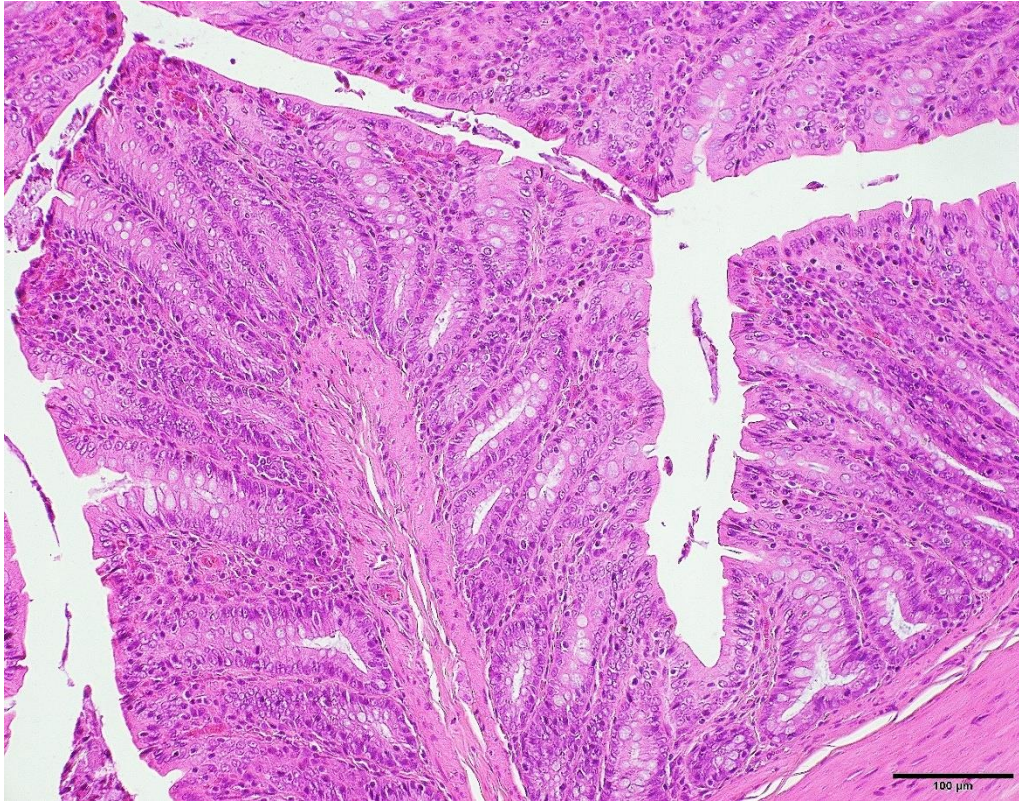
Şekil 4.12. Taşıyıcı Kontrol Grubu Kolon Kesiti (H-E 20x)

4.7.3. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3)

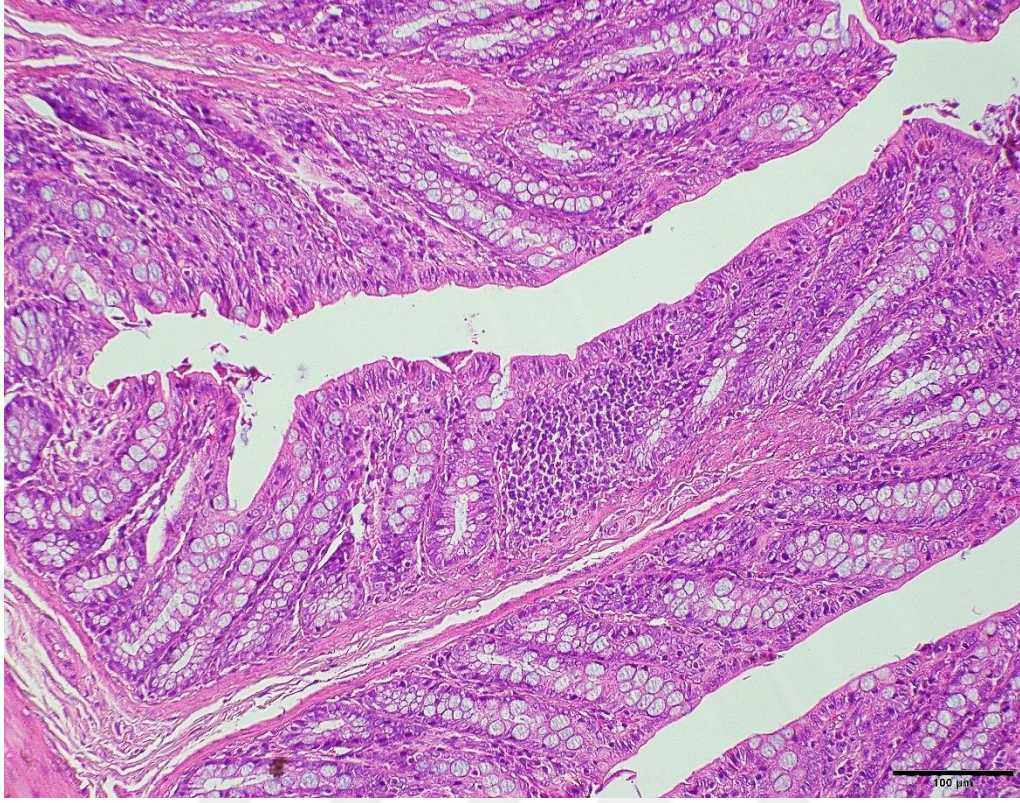
Mukoza ve submukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.13, 16). Vaskülarizasyonda artış görüldü (Şekil 4.14). Mukozada kriptaları yer yer kenara iten nodül benzeri inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlendi (Şekil 4.15)



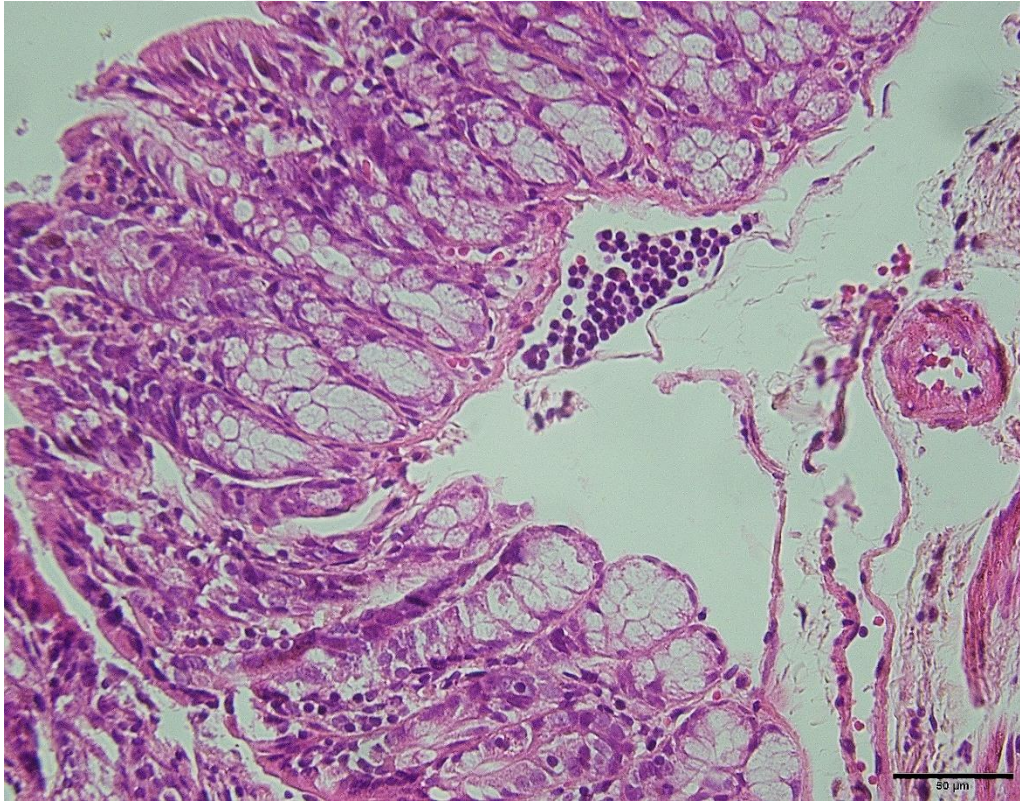
Şekil 4.13. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 4x)



Şekil 4.14. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 20x)



Şekil 4.15. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 20x)



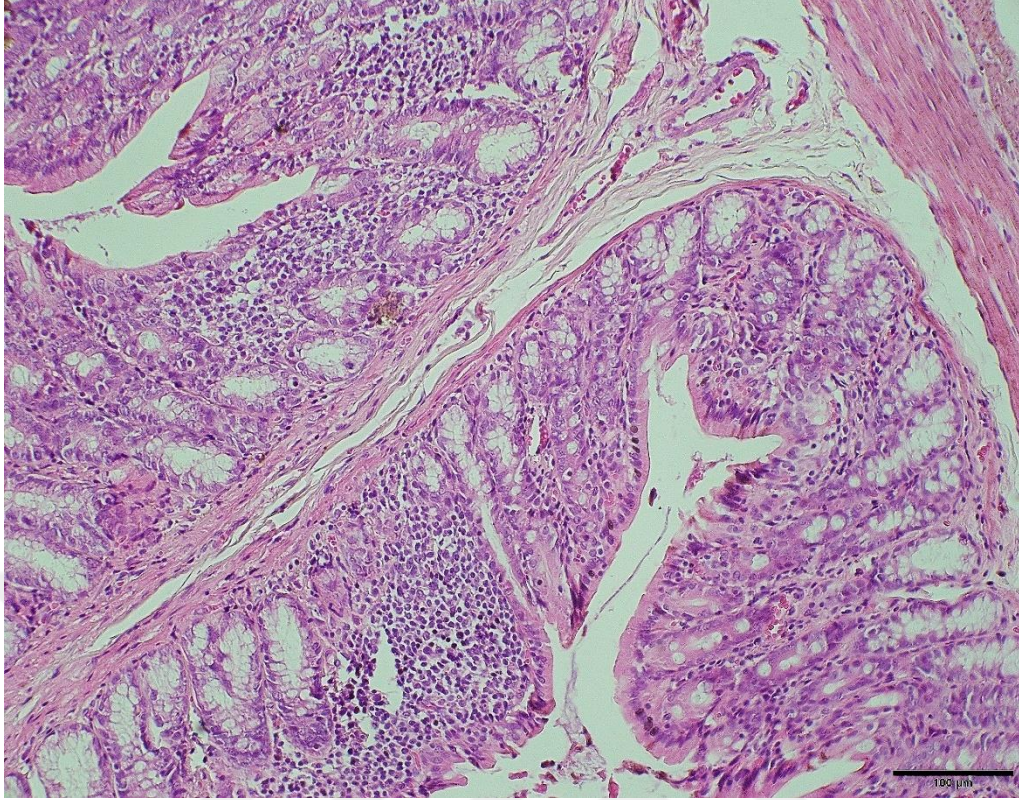
Şekil 4.16. 0,5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 3) (H-E 40x)

4.7.4. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4)

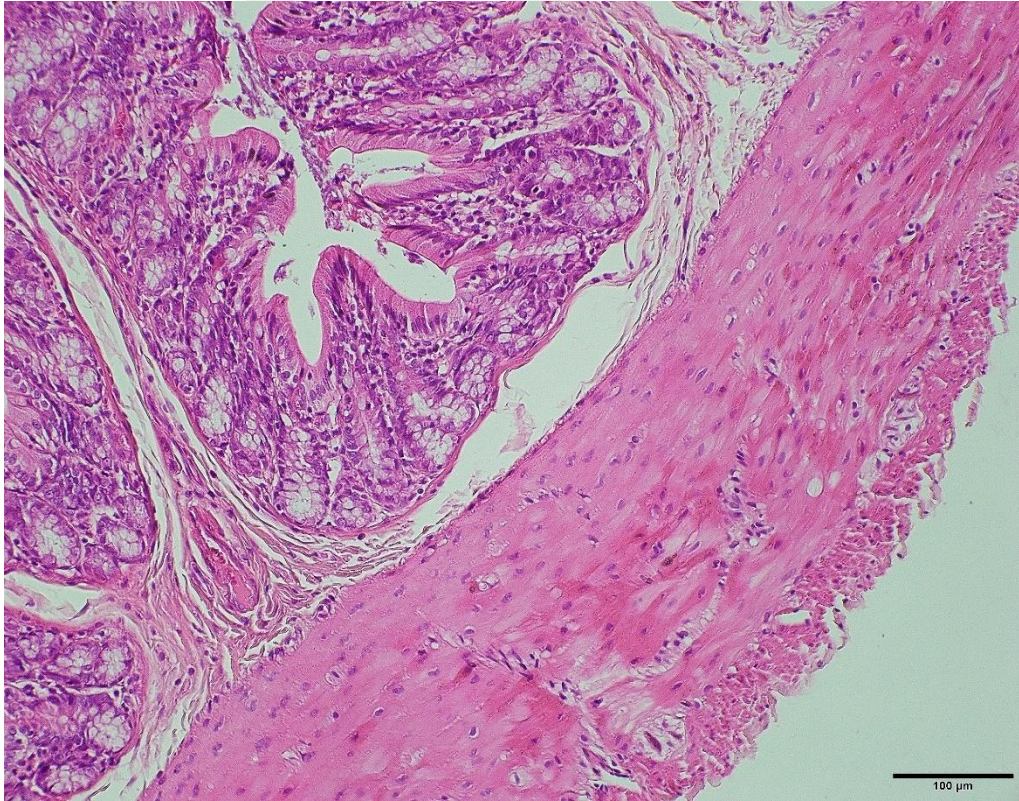
Mukoza, submukoza ve muscularis eksterna tabakalarında inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.17, 19, 20). Mukozada kriptaları yer yer kenara iten nodül benzeri inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 4.18).



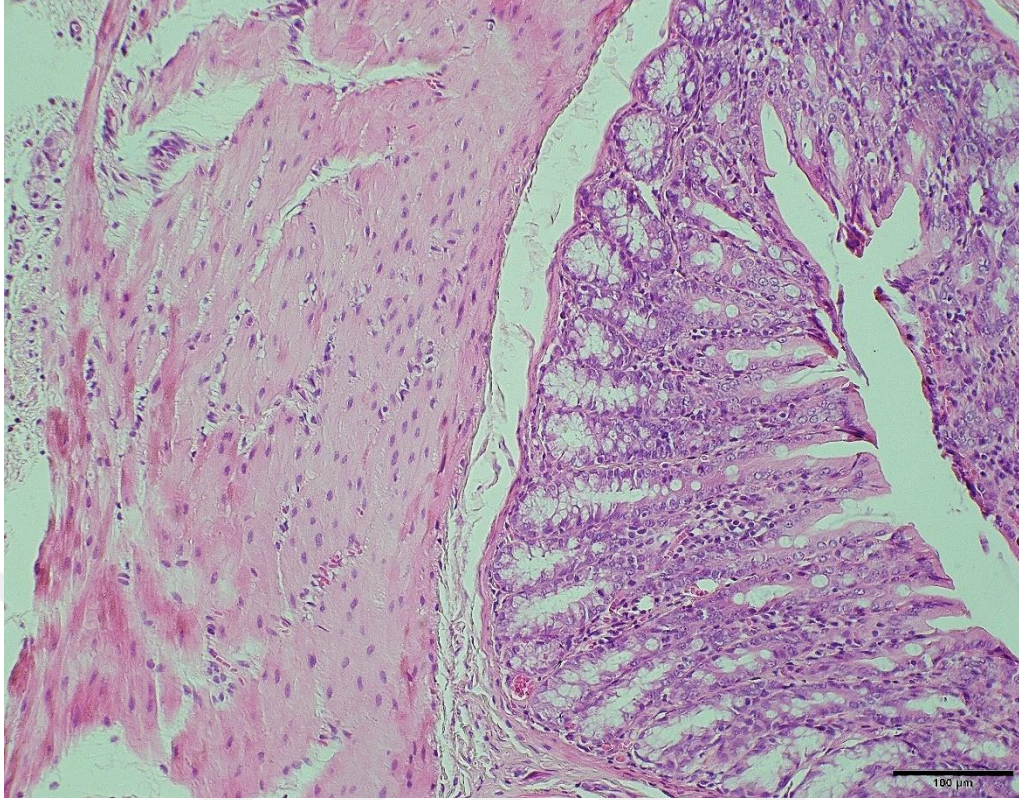
Şekil 4.17. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 4x)



Şekil 4.18. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 20x)



Şekil 4.19. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 20x)



Şekil 4.20. 5 µg/kg Bisfenol A (BPA) grubu (Grup 4) (H-E 20x)

4.7.5. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5)

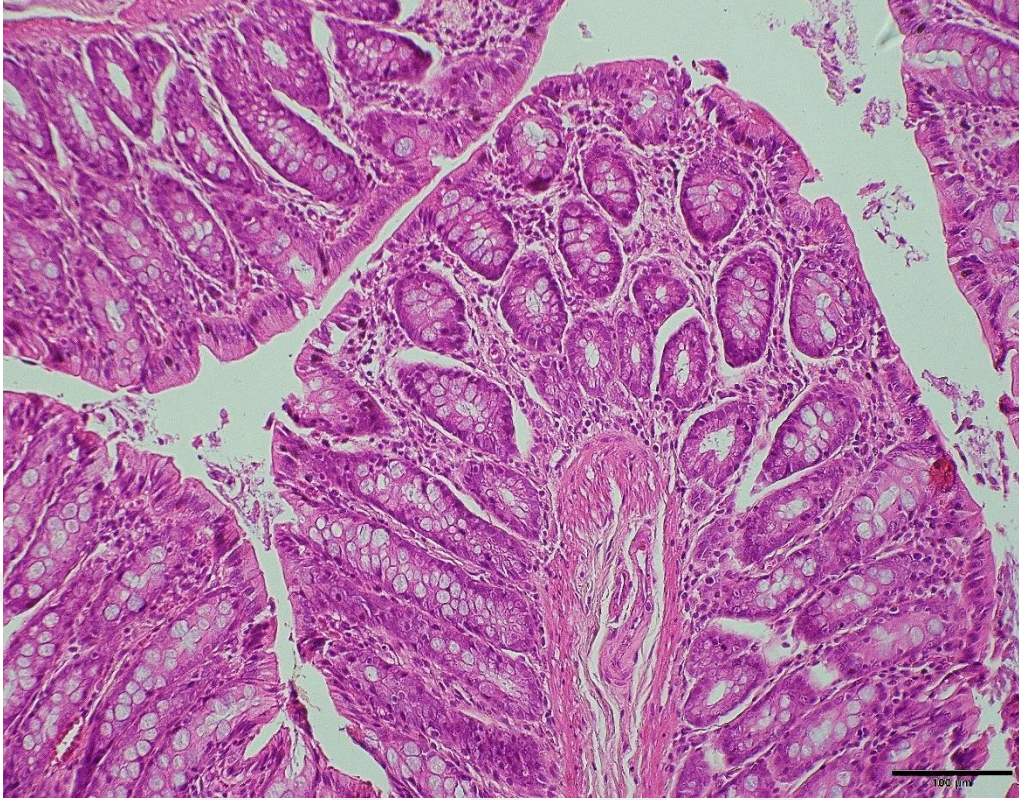
Mukoza ve submukozada az miktarda inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.21-24).



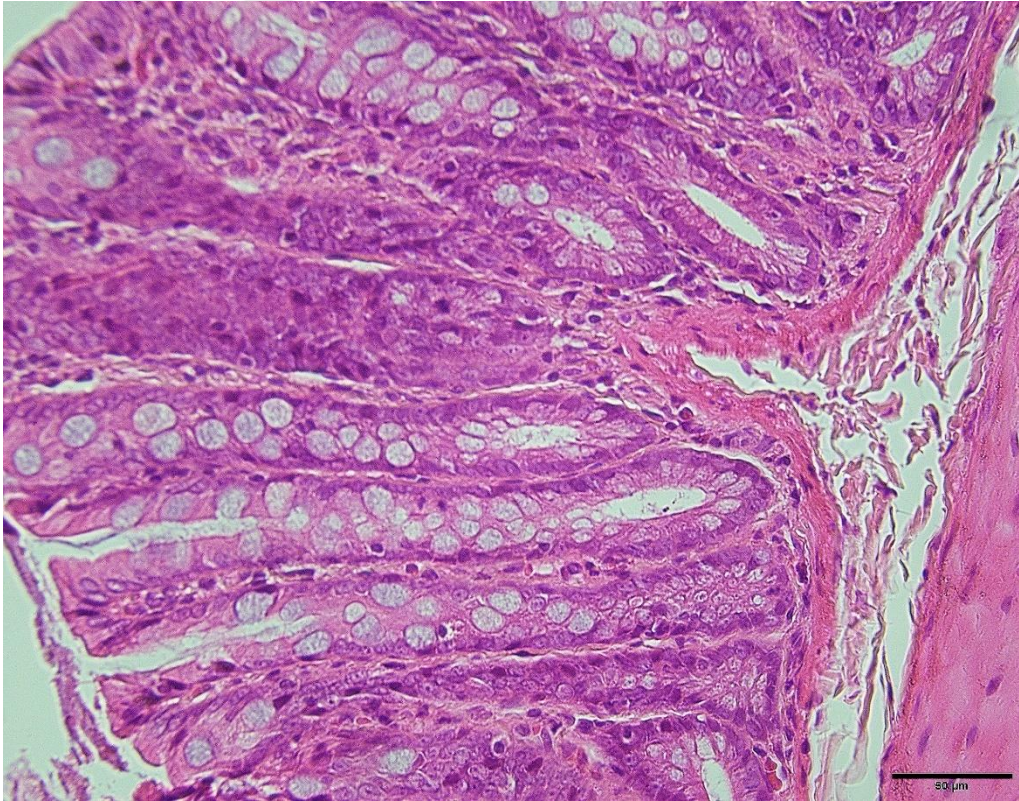
Şekil 4.21. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 4x)



Şekil 4.22. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 10x)



Şekil 4.23. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 20x)



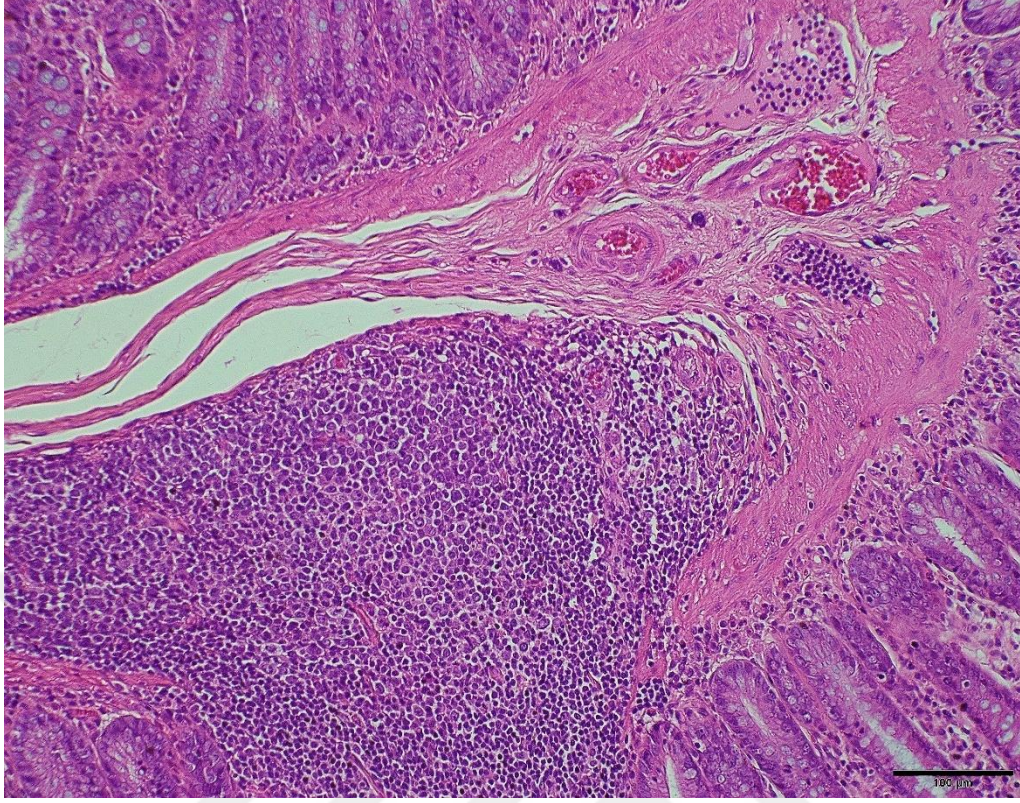
Şekil 4.24. 0,5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 5) (H-E 40x)

4.7.6. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6)

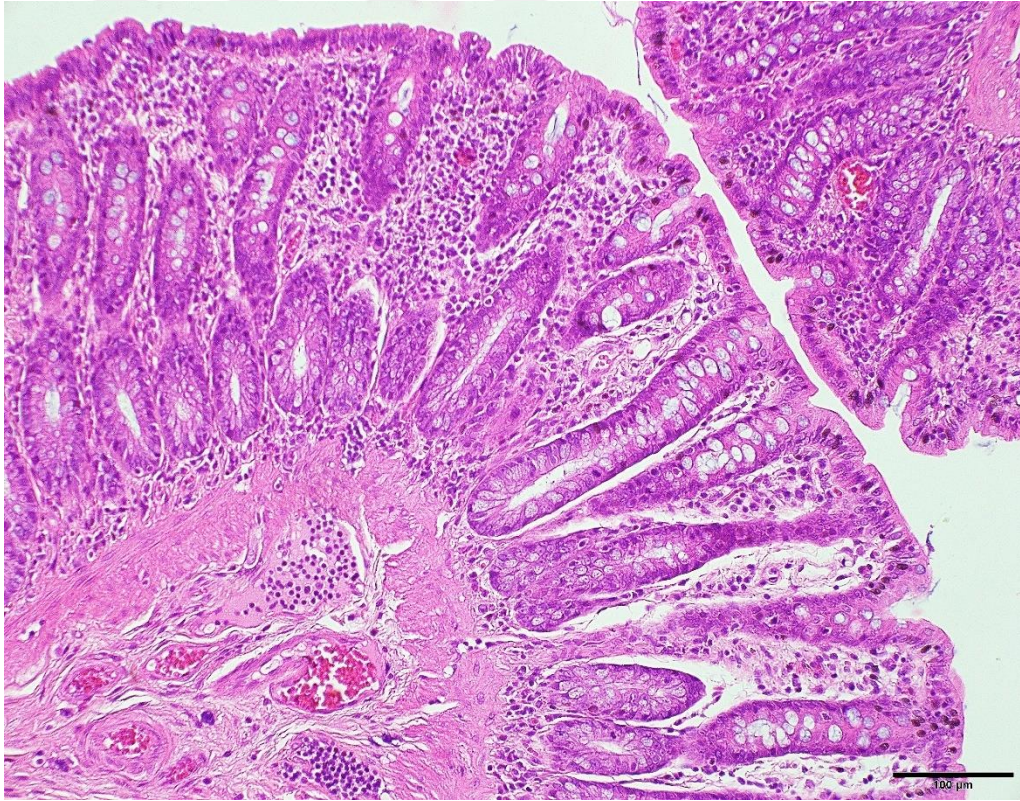
Mukoza ve submukozada inflamatuvar hücre infiltrasyonu izlendi (Şekil 4.25). Mukozada kriptaları yer yer kenara iten nodül benzeri inflamatuvar hücre infiltrasyonları gözlemlendi (Şekil 4.27). Zaman zaman bu infiltrasyonun aşırı arttığı görüldü (Şekil 4.25, 26, 28). Özellikle inflamatuvar invazyonun aşırı arttığı bölgelerde vaskülarizasyonda artış dikkat çekici bulundu (Şekil 4.26-28).



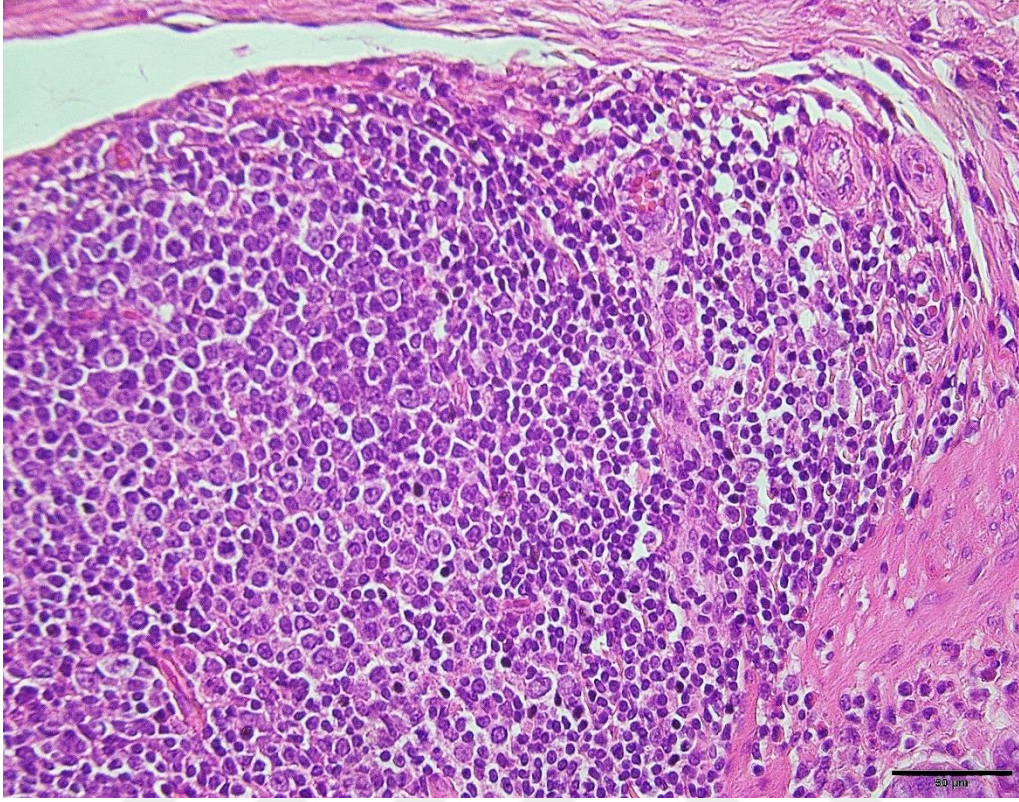
Şekil 4.25. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (4x)



Şekil 4.26. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (20x)



Şekil 4.27. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (20x)



Şekil 4.28. 5 µg/kg Bisfenol S (BPS) grubu (Grup 6) (40x)

5. TARTIŞMA

Yapılan çalışmalar BPA'nın, klasik nükleer östrojen reseptörü alfa ve beta'ya, östradiol (E2)'e göre 1000-10.000 kat zayıf bağlandığını tespit etmiştir. Daha yeni tarihli araştırmalar ise çok düşük dozda BPA'nın, E2'nin hücreler üzerine gerçekleşen etkisine yaklaşık olarak eşit derecede etki edebildiğini ortaya koymuştur. Bu durum araştırmacılarca BPA'nın klasik ve klasik olmayan membran östrojen reseptörlerine bağlanma kabiliyeti ile ilişkilendirilmiştir. Bunun yanında G protein kenetli reseptör (GPR30)'e bağlanabilmesi ve genomik olmayan (*non-genomic*) yollarla etki edebilmesi de tesirinin artmasında kayda değer görülmüştür. BPA'nın glukuronid ve sülfat gibi metabolit formlarının östrojenik etkisinin daha fazla olabildiği tespit edilmiştir. E2, klasik östrojen reseptörlerinin ligand bağlanma bölgeleri aracılığı ile etmektedir. BPA'nın klasik olmayan reseptörler üzerinden etki etmesi farklı transkripsiyonel yardımcı düzenleyicilerin (*co-regulator*) görev almasına sebep olmaktadır. Bu durum BPA'yı yalnızca östrojeni taklit eden bir ajan olmaktan çıkarmaktadır. BPA'nın östrojen benzeri etkisini kuvvetlendiren sebeplerden birisi de alfa fetoprotein (AFP) gibi östrojen bağlayıcı serum proteinleri ile olan zayıf ilişkisidir. Fetüs ve yenidoğan karaciğerinde üretilen AFP, plasmada E2'yi bağlar. Böylece dokular E2'nin aşırı etkilerinden korunmuş olur. Öte yandan BPA, AFP tarafından çok az bağlanabilmektedir. Bu durumda BPA, E2'ye göre östrojen duyarlı dokulara daha fazla ulaşabilmektedir. Yakın zamanda yapılan çalışmalara göre östrojen reseptörleri içerisinde ER gama, BPA'ya yüksek spesifite ile güçlü bir şekilde bağlanmaktadır.

BPA, östrojen benzeri etkisinin yanı sıra tiroid hormonları üzerinde de etki eder. BPA, özellikle triiyodotironin (T3) hormonunu inhibe eder. Her ne kadar BPA'nın tiroid hormon reseptörlerine bağlanması, östrojen reseptörlerine olan afinitesinden az olsa da; yardımcı baskılayıcı mediatör N-CoR (*the Nuclear receptor Co-Repressor*)'u devreye alarak tiroid hormon reseptör ilişkili gen ekspresyonunu azaltır ve etkisini düşük dozda da olsa göstermiş olur.

BPA, glukukokortikoid reseptörlerine bağlanıp agonist etki yapmaktadır. Ayrıca BPA'ya maruziyetin epigenomik değişiklik yaptığı tespit edilmiştir. BPA bu etkisini DNA metilasyonunu değiştirerek yapmaktadır. Araştırmacılar BPA'nın oluşturduğu

epigenomik değişikliklerin, endokrin bozucu etkilerinin genel mekanizmasına dair fikir verebileceğini belirtmektedir (177).

BPS maruziyeti sonrası serotonin, glutamin, glisin ve taurin gibi nörotransmitter seviyelerinde önemli derecede artış meydana gelmektedir. Özellikle glutamerjik sinaptik yolların aktivasyonu ile artan glutamin, BPS maruziyeti sonrası etkisi en belirgin olan nörotransmitterdir. BPS maruziyetine dair bilgi nörotransmitterler aracılığıyla hızlı bir şekilde barsak-beyin aksında iletilir. Bunun sonucunda nöroimmün sistem aracılığıyla barsakta bağışıklık savunması aktive edilir. IL-17, IFN- γ , TNF- α gibi salgılanan sitokinler barsak hücreleri arasında bulunan sıkı bağlantıları (*tight junction*) parçalar. Barsak bariyerinin bozulması ile inflamasyon iyice artar (178).

Çalışmamızda bisfenol A ve bisfenol S'nin Sprague-Dawley cinsi sıçanların kalın barsakları üzerindeki inflamatuvar etkileri, kan total kolesterol değerlerinde oluşturdıkları değişiklikler ve idrarda atımları karşılaştırılmıştır.

21 gün oral gavaj ile bisfenol analoglarına maruziyet neticesinde LC-MS/MS analizleri deneklerin idrarlarının hiç birinde BPS tespit etmemiştir (<1 ng/ml (ppb)). Bu durumun BPS'nin BPA'ya göre daha az biyo-yıkıma uğraması ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Mao ve arkadaşları, BPS metabolizmasını değerlendirmek için yaptıkları çalışmada bizim kullandığımız 0,5 ve 5 μ g/kg/gün BPS dozlarının aksine 500 μ g/kg/gün BPS dozunu tercih etmişlerdir. Bizim çalışmamızdaki esas amaç bisfenol A için Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (EFSA) tarafından belirlenen eşik değer dozları kullanarak bisfenol A ve S'nin etkilerini kıyas etmektir (98). BPS'nin etkisinin değerlendirilmesi için ileri çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Negatif kontrol (Grup 1), taşıyıcı kontrol (Grup 2) ve BPS deney gruplarının (Grup 5 ve 6) idrarlarında BPA tespit edilmesine enjektör ve idrar kapları gibi materyaller ile mısırözü yağının bisfenol A kontaminasyonunun yol açtığı düşünülmektedir.

Bahsedilen gruplar arası değişen miktarlarda BPA kontaminasyonun ise yardımcı materyallerin farklılığından ileri geldiği üzerinde durulmaktadır. Bu anlamda yardımcı materyallerin farklı planlandığı bir deney modeli ile ileri araştırmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Bunun yanı sıra düşük doz BPA verilen Grup 3'ün düzeltilmiş BPA verileri göz önünde bulundurulduğunda deney süresi boyunca birden fazla idrar analizi ile birlikte bisfenol A'nın ana atılım yolu olan feçeste bisfenol tetkikinin önem arz ettiği düşünülmektedir (147, 148).

Delwatta ve arkadaşlarının yaptığı araştırmaya göre 4-5 aylık dişi Sprague-Dawley sıçanların normal kan total kolesterol değerleri 45.20 ± 14.5 mg/dl olarak bulunmuştur (179). Bu durum mısırözü yağının total kolesterol değerlerini azalttığını ifade eden çalışmalarla uyumludur (180). Kan total kolesterol değerleri incelendiğinde, yalnızca %0,1 ethanollü mısırözü yağına maruz bırakılan taşıyıcı kontrol grubunda (Grup 2) total kolesterol değerlerinde azalma tespit edilmiştir. Bunun yanında BPA ve BPS'ye maruz bırakılan deney gruplarının total kolesterol değerlerinin artması bisfenol analoglarının aterosjenik etkilerini ifade etmesi açısından önemlidir (181, 182).

Erben Skorlaması sonuçlarına bakıldığında taşıyıcı kontrol grubu olan 2. grubun (Erben Skoru: 2) inflamasyonunun artması dikkat çekicidir. Arkasında yatan sebebi anlamak için daha fazla çalışma yapılmasına ihtiyaç vardır. Yüksek doz BPA'nın Grup 4 üzerinde belirgin inflamatuvar etkiye sahip olduğu (Erben Skoru: 3); yüksek doz BPS'nin düşük doz BPS'ye oranla Grup 6 üzerinde inflamasyonu artırdığı gözlenmiştir. Eşit dozajda BPS'nin ise BPA'ya göre kalın barsak üzerinde daha az inflamatuvar etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir.

6. SONUÇ

Yaptığımız çalışma neticesinde BPA'nın BPS'ye göre kalın barsak üzerinde daha fazla inflamatuvar etkisi olduğu tespit edilmiştir. Hem BPA hem BPS'nin total kolesterolü artırıcı etkileri gösterilmiştir. Çalışmamızda BPS'nin ana atılım yolu olan idrarda tespit edilmemesi, biyo-yıkımının BPA'ya göre ne denli az olduğunu göstermiştir. Bu durum BPS'nin kronik maruziyette vücutta birikimi ile ilgili endişeleri artırmıştır.

Araştırmamızın sonuçları günlük hayatta gıda sektöründen sağlık ürünlerine pek çok alanda BPA başta olmak üzere bisfenol analogları ile maruziyetin yaygın olduğunu göstermiştir. Bu anlamda bisfenol analoglarının kullanımına dair daha sıkı düzenlemelerin yapılması gerekmektedir. Avrupa Birliği'nde 2023'ün son çeyreğinde yürürlüğe girecek BPS toksisite sınıflandırmaları ile birlikte bisfenol türevlerinin kullanımına dair arayışın artarak devam edeceği söylenebilir. Sonuç olarak vücutta pro-inflamatuvar etkiye sahip bu endokrin bozucu kimyasal maddeler ile ilgili daha fazla çalışma yapılması gerekmektedir.

7. KAYNAKÇA

1. World Health Organization. Noncommunicable diseases 2022 [https://www.who.int/health-topics/noncommunicable-diseases#tab=tab_1].
2. Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med*. 2009;361(21):2066-78.
3. Baumgart DC, Carding SR. Inflammatory bowel disease: cause and immunobiology. *Lancet*. 2007;369(9573):1627-40.
4. M'Koma AE. Inflammatory bowel disease: an expanding global health problem. *Clin Med Insights Gastroenterol*. 2013;6:33-47.
5. Chen J, Pitmon E, Wang K. Microbiome, inflammation and colorectal cancer. *Seminars in Immunology*. 2017;32:43-53.
6. Brennan CA, Garrett WS. Gut Microbiota, Inflammation, and Colorectal Cancer. *Annual Review of Microbiology*. 2016;70(1):395-411.
7. Lucas C, Barnich N, Nguyen HTT. Microbiota, Inflammation and Colorectal Cancer. *International Journal of Molecular Sciences*. 2017;18(6):1310.
8. Wang K, Qiu L, Zhu J, Sun Q, Qu W, Yu Y, et al. Environmental contaminant BPA causes intestinal damage by disrupting cellular repair and injury homeostasis in vivo and in vitro. *Biomed Pharmacother*. 2021;137:111270.
9. Odenwald MA, Turner JR. The intestinal epithelial barrier: a therapeutic target? *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2017;14(1):9-21.
10. Brown CM, Dulloo AG, Montani J-P. Water-Induced Thermogenesis Reconsidered: The Effects of Osmolality and Water Temperature on Energy Expenditure after Drinking. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*. 2006;91(9):3598-602.
11. Abdulkareem SM. Physiological, biochemical, and hormonal changes in rats exposed to bottled water left in a hot car and the freezer. *Int J Environ Health Res*. 2021:1-12.
12. Braniste V, Jouault A, Gaultier E, Polizzi A, Buisson-Brenac C, Leveque M, et al. Impact of oral bisphenol A at reference doses on intestinal barrier function and sex differences after perinatal exposure in rats. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2010;107(1):448-53.

13. Yin F, Huang X, Lin X, Chan TF, Lai KP, Li R. Analyzing the synergistic adverse effects of BPA and its substitute, BHPF, on ulcerative colitis through comparative metabolomics. *Chemosphere*. 2022;287(Pt 2):132160.
14. Dietert RR. Misregulated inflammation as an outcome of early-life exposure to endocrine-disrupting chemicals. *Rev Environ Health*. 2012;27(2-3):117-31.
15. Liu Z, Lu Y, Zhong K, Wang C, Xu X. The associations between endocrine disrupting chemicals and markers of inflammation and immune responses: A systematic review and meta-analysis. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2022;234:113382.
16. Michalowicz J. Bisphenol A--sources, toxicity and biotransformation. *Environ Toxicol Pharmacol*. 2014;37(2):738-58.
17. Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon JP, Goeyens L, Lecomte P, et al. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. *Food Chem Toxicol*. 2012;50(10):3725-40.
18. DeLuca JA, Allred KF, Menon R, Riordan R, Weeks BR, Jayaraman A, et al. Bisphenol-A alters microbiota metabolites derived from aromatic amino acids and worsens disease activity during colitis. *Experimental Biology and Medicine*. 2018;243(10):864-75.
19. Legaki E, Gazouli M. Influence of environmental factors in the development of inflammatory bowel diseases. *World J Gastrointest Pharmacol Ther*. 2016;7(1):112-25.
20. Molodecky NA, Soon IS, Rabi DM, Ghali WA, Ferris M, Chernoff G, et al. Increasing incidence and prevalence of the inflammatory bowel diseases with time, based on systematic review. *Gastroenterology*. 2012;142(1):46-54.e42; quiz e30.
21. Sairenji T, Collins KL, Evans DV. An Update on Inflammatory Bowel Disease. *Prim Care*. 2017;44(4):673-92.
22. Malaisé Y, Lencina C, Placide F, Bacquié V, Cartier C, Olier M, et al. Oral exposure to bisphenols induced food intolerance and colitis in vivo by modulating immune response in adult mice. *Food Chem Toxicol*. 2020;146:111773.
23. Wang MH, Achkar JP. Gene-environment interactions in inflammatory bowel disease pathogenesis. *Curr Opin Gastroenterol*. 2015;31(4):277-82.

24. de Silva PS, Yang X, Korzenik JR, Goldman RH, Arheart KL, Caban-Martinez AJ. Association of urinary phenolic compounds, inflammatory bowel disease and chronic diarrheal symptoms: Evidence from the National Health and Nutrition Examination Survey. *Environ Pollut.* 2017;229:621-6.
25. Taniguchi K, Wu LW, Grivennikov SI, de Jong PR, Lian I, Yu FX, et al. A gp130-Src-YAP module links inflammation to epithelial regeneration. *Nature.* 2015;519(7541):57-62.
26. Barker N. Adult intestinal stem cells: critical drivers of epithelial homeostasis and regeneration. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2014;15(1):19-33.
27. Neurath MF. New targets for mucosal healing and therapy in inflammatory bowel diseases. *Mucosal Immunol.* 2014;7(1):6-19.
28. Bhattacharyya A, Chattopadhyay R, Mitra S, Crowe SE. Oxidative stress: an essential factor in the pathogenesis of gastrointestinal mucosal diseases. *Physiol Rev.* 2014;94(2):329-54.
29. Rezaie A, Parker RD, Abdollahi M. Oxidative stress and pathogenesis of inflammatory bowel disease: an epiphenomenon or the cause? *Dig Dis Sci.* 2007;52(9):2015-21.
30. Okumura R, Takeda K. Roles of intestinal epithelial cells in the maintenance of gut homeostasis. *Exp Mol Med.* 2017;49(5):e338.
31. Perez S, Talens-Visconti R, Rius-Perez S, Finamor I, Sastre J. Redox signaling in the gastrointestinal tract. *Free Radic Biol Med.* 2017;104:75-103.
32. Jiao N, Xu D, Qiu K, Wang L, Wang L, Piao X, et al. Restoring mitochondrial function and normalizing ROS-JNK/MAPK pathway exert key roles in glutamine ameliorating bisphenol A-induced intestinal injury. *FASEB J.* 2020;34(6):7442-61.
33. Enaud R, Hooks KB, Barre A, Barnette T, Hubert C, Massot M, et al. Intestinal inflammation in children with cystic fibrosis is associated with Crohn's-like microbiota disturbances. *Journal of clinical medicine.* 2019;8(5):645.
34. Diaz de Barboza G, Guizzardi S, Moine L, Tolosa de Talamoni N. Oxidative stress, antioxidants and intestinal calcium absorption. *World J Gastroenterol.* 2017;23(16):2841-53.

35. Wang K, Zhao Z, Ji W. Bisphenol A induces apoptosis, oxidative stress and inflammatory response in colon and liver of mice in a mitochondria-dependent manner. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. 2019;117:109182.
36. Kamaludin R, Rasdi Z, Othman MHD, Abdul Kadir SHS, Mohd Nor NS, Khan J, et al. Visible-Light Active Photocatalytic Dual Layer Hollow Fiber (DLHF) Membrane and Its Potential in Mitigating the Detrimental Effects of Bisphenol A in Water. *Membranes (Basel)*. 2020;10(2).
37. Andújar N, Gálvez-Ontiveros Y, Zafra-Gómez A, Rodrigo L, Álvarez-Cubero MJ, Aguilera M, et al. Bisphenol A Analogues in Food and Their Hormonal and Obesogenic Effects: A Review. *Nutrients*. 2019;11(9):2136.
38. García-Córcoles MT, Cipa M, Rodríguez-Gómez R, Rivas A, Olea-Serrano F, Vilchez JL, et al. Determination of bisphenols with estrogenic activity in plastic packaged baby food samples using solid-liquid extraction and clean-up with dispersive sorbents followed by gas chromatography tandem mass spectrometry analysis. *Talanta*. 2018;178:441-8.
39. Liao C, Kannan K. Concentrations and Profiles of Bisphenol A and Other Bisphenol Analogues in Foodstuffs from the United States and Their Implications for Human Exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. 2013;61(19):4655-62.
40. Liu X, Lee J, Ji K, Takeda S, Choi K. Potentials and mechanisms of genotoxicity of six pharmaceuticals frequently detected in freshwater environment. *Toxicology Letters*. 2012;211(1):70-6.
41. Ao J, Zhang Q, Tang W, Yuan T, Zhang J. A simple, rapid and sensitive method for the simultaneous determination of eighteen environmental phenols in human urine. *Chemosphere*. 2021;278:130494.
42. Brulport A, Lencina C, Chagnon MC, Le Corre L, Guzylack-Piriou L. Transgenerational effects on intestinal inflammation status in mice perinatally exposed to bisphenol S. *Chemosphere*. 2021;262:128009.
43. Liao C, Liu F, Guo Y, Moon H-B, Nakata H, Wu Q, et al. Occurrence of Eight Bisphenol Analogues in Indoor Dust from the United States and Several Asian Countries: Implications for Human Exposure. *Environmental Science & Technology*. 2012;46(16):9138-45.

44. Pelch K, Wignall JA, Goldstone AE, Ross PK, Blain RB, Shapiro AJ, et al. A scoping review of the health and toxicological activity of bisphenol A (BPA) structural analogues and functional alternatives. *Toxicology*. 2019;424:152235.
45. Skypala I. Adverse Food Reactions—An Emerging Issue for Adults. *Journal of the American Dietetic Association*. 2011;111(12):1877-91.
46. Turnbull JL, Adams HN, Gorard DA. Review article: the diagnosis and management of food allergy and food intolerances. *Alimentary Pharmacology & Therapeutics*. 2015;41(1):3-25.
47. Schug TT, Janesick A, Blumberg B, Heindel JJ. Endocrine disrupting chemicals and disease susceptibility. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 2011;127(3-5):204-15.
48. Kelsen JR, Sullivan KE. Inflammatory Bowel Disease in Primary Immunodeficiencies. *Current Allergy and Asthma Reports*. 2017;17(8):57.
49. Kaplan GG. The global burden of IBD: from 2015 to 2025. *Nat Rev Gastroenterol Hepatol*. 2015;12(12):720-7.
50. Burisch J, Jess T, Martinato M, Lakatos PL, EpiCom E. The burden of inflammatory bowel disease in Europe. *J Crohns Colitis*. 2013;7(4):322-37.
51. Ng SC, Shi HY, Hamidi N, Underwood FE, Tang W, Benchimol EI, et al. Worldwide incidence and prevalence of inflammatory bowel disease in the 21st century: a systematic review of population-based studies. *Lancet*. 2017;390(10114):2769-78.
52. Santiago M, Magro F, Correia L, Portela F, Ministro P, Lago P, et al. What forecasting the prevalence of inflammatory bowel disease may tell us about its evolution on a national scale. *Therapeutic Advances in Gastroenterology*. 2019;12:1756284819860044.
53. Herrinton LJ, Liu L, Lewis JD, Griffin PM, Allison J. Incidence and Prevalence of Inflammatory Bowel Disease in a Northern California Managed Care Organization, 1996–2002. *Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG*. 2008;103(8):1998-2006.
54. Bernstein CN, Wajda A, Svenson LW, MacKenzie A, Koehoorn M, Jackson M, et al. The Epidemiology of Inflammatory Bowel Disease in Canada: A Population-

Based Study. Official journal of the American College of Gastroenterology | ACG. 2006;101(7):1559-68.

55. Vignal C, Guilloteau E, Gower-Rousseau C, Body-Malapel M. Review article: Epidemiological and animal evidence for the role of air pollution in intestinal diseases. *Science of The Total Environment*. 2021;757:143718.

56. Frolkis A, Dieleman LA, Barkema HW, Panaccione R, Ghosh S, Fedorak RN, et al. Environment and the Inflammatory Bowel Diseases. *Canadian Journal of Gastroenterology*. 2013;27:102859.

57. Rondanelli M, Perdoni F, Infantino V, Faliva MA, Peroni G, Iannello G, et al. Volatile Organic Compounds as Biomarkers of Gastrointestinal Diseases and Nutritional Status. *Journal of Analytical Methods in Chemistry*. 2019;2019:7247802.

58. Ordás I, Eckmann L, Talamini M, Baumgart DC, Sandborn WJ. Ulcerative colitis. *The Lancet*. 2012;380(9853):1606-19.

59. Fries W, Comunale S. Ulcerative Colitis: Pathogenesis. *Current Drug Targets*. 2011;12(10):1373-82.

60. Jess T, Riis L, Jespersgaard C, Hougs L, Andersen PS, Orholm MK, et al. Disease concordance, zygosity, and NOD2/CARD15 status: follow-up of a population-based cohort of Danish twins with inflammatory bowel disease. *Am J Gastroenterol*. 2005;100(11):2486-92.

61. Gaya DR, Russell RK, Nimmo ER, Satsangi J. New genes in inflammatory bowel disease: lessons for complex diseases? *Lancet*. 2006;367(9518):1271-84.

62. Molodecky NA, Kaplan GG. Environmental risk factors for inflammatory bowel disease. *Gastroenterol Hepatol (N Y)*. 2010;6(5):339-46.

63. Loftus EV, Jr. Clinical epidemiology of inflammatory bowel disease: Incidence, prevalence, and environmental influences. *Gastroenterology*. 2004;126(6):1504-17.

64. Halfvarson J, Jess T, Magnuson A, Montgomery SM, Orholm M, Tysk C, et al. Environmental factors in inflammatory bowel disease: a co-twin control study of a Swedish-Danish twin population. *Inflamm Bowel Dis*. 2006;12(10):925-33.

65. Tezel A, Dokmeci G, Eskiocak M, Umit H, Soylu AR. Epidemiological features of ulcerative colitis in Trakya, Turkey. *J Int Med Res*. 2003;31(2):141-8.

66. Tozun N, Atug O, Imeryuz N, Hamzaoglu HO, Tiftikci A, Parlak E, et al. Clinical characteristics of inflammatory bowel disease in Turkey: a multicenter epidemiologic survey. *J Clin Gastroenterol*. 2009;43(1):51-7.
67. ÇAKIR ÖÖ. Bölgemizdeki inflamatuvar barsak hastalıkları tanılı olguların insidansı, demografik ve klinik özellikleri. *akademik gastroenteroloji dergisi*. 2019;18(2):49-58.
68. Rubin BS. Bisphenol A: An endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology*. 2011;127(1):27-34.
69. Vogel SA. The Politics of Plastics: The Making and Unmaking of Bisphenol A “Safety”. *American Journal of Public Health*. 2009;99(S3):S559-S66.
70. Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocr Rev*. 2009;30(1):75-95.
71. Chitra K, Latchoumycandane C, Mathur P. Effect of nonylphenol on the antioxidant system in epididymal sperm of rats. *Archives of Toxicology*. 2002;76(9):545-51.
72. Hernández-Rodríguez G, Zumbado M, Luzardo OP, Monterde JG, Blanco A, Boada LD. Multigenerational study of the hepatic effects exerted by the consumption of nonylphenol- and 4-octylphenol-contaminated drinking water in Sprague–Dawley rats. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 2007;23(1):73-81.
73. Ahmed Zaki MS, Haidara MA, Abdallaa AM, Mohammed H, Sideeg AM, Eid RA. Role of dietary selenium in alleviating bisphenol A toxicity of liver albino rats: Histological, ultrastructural, and biomarker assessments. *J Food Biochem*. 2021:e13725.
74. Anet A, Olakkaran S, Kizhakke Purayil A, Hunasanahally Puttaswamygowda G. Bisphenol A induced oxidative stress mediated genotoxicity in *Drosophila melanogaster*. *J Hazard Mater*. 2019;370:42-53.
75. Mason SA, Welch VG, Neratko J. Synthetic Polymer Contamination in Bottled Water. *Frontiers in Chemistry*. 2018;6.

76. Grasselli F, Baratta L, Baioni L, Bussolati S, Ramoni R, Grolli S, et al. Bisphenol A disrupts granulosa cell function. *Domest Anim Endocrinol*. 2010;39(1):34-9.
77. Becher R, Wellendorf H, Sakhi AK, Samuelsen JT, Thomsen C, Bølling AK, et al. Presence and leaching of bisphenol a (BPA) from dental materials. *Acta Biomaterialia Odontologica Scandinavica*. 2018;4(1):56-62.
78. Calafat AM, Ye X, Wong LY, Reidy JA, Needham LL. Exposure of the U.S. population to bisphenol A and 4-tertiary-octylphenol: 2003-2004. *Environ Health Perspect*. 2008;116(1):39-44.
79. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgarten FJR, Schoenfelder G. Urinary, Circulating, and Tissue Biomonitoring Studies Indicate Widespread Exposure to Bisphenol A. *Environmental Health Perspectives*. 2010;118(8):1055-70.
80. Ni Y, Hu L, Yang S, Ni L, Ma L, Zhao Y, et al. Bisphenol A impairs cognitive function and 5-HT metabolism in adult male mice by modulating the microbiota-gut-brain axis. *Chemosphere*. 2021;282:130952.
81. Flint S, Markle T, Thompson S, Wallace E. Bisphenol A exposure, effects, and policy: a wildlife perspective. *J Environ Manage*. 2012;104:19-34.
82. Mikołajewska K, Stragierowicz J, Gromadzińska J. Bisphenol A – Application, sources of exposure and potential risks in infants, children and pregnant women. *International Journal of Occupational Medicine and Environmental Health*. 2015;28(2):209-41.
83. Di Bella G, Ben Mansour H, Ben Tekaya A, Beltifa A, Potorti AG, Saiya E, et al. Plasticizers and BPA Residues in Tunisian and Italian Culinary Herbs and Spices. *Journal of Food Science*. 2018;83(6):1769-74.
84. Lo Turco V, Potorti AG, Ben Mansour H, Dugo G, Di Bella G. Plasticizers and BPA in spices and aromatic herbs of Mediterranean areas. *Natural Product Research*. 2020;34(1):87-92.
85. Valentino R, D'Esposito V, Ariemma F, Cimmino I, Beguinot F, Formisano P. Bisphenol A environmental exposure and the detrimental effects on human metabolic health: is it necessary to revise the risk assessment in vulnerable population? *Journal of Endocrinological Investigation*. 2016;39(3):259-63.

86. Mouneimne Y, Nasrallah M, Khoueiry-Zgheib N, Nasreddine L, Nakhoul N, Ismail H, et al. Bisphenol A urinary level, its correlates, and association with cardiometabolic risks in Lebanese urban adults. *Environmental Monitoring and Assessment*. 2017;189(10).
87. Rudel RA, Gray JM, Engel CL, Rawsthorne TW, Dodson RE, Ackerman JM, et al. Food packaging and bisphenol A and bis(2-ethyhexyl) phthalate exposure: findings from a dietary intervention. *Environ Health Perspect*. 2011;119(7):914-20.
88. Lorber M, Schechter A, Paepke O, Shropshire W, Christensen K, Birnbaum L. Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environ Int*. 2015;77:55-62.
89. Feng D, Zhang H, Jiang X, Zou J, Li Q, Mai H, et al. Bisphenol A exposure induces gut microbiota dysbiosis and consequent activation of gut-liver axis leading to hepatic steatosis in CD-1 mice. *Environ Pollut*. 2020;265(Pt A):114880.
90. Calafat AM, Weuve J, Ye X, Jia LT, Hu H, Ringer S, et al. Exposure to Bisphenol A and Other Phenols in Neonatal Intensive Care Unit Premature Infants. *Environmental Health Perspectives*. 2009;117(4):639-44.
91. Gerona RR, Woodruff TJ, Dickenson CA, Pan J, Schwartz JM, Sen S, et al. Bisphenol-A (BPA), BPA Glucuronide, and BPA Sulfate in Midgestation Umbilical Cord Serum in a Northern and Central California Population. *Environmental Science & Technology*. 2013;47(21):12477-85.
92. Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*. 2007;24(2):139-77.
93. Zhu M, Li Y, Niu Y, Li J, Qin Z. Effects of bisphenol A and its alternative bisphenol F on Notch signaling and intestinal development: A novel signaling by which bisphenols disrupt vertebrate development. *Environ Pollut*. 2020;263(Pt B):114443.
94. Chen D, Kannan K, Tan H, Zheng Z, Feng Y-L, Wu Y, et al. Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity—A Review. *Environmental Science & Technology*. 2016;50(11):5438-53.
95. Anjum S, Rahman S, Kaur M, Ahmad F, Rashid H, Ansari RA, et al. Melatonin ameliorates bisphenol A-induced biochemical toxicity in testicular mitochondria of mouse. *Food and Chemical Toxicology*. 2011;49(11):2849-54.

96. Ko A, Hwang MS, Park JH, Kang HS, Lee HS, Hong JH. Association between Urinary Bisphenol A and Waist Circumference in Korean Adults. *Toxicol Res.* 2014;30(1):39-44.
97. Kabir ER, Rahman MS, Rahman I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ Toxicol Pharmacol.* 2015;40(1):241-58.
98. Efsa Panel on Food Contact Materials EF, Processing A. Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal.* 2015;13(1):3978.
99. Heimeier RA, Das B, Buchholz DR, Shi Y-B. The Xenoestrogen Bisphenol A Inhibits Postembryonic Vertebrate Development by Antagonizing Gene Regulation by Thyroid Hormone. *Endocrinology.* 2009;150(6):2964-73.
100. Itoh K, Yaoi T, Fushiki S. Bisphenol A, an endocrine-disrupting chemical, and brain development. *Neuropathology.* 2012;32(4):447-57.
101. Porreca I, Ulloa-Severino L, Almeida P, Cuomo D, Nardone A, Falco G, et al. Molecular targets of developmental exposure to bisphenol A in diabetes: a focus on endoderm-derived organs. *Obesity Reviews.* 2017;18(1):99-108.
102. MacKay H, Abizaid A. A plurality of molecular targets: The receptor ecosystem for bisphenol-A (BPA). *Hormones and Behavior.* 2018;101:59-67.
103. Rouiller-Fabre V, Guerin MJ, N'Tumba-Byn T, Muczynski V, Moison D, Tourpin S, et al. Nuclear Receptors and Endocrine Disruptors in Fetal and Neonatal Testes: A Gapped Landscape. *Frontiers in Endocrinology.* 2015;6.
104. Rochester JR. Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reproductive Toxicology.* 2013;42:132-55.
105. Dobrzynska MM, Radzikowska J. Genotoxicity and reproductive toxicity of bisphenol A and X-ray/bisphenol A combination in male mice. *Drug Chem Toxicol.* 2013;36(1):19-26.
106. Richter CA, Birnbaum LS, Farabollini F, Newbold RR, Rubin BS, Talsness CE, et al. In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reprod Toxicol.* 2007;24(2):199-224.
107. Siracusa JS, Yin L, Measel E, Liang S, Yu X. Effects of bisphenol A and its analogs on reproductive health: A mini review. *Reproductive Toxicology.* 2018;79:96-123.

108. Ooe H, Taira T, Iguchi-Ariga SM, Ariga H. Induction of reactive oxygen species by bisphenol A and abrogation of bisphenol A-induced cell injury by DJ-1. *Toxicol Sci.* 2005;88(1):114-26.
109. Xia W, Jiang Y, Li Y, Wan Y, Liu J, Ma Y, et al. Early-life exposure to bisphenol a induces liver injury in rats involvement of mitochondria-mediated apoptosis. *PLoS One.* 2014;9(2):e90443.
110. Goodson WH, 3rd, Lowe L, Carpenter DO, Gilbertson M, Manaf Ali A, Lopez de Cerain Salsamendi A, et al. Assessing the carcinogenic potential of low-dose exposures to chemical mixtures in the environment: the challenge ahead. *Carcinogenesis.* 2015;36 Suppl 1:S254-96.
111. Rezg R, El-Fazaa S, Gharbi N, Mornagui B. Bisphenol A and human chronic diseases: Current evidences, possible mechanisms, and future perspectives. *Environment International.* 2014;64:83-90.
112. Bhan A, Hussain I, Ansari KI, Bobzean SAM, Perrotti LI, Mandal SS. Bisphenol-A and diethylstilbestrol exposure induces the expression of breast cancer associated long noncoding RNA HOTAIR in vitro and in vivo. *The Journal of Steroid Biochemistry and Molecular Biology.* 2014;141:160-70.
113. Trevino LS, Katz TA. Endocrine Disruptors and Developmental Origins of Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Endocrinology.* 2018;159(1):20-31.
114. Malaisé Y, Menard S, Cartier C, Gaultier E, Lasserre F, Lencina C, et al. Gut dysbiosis and impairment of immune system homeostasis in perinatally-exposed mice to Bisphenol A precede obese phenotype development. *Scientific Reports.* 2017;7(1):14472.
115. Carwile JL, Michels KB. Urinary bisphenol A and obesity: NHANES 2003-2006. *Environ Res.* 2011;111(6):825-30.
116. Hwang S, Lim J-e, Choi Y, Jee SH. Bisphenol A exposure and type 2 diabetes mellitus risk: a meta-analysis. *BMC Endocrine Disorders.* 2018;18(1):81.
117. Brent RL. Bisphenol A and obesity in children and adolescents. *JAMA.* 2013;309(2):134.
118. Wang T, Li M, Chen B, Xu M, Xu Y, Huang Y, et al. Urinary Bisphenol A (BPA) Concentration Associates with Obesity and Insulin Resistance. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism.* 2012;97(2):E223-E7.

119. Milic N, Cetojevic-Simin D, Milanovic M, Sudji J, Milosevic N, Curic N, et al. Estimation of in vivo and in vitro exposure to bisphenol A as food contaminant. *Food Chem Toxicol.* 2015;83:268-74.
120. Gayrard V, Lacroix MZ, Grandin FC, Collet SH, Mila H, Viguié C, et al. Oral Systemic Bioavailability of Bisphenol A and Bisphenol S in Pigs. *Environmental Health Perspectives.* 2019;127(7):077005.
121. Takai Y, Tsutsumi O, Ikezuki Y, Hiroi H, Osuga Y, Momoeda M, et al. Estrogen receptor-mediated effects of a xenoestrogen, bisphenol A, on preimplantation mouse embryos. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000;270(3):918-21.
122. Hunt PA, Lawson C, Gieske M, Murdoch B, Smith H, Marre A, et al. Bisphenol A alters early oogenesis and follicle formation in the fetal ovary of the rhesus monkey. *Proceedings of the National Academy of Sciences.* 2012;109(43):17525-30.
123. Ranjit N, Siefert K, Padmanabhan V. Bisphenol-A and disparities in birth outcomes: a review and directions for future research. *J Perinatol.* 2010;30(1):2-9.
124. Zeevi D, Korem T, Godneva A, Bar N, Kurilshikov A, Lotan-Pompan M, et al. Structural variation in the gut microbiome associates with host health. *Nature.* 2019;568(7750):43-8.
125. Gentile CL, Weir TL. The gut microbiota at the intersection of diet and human health. *Science.* 2018;362(6416):776-80.
126. Jin Y, Wu S, Zeng Z, Fu Z. Effects of environmental pollutants on gut microbiota. *Environ Pollut.* 2017;222:1-9.
127. Lai K-P, Chung Y-T, Li R, Wan H-T, Wong CK-C. Bisphenol A alters gut microbiome: Comparative metagenomics analysis. *Environmental Pollution.* 2016;218:923-30.
128. Xu J, Huang G, Nagy T, Guo TL. Bisphenol A alteration of type 1 diabetes in non-obese diabetic (NOD) female mice is dependent on window of exposure. *Archives of Toxicology.* 2019;93(4):1083-93.
129. Braniste V, Audebert M, Zalko D, Houdeau E. Bisphenol A in the Gut: Another Break in the Wall? In: Bourguignon J-P, Jégou B, Kerdelhué B, Toppari J, Christen Y, editors. *Multi-System Endocrine Disruption.* Berlin, Heidelberg: Springer Berlin Heidelberg; 2011. p. 127-44.

130. Feng L, Chen S, Zhang L, Qu W, Chen Z. Bisphenol A increases intestinal permeability through disrupting intestinal barrier function in mice. *Environmental Pollution*. 2019;254:112960.
131. Menard S, Guzylack-Piriou L, Leveque M, Braniste V, Lencina C, Naturel M, et al. Food intolerance at adulthood after perinatal exposure to the endocrine disruptor bisphenol A. *The FASEB Journal*. 2014;28(11):4893-900.
132. Dietert RR, Zelikoff JT. Early-life environment, developmental immunotoxicology, and the risk of pediatric allergic disease including asthma. *Birth Defects Research Part B: Developmental and Reproductive Toxicology*. 2008;83(6):547-60.
133. Bansal A, Rashid C, Xin F, Li C, Polyak E, Duemler A, et al. Sex- and Dose-Specific Effects of Maternal Bisphenol A Exposure on Pancreatic Islets of First- and Second-Generation Adult Mice Offspring. *Environ Health Perspect*. 2017;125(9):097022.
134. Spanier AJ, Kahn RS, Kunselman AR, Hornung R, Xu Y, Calafat AM, et al. Prenatal exposure to bisphenol A and child wheeze from birth to 3 years of age. *Environ Health Perspect*. 2012;120(6):916-20.
135. Trasande L, Attina TM, Blustein J. Association between urinary bisphenol A concentration and obesity prevalence in children and adolescents. *Jama*. 2012;308(11):1113-21.
136. Reddivari L, Veeramachaneni DNR, Walters WA, Lozupone C, Palmer J, Hewage MKK, et al. Perinatal Bisphenol A Exposure Induces Chronic Inflammation in Rabbit Offspring via Modulation of Gut Bacteria and Their Metabolites. *mSystems*. 2017;2(5):e00093-17.
137. Malaisé Y, Ménard S, Cartier C, Lencina C, Sommer C, Gaultier E, et al. Consequences of bisphenol a perinatal exposure on immune responses and gut barrier function in mice. *Archives of Toxicology*. 2018;92(1):347-58.
138. Ménard S, Guzylack-Piriou L, Lencina C, Leveque M, Naturel M, Sekkal S, et al. Perinatal exposure to a low dose of bisphenol A impaired systemic cellular immune response and predisposes young rats to intestinal parasitic infection. *PLoS One*. 2014;9(11):e112752.

139. Sun Y, Nakashima MN, Takahashi M, Kuroda N, Nakashima K. Determination of bisphenol A in rat brain by microdialysis and column switching high-performance liquid chromatography with fluorescence detection. *Biomedical Chromatography*. 2002;16(5):319-26.
140. Zhou Y, Wang Z, Xia M, Zhuang S, Gong X, Pan J, et al. Neurotoxicity of low bisphenol A (BPA) exposure for young male mice: Implications for children exposed to environmental levels of BPA. *Environmental Pollution*. 2017;229:40-8.
141. Peretz J, Vrooman L, Ricke WA, Hunt PA, Ehrlich S, Hauser R, et al. Bisphenol A and Reproductive Health: Update of Experimental and Human Evidence, 2007–2013. *Environmental Health Perspectives*. 2014;122(8):775-86.
142. Wassenaar PNH, Trasande L, Legler J. Systematic Review and Meta-Analysis of Early-Life Exposure to Bisphenol A and Obesity-Related Outcomes in Rodents. *Environmental Health Perspectives*. 2017;125(10):106001.
143. Rubin BS, Soto AM. Bisphenol A: Perinatal exposure and body weight. *Molecular and Cellular Endocrinology*. 2009;304(1):55-62.
144. Ma Y, Liu H, Wu J, Yuan L, Wang Y, Du X, et al. The adverse health effects of bisphenol A and related toxicity mechanisms. *Environ Res*. 2019;176:108575.
145. European Food Safety A. Bisphenol A 2023 [<https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol>].
146. Pouokam GB, Ajaezi GC, Mantovani A, Orisakwe OE, Frazzoli C. Use of Bisphenol A-containing baby bottles in Cameroon and Nigeria and possible risk management and mitigation measures: community as milestone for prevention. *Science of The Total Environment*. 2014;481:296-302.
147. Gerona RR, Pan J, Zota AR, Schwartz JM, Friesen M, Taylor JA, et al. Direct measurement of Bisphenol A (BPA), BPA glucuronide and BPA sulfate in a diverse and low-income population of pregnant women reveals high exposure, with potential implications for previous exposure estimates: a cross-sectional study. *Environ Health*. 2016;15:50.
148. Mao W, Mao L, Zhao N, Zhang Y, Zhao M, Jin H. Disposition of Bisphenol S metabolites in Sprague-Dawley rats. *Sci Total Environ*. 2022;811:152288.

149. Wang Z, Liu H, Liu S. Low-Dose Bisphenol A Exposure: A Seemingly Instigating Carcinogenic Effect on Breast Cancer. *Advanced Science*. 2017;4(2):1600248.
150. Xiao C, Wang L, Zhou Q, Huang X. Hazards of bisphenol A (BPA) exposure: A systematic review of plant toxicology studies. *Journal of Hazardous Materials*. 2020;384:121488.
151. Zhang Z, Hu Y, Guo J, Yu T, Sun L, Xiao X, et al. Fluorene-9-bisphenol is anti-oestrogenic and may cause adverse pregnancy outcomes in mice. *Nature Communications*. 2017;8(1):14585.
152. Jia Z, Wang H, Feng Z, Zhang S, Wang L, Zhang J, et al. Fluorene-9-bisphenol exposure induces cytotoxicity in mouse oocytes and causes ovarian damage. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2019;180:168-78.
153. Yang L, Guo X, Mao X, Jia X, Zhou Y, Hu Y, et al. Hepatic toxicity of fluorene-9-bisphenol (BHPF) on CD-1 mice. *Ecotoxicology and environmental safety*. 2021;219:112298.
154. Lotti N, Colonna M, Fiorini M, Finelli L, Berti C. Poly(butylene terephthalate) modified with ethoxylated bisphenol S with increased glass transition temperature and improved thermal stability. *Polymer*. 2011;52(4):904-11.
155. Kitamura S, Suzuki T, Sanoh S, Kohta R, Jinno N, Sugihara K, et al. Comparative Study of the Endocrine-Disrupting Activity of Bisphenol A and 19 Related Compounds. *Toxicological Sciences*. 2005;84(2):249-59.
156. Chen M, Zhu P, Xu B, Zhao R, Qiao S, Chen X, et al. Determination of Nine Environmental Phenols in Urine by Ultra-High-Performance Liquid Chromatography–Tandem Mass Spectrometry. *Journal of Analytical Toxicology*. 2012;36(9):608-15.
157. Björnsdotter MK, de Boer J, Ballesteros-Gómez A. Bisphenol A and replacements in thermal paper: A review. *Chemosphere*. 2017;182:691-706.
158. Goldinger DM, Demierre A-L, Zoller O, Rupp H, Reinhard H, Magnin R, et al. Endocrine activity of alternatives to BPA found in thermal paper in Switzerland. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*. 2015;71(3):453-62.
159. Sogorb MA, Estévez J, Vilanova E. Case study: Is bisphenol S safer than bisphenol A in thermal papers? *Archives of Toxicology*. 2019;93(7):1835-52.

160. Ivry Del Moral L, Le Corre L, Poirier H, Niot I, Truntzer T, Merlin JF, et al. Obesogen effects after perinatal exposure of 4,4'-sulfonyldiphenol (Bisphenol S) in C57BL/6 mice. *Toxicology*. 2016;357-358:11-20.
161. European Chemicals Agency. Bisphenols 2023 [<https://echa.europa.eu/hot-topics/bisphenols>].
162. Molina-Molina J-M, Amaya E, Grimaldi M, Sáenz J-M, Real M, Fernández MF, et al. In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. *Toxicology and Applied Pharmacology*. 2013;272(1):127-36.
163. Kojima H, Takeuchi S, Sanoh S, Okuda K, Kitamura S, Uramaru N, et al. Profiling of bisphenol A and eight of its analogues on transcriptional activity via human nuclear receptors. *Toxicology*. 2019;413:48-55.
164. Viñas R, Watson CS. Bisphenol S disrupts estradiol-induced nongenomic signaling in a rat pituitary cell line: effects on cell functions. *Environ Health Perspect*. 2013;121(3):352-8.
165. Cabaton NJ, Canlet C, Wadia PR, Tremblay-Franco M, Gautier R, Molina J, et al. Effects of Low Doses of Bisphenol A on the Metabolome of Perinatally Exposed CD-1 Mice. *Environmental Health Perspectives*. 2013;121(5):586-93.
166. Corbel T, Gayraud V, Puel S, Lacroix MZ, Berrebi A, Gil S, et al. Bidirectional placental transfer of Bisphenol A and its main metabolite, Bisphenol A-Glucuronide, in the isolated perfused human placenta. *Reproductive Toxicology*. 2014;47:51-8.
167. Fiege H, Voges H-W, Hamamoto T, Umemura S, Iwata T, Miki H, et al. Phenol Derivatives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry* 2000.
168. Rochester JR, Bolden AL. Bisphenol S and F: A Systematic Review and Comparison of the Hormonal Activity of Bisphenol A Substitutes. *Environmental Health Perspectives*. 2015;123(7):643-50.
169. Fic A, Žegura B, Dolenc MS, Filipič M, Mašič LP. Mutagenicity and DNA Damage of Bisphenol a and its Structural Analogues in Hepg2 Cells. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*. 2013;64(2):189-200.
170. Cao XL, Kosarac I, Popovic S, Zhou S, Smith D, Dabeka R. LC-MS/MS analysis of bisphenol S and five other bisphenols in total diet food samples. *Food Addit Contam Part A Chem Anal Control Expo Risk Assess*. 2019;36(11):1740-7.

171. Wozniak S, Pytrus T, Kobierzycki C, Grabowski K, Paulsen F. The large intestine from fetal period to adulthood and its impact on the course of colonoscopy. *Ann Anat.* 2019;224:17-22.
172. Kostouros A, Koliarakis I, Natsis K, Spandidos DA, Tsatsakis A, Tsiaoussis J. Large intestine embryogenesis: Molecular pathways and related disorders (Review). *Int J Mol Med.* 2020;46(1):27-57.
173. Hryn VH, Kostylenko YP, Yushchenko YP, Lavrenko AV, Ryabushko OB. General comparative anatomy of human and white rat digestive systems: a bibliographic analysis. *Wiad Lek.* 2018;71(8):1599-602.
174. Mowat AM, Agace WW. Regional specialization within the intestinal immune system. *Nat Rev Immunol.* 2014;14(10):667-85.
175. Levine DS, Haggitt RC. Normal histology of the colon. *Am J Surg Pathol.* 1989;13(11):966-84.
176. Erben U, Loddenkemper C, Doerfel K, Spieckermann S, Haller D, Heimesaat MM, et al. A guide to histomorphological evaluation of intestinal inflammation in mouse models. *International Journal of Clinical and Experimental Pathology.* 2014;7(8):4557-76.
177. Rubin BS. Bisphenol A: an endocrine disruptor with widespread exposure and multiple effects. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2011;127(1-2):27-34.
178. Ao J, Liu Y, Tang W, Zhang J. Bisphenol S exposure induces intestinal inflammation: An integrated metabolomic and transcriptomic study. *Chemosphere.* 2022;292:133510.
179. Delwatta SL, Gunatilake M, Baumans V, Seneviratne MD, Dissanayaka MLB, Batagoda SS, et al. Reference values for selected hematological, biochemical and physiological parameters of Sprague-Dawley rats at the Animal House, Faculty of Medicine, University of Colombo, Sri Lanka. *Animal Model Exp Med.* 2018;1(4):250-4.
180. Maki KC, Lawless AL, Kelley KM, Kaden VN, Geiger CJ, Palacios OM, et al. Corn oil intake favorably impacts lipoprotein cholesterol, apolipoprotein and lipoprotein particle levels compared with extra-virgin olive oil. *European Journal of Clinical Nutrition.* 2017;71(1):33-8.

181. Guru A, Arockiaraj J. Exposure to environmental pollutant bisphenol A causes oxidative damage and lipid accumulation in Zebrafish larvae: Protective role of WL15 peptide derived from cysteine and glycine-rich protein 2. *J Biochem Mol Toxicol.* 2023;37(1):e23223.
182. Pal S, Sarkar K, Nath PP, Mondal M, Khatun A, Paul G. Bisphenol S impairs blood functions and induces cardiovascular risks in rats. *Toxicol Rep.* 2017;4:560-5.

