

**GÜNEŞ KORUYUCU ETKEN MADDESİ
OLAN OKSİBENZON VE ANA
METABOLİTİ BENZOFENON-1'İN TM3
LEYDİĞ HÜCRELERİNDE POTANSİYEL
TOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Yüksek Lisans Tezi

Sena ERGÜN

Eskişehir 2025

**GÜNEŞ KORUYUCU ETKEN MADDESİ OLAN OKSİBENZON VE ANA
METABOLİTİ BENZOFENON-1'İN TM3 LEYDİĞ HÜCRELERİNDE
POTANSİYEL TOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Sena ERGÜN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı

Farmasötik Toksikoloji Programı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Merve BAYSAL

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü

Aralık 2025

Eskişehir

***Bu tez çalışması Anadolu Üniversitesi, Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon
Birimi Koordinatörlüğü tarafından TYL-2024-2600 proje numarası ile
desteklenmiştir.***

JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI

Sena ERGÜN'ın "Güneş Koruyucu Etken Maddesi olan Oksibenzon ve Ana Metaboliti Benzofenon 1'in TM3 Leydig Hücrelerinde Potansiyel Toksik Etkilerinin İncelenmesi" başlıklı tezi **22 Aralık 2025** tarihinde, aşağıdaki jüri tarafından Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca **Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı Farmasötik Toksikoloji programında, yüksek lisans tezi** olarak değerlendirilerek kabul edilmiştir.

Üye(Tez Danışmanı) : **Dr.Öğr.Üy. Merve BAYSAL**

Üye :**Prof. Dr. Özlem ATLI EKLİOĞLU**

Üye :**Doç. Dr. Seher KARSLI**

Prof. Dr. Nafiz Öncü CAN

Anadolu Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim Enstitüsü Müdürü

ÖZET

GÜNEŞ KORUYUCU ETKEN MADDESİ OLAN OKSİBENZON VE ANA METABOLİTİ BENZOFENON-1'İN TM3 LEYDİĞ HÜCRELERİNDE POTANSİYEL TOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

Sena ERGÜN

Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı

Farmasötik Toksikoloji Yüksek Lisans Programı

Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Aralık 2025

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Merve BAYSAL

Güneş koruyucu kullanımı son yıllarda artış göstermiştir. Ancak bu artış hem çevre hem de insan sağlığı için endişeleri beraberinde getirmektedir. Bazı ultraviyole filtrelerin sucul ekosistemlerde zararlı etkilere yol açtığı ve organizmalarda endokrin bozucu aktivite gösterebildiği bildirilmiştir. Son yıllarda erkek fertilité düzeylerinde belirgin bir azalma gözlenmiştir ve bu düşüşün nedenlerinden birinin çevresel kirleticilerin endokrin bozucu etkileri olduğu düşünülmektedir. Kimyasal bir ultraviyole filtre olan oksibenzon diğer adıyla benzofenon-3 genellikle güneş koruyucularda ve kozmetiklerde kullanılmaktadır. Deriden absorbe olarak kan dolaşımına geçtiği bilinmektedir ve ana metaboliti benzofenon-1'dir. Bu çalışmada TM3 fare Leydig hücrelerinde oksibenzon ve benzofenon-1'in sitotoksitesi MTT ve nötral kırmızı yöntemiyle değerlendirilmiştir. Comet yöntemiyle DNA hasarı oluşturma potansiyelleri değerlendirilmiştir. Reaktif oksijen türevleri oluşturma seviyeleri ve testosteron düzeyleri ölçülmüştür. Sonuçlar, benzofenon-1'in TM3 hücrelerinde benzofenon-3'e kıyasla daha güçlü sitotoksik ve oksidatif yanıtlar oluşturabileceğini, ancak incelenen deneysel koşullar altında iki bileşiğin de DNA bütünlüğü ve testosteron düzeylerini anlamlı biçimde etkilemediğini ortaya koymuştur.

Anahtar Sözcükler: Benzofenon-3, Benzofenon-1, Güneş koruyucu, Toksisite, Erkek üreme sistemi.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE POTENTIALLY TOXIC EFFECTS OF OXYBENZONE SUNSCREEN ACTIVE INGREDIENT AND ITS MAIN METABOLITE BENZOPHENONE-1 ON TM3 LEYDIG CELLS

Sena ERGÜN

Department of Pharmaceutical Toxicology

Programme in Pharmaceutical Toxicology

Graduate School of Anadolu University, December 2025

Supervisor: Asst. Prof. Merve BAYSAL

The use of sunscreen has increased in recent years. However, this increase has raised concerns for both the environment and human health. Some ultraviolet filters cause damage in aquatic environments and exhibit endocrine-disrupting activity in living organisms. A decline in male fertility levels has been observed in recent years, and it is assumed that one of the reasons for this decline is the endocrine-disrupting activities of environmental pollutants. Oxybenzone, also known as benzophenone-3, a chemical ultraviolet filter, is commonly used in sunscreens and cosmetics. It is absorbed through the skin and enters the bloodstream, and its main metabolite is benzophenone-1. In this study, the cytotoxicity of oxybenzone and benzophenone-1 in TM3 mouse Leydig cells was evaluated using the MTT and neutral red methods. Their potential to cause DNA damage was assessed using the comet assay. Levels of reactive oxygen species formation and testosterone levels were measured. The findings indicate that benzophenone-1 may elicit stronger cytotoxic and oxidative responses in TM3 cells compared to benzophenone-3; however, under the experimental conditions evaluated, neither compound exerted a significant effect on DNA integrity or testosterone levels.

Keywords: Benzophenone-3, Benzophenone-1, Sunscreen, Toxicity, Male reproductive system.

TEŞEKKÜR

Bana yol gösteren, her konuda yardımcı olan, hiçbir desteğini esirgemeyen ve bu tez çalışması üzerinde çok emeği olan sevgili danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Merve Baysal'a,

Yüksek lisans eğitimim sürecince ders dönemindeki ve tez dönemindeki tüm destekleri için Anadolu Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri ve kendilerinden ders aldığım kıymetli hocalarım Prof. Dr. Bülent Ergun'e, Prof. Dr. Sinem Ilgın'a, Prof. Dr. Özlem Atlı Eklioğlu'na, Prof. Dr. Ayşe Tansu Koparal'a, Dr. Öğr. Üyesi Abdullah Burak Karaduman'a, Öğr. Görevlisi Büşra Korkut Çelikates'e, Araş. Gör. Merve Güven'e ve değerli Anadolu Üniversitesi Eczacılık Fakültesi öğretim üyelerine,

Tüm destekleri için Marmara Üniversitesi Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı öğretim üyeleri Doç. Dr. Seher Karşı'ya, Dr. Öğr. Üyesi Ayfer Beceren'e, Dr. Öğr. Üyesi Tuğçe Yeşil'e, Araş. Görevlisi Uluç Göktuğ Çiftçi'ye ve tüm kıymetli Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi'ndeki hocalarıma,

Desteklerini esirgemeyen ve hep yanımda olan aileme ve arkadaşlarıma teşekkür ederim.

22/12/2025

ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ

Bu tezin bana ait, özgün bir çalışma olduğunu; çalışmamın hazırlık, veri toplama, analiz ve bilgilerin sunumu olmak üzere tüm aşamalarında bilimsel etik ilke ve kurallara uygun davrandığımı; bu çalışma kapsamında elde edilen tüm veri ve bilgiler için kaynak gösterdiğimi ve bu kaynaklara kaynakçada yer verdiğimi; bu çalışmanın Anadolu Üniversitesi tarafından kullanılan “Bilimsel İntihal Tespit Programı”yla tarandığını ve hiçbir şekilde “intihal içermediğini” beyan ederim. Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun saptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Sena ERGÜN

22/12/2025

ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ

Bu tez çalışmasının hazırlanmasında, yürütülmesinde, verilerin analizinde Etik Kurul İzni'ne gerek yoktur.

Sena ERGÜN



22/12/2025

ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI

Bu tezi hazırlarken ChatGPT ve DeepL üretken yapay zekâ programlarından destek aldığımı beyan ederim. Tezin hazırlığı aşamasında üretken yapay zekâ programlarından çeviri ve Türkçe'nin iyileştirilmesi desteği aldım. Üretken yapay zekâ programlarından aldığım bilgilerin doğruluğunu kontrol ettiğimi bildiririm.

Herhangi bir zamanda, çalışmamla ilgili yaptığım bu beyana aykırı bir durumun aptanması durumunda, ortaya çıkacak tüm ahlaki ve hukuki sonuçları kabul ettiğimi bildiririm.

Sena ERGÜN

İÇİNDEKİLER

Sayfa

BAŞLIK SAYFASI.....	i
JÜRİ VE ENSTİTÜ ONAYI	ii
ÖZET	iii
ABSTRACT.....	iv
TEŞEKKÜR	v
ETİK İLKE VE KURALLARA UYGUNLUK BEYANNAMESİ	vi
ETİK KURUL BELGESİ BEYANNAMESİ	vii
ÜRETKEN YAPAY ZEKÂ KULLANIM BEYANI.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
TABLolar DİZİNİ	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	xiv
GÖRSELLER DİZİNİ	xv
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xvi
1 GİRİŞ VE AMAÇ	1
2 ALAN YAZIN	3
2.1 Erkek Üreme Sistemi	3
2.1.1 Erkek üreme sistemi toksisitesi	4
2.2 Endokrin Bozucular.....	5
2.3 Güneş ve UV Işınları.....	6
2.4 Güneş Maruziyetinin Zararlı Etkileri.....	7
2.5 Güneşten Korunma Yöntemleri.....	8
2.5.1 Fiziksel korunma: Kıyafet ve gölgeleme	8

2.5.2 Kimyasal korunma: Güneş koruyucu ürünler	8
2.6 UV filtreler	9
2.6.1 İnorganik UV filtreler	9
2.6.2 Organik UV filtreler	10
2.6.2.1 Benzofenon türevleri ve yapısal analogları.....	12
2.7 Benzofenon-3 ve Benzofenon-1	12
2.7.1 Toksikokinetik özellikler	14
2.7.2 Çevreye olan etkileri.....	15
2.7.3 İnsan sağlığı üzerine etkiler	16
2.7.3.1 Maruziyet düzeyleri ve klinik bulgular.....	16
2.7.3.2 <i>İn vitro</i> ve <i>in vivo</i> toksisite bulguları.....	18
3 MATERYAL VE METOT	22
3.1 Kullanılan Materyaller	22
3.1.1 Kimyasal maddeler.....	22
3.1.2 Cihaz ve ekipmanlar	23
3.1.3 Hücre hattı	24
3.1.4 Çözeltiler	25
3.1.4.1 Hücre kültürü için kullanılan çözeltiler.....	25
3.1.4.1.1 Besiyeri hazırlanması.....	25
3.1.4.1.2 Fosfat tamponu hazırlanması	25
3.1.4.1.3 Tripsin-EDTA çözeltisi	25
3.1.4.2 MTT yönteminde kullanılan çözeltiler.....	25
3.1.4.3 Nötral kırmızı alım testinde kullanılan çözeltiler	25

3.1.4.4	Reaktif oksijen türevleri oluşumunun ölçülmesinde kullanılan çözeltiler.....	26
3.1.4.5	Comet yönteminde kullanılan çözeltiler	26
3.1.4.6	Testosteron düzeyinin ölçülmesinde kullanılan çözeltiler	27
3.2	Metot.....	27
3.2.1	Hücre kültürü uygulamaları	27
3.2.1.1	Stok hücrelerin açılması	27
3.2.1.2	Pasaj işlemi	28
3.2.2	Konsantrasyon belirleme	28
3.2.3	Hücre canlılığının belirlenmesi deneyleri.....	29
3.2.3.1	MTT testi	29
3.2.3.2	Nötral kırmızı alım testi	30
3.2.4	Reaktif oksijen türevleri ölçümü.....	31
3.2.5	Comet yöntemi.....	32
3.2.6	Testosteron düzeyi ölçümü.....	33
3.2.7	İstatistiksel analiz	34
4	BULGULAR.....	35
4.1	Hücre Canlılığı Bulguları	35
4.1.1	MTT deneyi bulguları	35
4.1.2	Nötral kırmızı alım testi bulguları	38
4.2	Reaktif Oksijen Türevi Bulguları	41
4.3	DNA Hasarı Bulguları.....	42
4.4	Testosteron Düzeyleri.....	45
5	SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER.....	47
5.1	Sonuç	47

5.2 Tartışma	47
5.3 Öneriler	53
KAYNAKÇA	54
ÖZGEÇMİŞ	



TABLÖLAR DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1 Endokrin Bozucu Kimyasal Kaynakları ve Örnekler.....	6
Tablo 4.1 Reaktif Oksijen Türevi Bulguları Tablosu	41
Tablo 4.2 DNA Hasarı Bulguları Tablosu	43
Tablo 4.3 Testosteron Düzeyi Bulguları Tablosu	45



ŞEKİLLER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Şekil 2.1 Skrotum ve Testiküler Steroidogenez.....	3
Şekil 2.2 Benzofenon-3'ün Kimyasal Yapısı.....	12
Şekil 2.3 Benzofenon-1'in Kimyasal Yapısı.....	13
Şekil 3.1 Testosteron Düzeylerinin Hesaplanmasında Kullanılan Standart Grafiği....	34
Şekil 4.1 MTT BP-3 24 Saat Maruziyet Sonuçları.....	35
Şekil 4.2 MTT BP-3 48 Saat Maruziyet Sonuçları.....	36
Şekil 4.3 MTT BP-1 24 Saat Maruziyet Sonuçları.....	37
Şekil 4.4 MTT BP-1 48 Saat Maruziyet Sonuçları.....	37
Şekil 4.5 NKA Testi BP-3 24 Saat Maruziyet Sonuçları	38
Şekil 4.6 NKA Testi BP-3 48 Saat Maruziyet Sonuçları	39
Şekil 4.7 NKA Testi BP-1 24 Saat Maruziyet Sonuçları	40
Şekil 4.8 NKA Testi BP-1 48 Saat Maruziyet Sonuçları	40
Şekil 4.9 Reaktif Oksijen Türevleri Bulguları	42
Şekil 4.10 DNA Hasarı Bulguları	44
Şekil 4.11 Testosteron Düzeyi Bulguları	46

GÖRSELLER DİZİNİ

Sayfa

Görsel 2.1	Beyazlamış Beyin Mercanları ve Staghorn Mercanları (<i>Acropora cervicornis</i>) 11
Görsel 4.1	Farklı Düzeylerde DNA Hasarını Gösteren Comet Görüntüleri44



SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

53BP1	: p53 bağlanma proteini 1
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
BEMT	: Bis-etilheksiloksifenol metoksifenil triazin
BP-1	: Benzofenon-1
BP-3	: Benzofenon-3 (Oksibenzon)
BPA	: Bisfenol A
CDC	: Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention)
CO ₂	: Karbondioksit
DCF	: 2',7'-diklorofloresin
DCFDA	: 2',7'-diklorofloresin diasetat
DDT	: Dikloro-difenil-trikloroetan
DHHB	: Dietilamino hidroksibenzoil heksil benzoat
Disodyum EDTA	: Etilendiamintetraasetik asit
DMSO	: Dimetil sülfoksit
DPBS	: Ca ⁺² ve Mg ⁺² içermeyen fosfat tamponu çözeltisi
DSÖ	: Dünya Sağlık Örgütü
ECHA	: Avrupa Kimyasallar Ajansı (European Chemicals Agency)
ELISA	: Enzim Bağlantılı İmmunosorbent Testi (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)
ER α	: Östrojen reseptörü α

ER β	: Östrojen reseptörü β
FDA	: Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration)
FSH	: Folikül stimüle edici hormon
H ₂ O ₂	: Hidrojen peroksit
HRP	: Horseradish peroksidaz
İK ₁₀	: Hücre canlılığında %10 inhibisyona neden olan konsantrasyon
İK ₂₀	: Hücre canlılığında %20 inhibisyona neden olan konsantrasyon
İK ₃₀	: Hücre canlılığında %30 inhibisyona neden olan konsantrasyon
İK ₅₀	: Yarı maksimum inhibitör konsantrasyon
MBBT	: Metilen-bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol
MTT	: 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür
NaCl	: Sodyum klorür
NaOH	: Sodyum hidroksit
NHANES	: Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması (National Health and Nutrition Examination Survey)
NKA	: Nötral kırmızı alım
PBB	: Polibromlu bifeniller
PBS	: Fosfat tamponu
PCB	: Poliklorlu bifeniller
ROT	: Reaktif oksijen türevleri

SD	: Standart sapma
TBHP	: Tert-bütil hidroperoksit
TE	: Tris EDTA tamponu
TMB	: 3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin
UV	: Ultraviyole



1 GİRİŞ VE AMAÇ

Güneşten gelen ultraviyole (UV) ışınlar cilt kanserlerine, yaşlanmaya ve inflamasyona sebep olmaktadır (Tang vd., 2024). Son yıllarda bu konular hakkındaki bilinçlenme ile toplumda güneş koruyucu kullanımı artış göstermektedir. Ancak bu artış hem çevre hem de insan sağlığı için endişeleri beraberinde getirmektedir. Dünyanın farklı yerlerindeki göl, nehir, deniz gibi ortamlarda ve sucul organizmalarda yapılan çalışmalarda ng/l ve µg/l arasındaki konsantrasyonlarda UV filtre olduğu bulunmuştur. Mercan resiflerinin zarar görmesi sebebiyle Hawaii gibi bazı bölgelerde benzofenon-3 (oksibenzon, BP-3) ve oktinosat satışı yasaklanmıştır. Ayrıca organik UV filtreler lipofilik maddelerdir ve biyoakümülyasyon nedeniyle besin zincirine katılım söz konusudur (Suh vd., 2020; Shetty vd., 2023). Bazı çalışmalarda UV filtrelerin deriden geçerek insanlarda kan dolaşımına katıldığı gösterilmiştir (Jesus vd., 2022; Matta vd., 2020). Bu da toksisite oluşumu açısından bir potansiyel oluşturmaktadır.

Benzofenon-3 ve ana metaboliti benzofenon-1 (BP-1) güneş koruyucu ve kozmetiklerde kullanılan organik bir UV filtresidir. BP-3'ün deriden geçerek sistemik absorpsiyon yaptığı gösterilmiştir (Mustieles vd., 2023). Amerika Birleşik Devletleri Ulusal Sağlık ve Beslenme İnceleme Araştırması (National Health and Nutrition Examination Survey, NHANES) kapsamında yapılan testlerde 2517 kişiden alınan idrar örneklerinin yaklaşık %97'sinde BP-3'e rastlandığı bildirilmiştir (DiNardo ve Downs, 2018; Calafat vd., 2008). BP-3 hızlı bir şekilde benzofenon-1'e metabolize olmakta ve idrar ile atılmaktadır. BP-1'in dokularda birikim yapıp yapmadığı bilinmemektedir. Avrupa Tüketici Güvenliği Bilimsel Komitesi (Scientific Committee on Consumer Safety'e, SCCS) göre BP-1'in kozmetik ürünlerde ışık stabilizatörü kullanılması güvenli değildir (SCCS, 2025). Ana metabolit olmasına rağmen BP-1 ile ilgili yapılan çalışmalar kısıtlıdır bu sebeple BP-1 hakkında toksikolojik olarak daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. BP-3 ile birlikte BP-1'in de risk değerlendirmesinde ve düzenleyici karar süreçlerinde dikkate alınmasının gerekli olduğu düşünülmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda BP-3 ve BP-1'in östrojenik ve antiandrojenik aktivite gösterdiği gösterilmiştir. Hormon hassas dokularda kanseri indüklemeye potansiyeli olduğu bildirilmiştir (Mustieles vd., 2023).

Erkek fertilité düzeylerinde son yıllarda bir düşüş görülmektedir. Erkek üreme fonksiyonlarındaki azalmaya çevresel kirleticilerin ve endokrin bozucuların neden

olduğuna dair bir endişe bulunmaktadır (Han ve Huang, 2021). Ayrıca bu durumun altında yatan mekanizmalar da tam olarak anlaşılamamıştır (Ye vd., 2020). BP-3 ve BP-1'in erkek üreme sisteminde çeşitli toksisitelere neden olabileceği düşünölmektedir. Yapılan *in vitro* çalışmalarda her iki maddenin de antiandrojen aktivite gösterdiği bulunmuştur (Mustieles vd., 2023). *In vivo* çalışmalarda ise BP-3'ün sperm parametrelerinde bozulmalara sebep olduğu gösterilmiştir (French, 1992). Ergenlik çağındaki erkeklerde yapılan bir çalışmada BP-3 serum total testosteron seviyesi düşöklüğü ile ilişkilendirilmiştir (Scinicariello ve Buser, 2016). BP-3 ve BP-1'in endokrin aktif maddeler olduğu, BP-3'ün insan maruziyetinin büyüklüğü ve sistemik dolaşıma geçmesi göz önüne alındığında erkek üreme sistemi üzerine olan toksik etkilerinin incelenmesi gerekmektedir (Calafat vd., 2008; SCCS, 2025).

Bu tez çalışmasında BP-3 ve ana metaboliti BP-1'in TM3 Leydig hücrelerinde potansiyel sitotoksitesinin ve genotoksitesin incelenmesi amaçlanmıştır. Ayrıca potansiyel toksisite mekanizmaları hakkında yorum yapabilmek için reaktif oksijen türevleri oluşumu ve testosteron seviyeleri incelenmiştir.

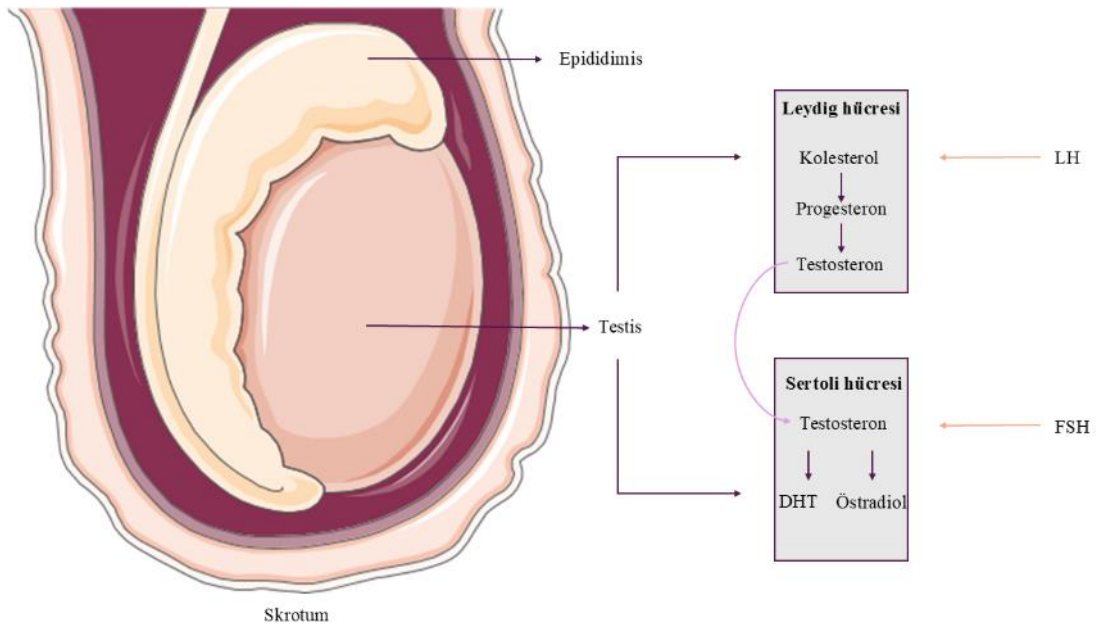
2 ALAN YAZIN

2.1 Erkek Üreme Sistemi

Erkek üreme sistemi; skrotumda bulunan testis ve epididimis, vas deferens, seminal veziküller, cowper bezi, prostat bezi ve penisten oluşmaktadır (Ernstmeyer ve Christman, 2024; Erbaş, 2024). Testisler sperm ve testosteron üretiminde görev almaktadır (**Şekil 1**). Testislerde Sertoli, Leydig ve germ hücreleri bulunmaktadır. Bu hücreler spermatogenezi, testosteron üretimini ve ikincil cinsiyet karakterlerinin oluşmasını kontrol eder. Adrenal kortekste de androjen üretilir, ancak erkeklerde androjen ve testosteron üretiminin başlıca kaynağı Leydig hücreleridir. Hipotalamustan salgılanan gonatropin salgılatıcı hormon sayesinde folikül stimüle edici hormon (FSH), luteinleştirici hormon (LH) ve testosteron seviyeleri kontrol edilmektedir. Ayrıca bu hormonlar birbirlerinin düzeylerini de etkilemektedir. Androjen üretimi hipofiz bezi tarafından üretilen LH etkisiyle gerçekleştirilmektedir. Sertoli hücreleri FSH tarafından uyarılmaktadır ve spermatogenez için temel öneme sahiptir. Bunun yanında, Sertoli hücreleri FSH'nin düzenlenmesinde ve testosteron miktarının yoğunlaştırılmasında görev almaktadır (Wong ve Khan, 2022; Aladamat ve Tadi, 2022).

Şekil 2.1

Skrotum ve Testiküler Steroidogenez



*FSH: Folikül Stimüle Edici Hormon, LH: Luteinleştirici Hormon, DHT: dihidrotestosteron

Kaynak: Smart Servier Medical Art, Wikimedia Commons, CC BY 3.0 lisansı altında kullanılmış ve Mason, 2016'dan uyarlanmıştır.

Embriyo gelişiminde Leydig hücrelerinin salgıladığı androjenler sayesinde erkek üreme organları oluşmaktadır. Sertoli hücreleri Müllerian inhibe edici faktör salgılayarak erkek embriyoda dişi üreme organlarının oluşmasını engellemektedir. Erkek embriyosunun gelişiminin 7. ayında testisler karın duvarından aşağı doğru hareket ederek skrotum konumuna yerleşmektedir. Spermatogenez ise ergenlik ile başlamaktadır. Spermiler testislerde bulunan seminifer tüpçüklerde gelişmektedir. Daha sonra epididimiste olgunlaşıp depolanmaktadır. Ejakülasyon sırasında spermiler epididimisten çıkarak vas deferense ulaşmaktadır. Seminal veziküller, cowper bezi ve prostat bezi tarafından üretilen semen sıvısıyla birlikte boşaltım sisteminde de görevli olan üretra ile vücut dışına çıkmaktadır (Gilbert, 2000; Ernstmeyer ve Christman, 2024; Erbaş, 2024; Gurung vd., 2023).

2.1.1 Erkek üreme sistemi toksisitesi

Üreme toksisitesi; herhangi bir madde ya da maddeler sebebiyle üreme fonksiyonunun bozulması ve embriyoda gelişim geriliği, malformasyon ya da ölüm gibi olumsuz etkilerin meydana gelmesidir (Mantovani ve Maranghi, 2005). Üreme toksisitesi nedeniyle testislerde, epididimiste, olgun sperimde, hormon düzenleyici sistemde ya da direkt hücreler üzerinde advers etkiler oluşabilmektedir (Creasy, 2001). Kriptorşidizm, hipospadias, kan testis bariyerinde bozulma, testis kanseri, infertilite meydana gelebilmektedir (Sousa vd., 2017).

Dünya Sağlık Örgütü'ne (DSÖ) göre infertilite milyonlarca insanı etkilemektedir ve dünya çapında üreme çağında olan altı kişiden birinin hayatları boyunca infertilite ile karşılaşacakları tahmin edilmektedir (DSÖ, 2024). Erkek infertilitesi dünya genelinde artış göstermektedir (Huang vd., 2023). 1973-2018 yıllarında yapılan çalışmalara göre son yıllarda erkeklerdeki sperm sayısı hızlı bir düşüş göstermiştir (Levine vd., 2022). Erkek üreme sistemi ile ilgili başka problemlerde de artış görülmektedir. Her ne kadar ölüm oranları önemli oranda değişmese de testis kanseri insidansında da bir yükseliş gözlenmektedir (Giona, 2022).

Testis kanseri, kriptorşidizm, hipospadias ve sperm üretimindeki bozukluklar; testiküler disgenezis sendromu hipotezine göre genetik ve çevresel faktörler nedeniyle anne karnındaki testis gelişimindeki bozukluklardan kaynaklanmaktadır (Bay vd., 2006; İrkılata ve Alp., 2012). Bu hipotezi destekleyecek şekilde; sentetik bir östrojen olan

dietilbestrola hamilelik sırasında maruz kalan kadınların erkek çocuklarında testis kanseri, infertilite ve ürogenital anormallik gelişme riski artışı bildirilmiştir (Palmer vd., 2009).

2.2 Endokrin Bozucular

Endokrin bozucular; hormon dengesini değiştiren ya da hormon sentezine etki eden çevrede bulunan doğal ya da sentetik bileşiklerdir (Lee vd., 2012). Endokrin bozucular östrojen, androjen ya da tiroit gibi hormonları taklit edebilmekte, reseptörlerde antagonist olarak davranabilmekte ya da vücuttaki hormonların metabolizmasını etkileyebilmektedir (Kabir vd., 2015). Etkilerini insan vücudunda ve doğal yaşamda reseptör sistemi üzerinden (nükleer reseptörler -östrojen, androjen, retinoid reseptörleri, peroksizom proliferatör aktive edici reseptör gama vb.-, steroid hormon reseptörleri, nörotransmitter reseptörleri vb.), direkt hormonlarla ilişkili proteinlere etki ederek, enzimatik yollar ile ya da DNA metilasyonu ve histon modifikasyonu gibi epigenetik değişikliklerle göstermektedirler (Coster ve Larebeke, 2012; Ahn ve Jeung, 2023).

Vücuttaki çeşitli etki mekanizmaları nedeniyle endokrin bozucuların kimyasal yapısına bakılarak endokrin bozucu olup olmadıklarını tespit etmek genellikle mümkün değildir. Ancak dioksin ve pestisitler gibi bazı endokrin bozucuların yapısında klor ve brom gibi halojenler bulunmaktadır. Bazı endokrin bozucular ise ağır metaller ve metaloitlerden oluşmaktadır (Kabir vd., 2015).

Endokrin bozucular kimyasal ve kimyasal olmayanlar olarak ayrılmaktadır. Doğal endokrin bozuculara örnek olarak fitoöstrojenler, nikotin ve yapay ışık verilebilir. (Reincke vd., 2024; Russart ve Nelson, 2018). Fitoöstrojenler insan hormonlarına benzer yapıya sahip ve östrojenik etki gösteren polifenolik bitkisel bileşiklerdir (Domínguez-López vd., 2020).

Kimyasal endokrin bozucular çeşitli sınıflardan oluşmaktadır. Poliklorlu bifeniller (PCB), polibromlu bifeniller (PBB), dioksinler gibi endüstriyel bileşikler; dikloro-difenil-trikloroetan (DDT) gibi pestisitler; dietilstilbestrol gibi farmasötik bileşikler; bisfenol A (BPA) gibi plastikler ve plastikleştiriciler bu sınıflara örnek olarak verilebilir (Kabir vd., 2015). Endokrin bozucu kimyasallara insanlar çeşitli kaynaklardan maruz kalmaktadır (**Tablo 2.1**). Gıdalarda, kişisel bakım ürünlerinde, suda, toprakta, havada,

ev içi tozlarda bu kimyasallar bulunmaktadır (Reincke vd., 2024; Del Río Barrera, 2025).

Tablo 2.1

Endokrin Bozucu Kimyasal Kaynakları ve Örnekler

Endokrin bozucu kimyasal kaynakları	Örnekler
Pestisitler	DDT, malatyon, klordan
Ağır metaller	Arsenik, kadmium
Organik solventler	Benzen, toluen
Kişisel bakım ürünleri	Triklosan, bütülpaben
Farmasötikler	Tamoksifen, kontraseptifler
Plastikler ve plastikleştiriciler	Bisfenol A, ftalatlar
Alev geciktiriciler	Polibromlu difenil eter
Partiküller	Silika tozu

Kaynak: Macedo vd., 2023; Casals-Casas ve Desvergne, 2011; Maradonna vd., 2009

Avrupa Endokrinoloji Derneği tarafından endokrin bozucu kimyasallar olarak da bilinen endokrin sistemde bozulmaya ve sağlık üzerinde advers etkilere sebep olan çok miktardaki yapay kirleticiler hakkında endişe duyulduğu belirtilmiştir (Reincke vd., 2024). Endokrin bozucular; sinir sistemini, tiroit fizyolojisini etkileyebilir, kortikoid hormonal fonksiyonlarının bozulmasına neden olabilir, metabolik hastalıklara, kardiyovasküler sistem hastalıklarına, erkek ve kadın üreme sistemi hastalıklarına sebep olabilir (Kabir vd., 2015; Ahn ve Jeung, 2023). Endokrin bozucular yetişkinliğe göre erken gelişim aşamalarında daha etkilidir. Ancak bu maddelerin advers etkileri uzun yıllar sonra ortaya çıkabilir. Ayrıca endokrin bozucuların sebep olduğu gen ekspresyonundaki değişimler ile bazı etkiler gelecek nesillere aktarılabilir (Kabir vd., 2015; Ahn ve Jeung, 2023)

2.3 Güneş ve UV Işınları

Güneş geniş bir spektrumda elektromanyetik ışın yaymaktadır. Bu ışınlar UV, görünür ve infrared radyasyon olarak sınıflandırılabilir. Dünyaya ulaşan güneş ışınlarının %5'ini UV radyasyon oluşturur (Svobodová ve Vostálová, 2010). UV; UVA (320-400 nm), UVB (290-320 nm), UVC (200-290 nm) olarak üç tipten oluşmaktadır. UVA da UVA1 (340-400 nm) ve UVA2 (320-340 nm) olarak alt sınıflara ayrılmaktadır. Atmosferdeki ozon tabakası tarafından UVC'nin tamamı emilmektedir. UVB'nin ise yaklaşık %90'ı emilmektedir. UVA radyasyonu üzerine ise ozon tabakasının fiili olarak bir etkisi

yoktur. Ozon tabakasının incilmesi ile dünyanın UV radyasyonuna olan maruziyeti artmıştır (Rai vd., 2012).

2.4 Güneş Maruziyetinin Zararlı Etkileri

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda güneş ışığının insanlar için hem faydalı hem de zararlı özelliklerinin olduğu gösterilmiştir. Güneş ışığı maruziyeti deri yoluyla gerçekleşmektedir. Deri, vücudu istenmeyen biyolojik cevaplara neden olabilecek iç ve dış etkenlerden koruyan bir bariyer olan ince doku tabakasıdır. Solar UV radyasyon sebebiyle oluşan deri hasarı önemli bir problemdir (Merin vd., 2022). UV spektrumu derinin yaşlanmasına, güneş yanığına, prekanserojen ve kanserojen lezyon oluşmasına ve immünosupresyona neden olabilmektedir. UVA yaşlanma ve pigmentasyon etkileri ile ilişkilendirilmiştir. Deri tabakasının derinlerine geçmektedir ve reaktif oksijen türevleri (ROT) oluşumuyla indirekt olarak DNA hasarına sebep olmaktadır. Dermisteki inflamatuvar hücrelerin artışına sebep olurken Langerhans hücrelerinin azalmasına neden olmaktadır. UVA, bir tümör baskılayıcı gen olan p53'ün ekspresyonunu arttırırken bir yandan da UVB'nin neden olduğu kanserojenite ve oksidatif stres oluşumuna katkı sağlamaktadır. UVB maruziyeti güneş yanıklarına ve DNA zinciri kırıklarına ve melanoma olmayan cilt kanserleriyle güçlü bir şekilde ilişkilendirilen primidin dimer mutasyonlarının üretimine sebep olmaktadır (Rai vd., 2012; Hanneman vd., 2006; Lavker vd., 1995; Seité vd., 2000; Rhodes, 1998). Genellikle deride görülen ve pigment içeren melanositlerin malignant transformasyonu ile oluşan melanomanın bir türü olan kutanöz melanoma; cilt kanserlerinin en agresif ve ölümcül formudur. Tamir edilmeyen DNA hasarı sebebiyle oluşur ve bunun nedeni çoğunlukla UV radyasyondur (Raimondi vd., 2020).

UV ışınları kısa sürede deride gözle görülebilen değişikliklere sebep olduğu, deri yaşlanmasını hızlandığı ve kansere neden olduğu sebebiyle araştırmaların odak noktası olmuştur. İnfrared ve görünür bölgedeki ışınların da biyolojik etkileri olduğunu gösteren çalışmalar vardır (Svobodová ve Vostálová, 2010). İnfrared A, deri hücrelerinde gen ekspresyonlarında değişime neden olabilmektedir; bu nedenle deri yaşlanmasını hızlandırmakta ve kanser gelişimine neden olabilmektedir (Rai vd., 2012). Görünür bölge ışınları ise önceden önemsiz olarak sınıflandırılmalarına rağmen yapılan çalışmalarda açık tenli insanlarda eritem oluşumuna neden olduğu, koyu tenli insanlarda

ise UVA1'e kıyasla daha güçlü ve daha uzun süren pigmentasyona sebep olduğu ortaya koyulmuştur (Lyons vd., 2021; Ezekwe vd., 2022).

2.5 Güneşten Korunma Yöntemleri

2.5.1 Fiziksel korunma: Kıyafet ve gölgeleme

Güneşe maruz kalmamak güneş ışınlarından korunmak için en iyi yöntemdir. Fakat bu her zaman mümkün olmamaktadır. Güneşten korunmak için kıyafetleri kullanmak da eski ve etkili bir yöntemdir. Erken yaşamda UV maruziyetinin azaltılmasının cilt kanserinin önlenmesinde etkili olduğu çalışmalarla gösterilmiştir. Bu nedenle çocukların UV radyasyondan korunacak şekilde giyinmesi önem taşımaktadır. Ayrıca dışarıda çalışanlar ya da hassasiyeti olanlar için de kıyafetler etkili bir yöntemdir. İpliklerin ve kumaşların UV koruyucu özelliklerinin bulunması; materyal, renk, ağ yoğunluğu ve tasarım gibi birçok faktöre bağlıdır. UV ışınlarının birçok göz hastalığının gelişiminde rol oynaması nedeniyle, güneş gözlüğü kullanımı da önemli bir koruyucu faktör olarak değerlendirilmektedir (Svobodová ve Vostálová, 2010).

2.5.2 Kimyasal korunma: Güneş koruyucu ürünler

Günümüzde topikal güneş koruyucularda kullanılan maddeler, etki mekanizmalarına göre birincil ve ikincil koruyucular olarak sınıflandırılmaktadır. Birincil faktörler yani güneş koruyucular UV ışınlarını emer ya da yansıtır. İkincil faktörler (antioksidanlar, osmolitler, DNA onarıcı enzimler gibi) ise UV ile başlayan fotokimyasal aşamaları bozarak cilt hasarını azaltır (Rai ve ark., 2012).

Piyasada bulunan ilk güneş koruyucular, öncelikli olarak UVB radyasyonuna karşı koruma sağlamak amacıyla geliştirilmiştir. 1990'lı yıllarda ise UVA absorblayıcıların da kullanıma sunulmasıyla birlikte geniş spektrumlu UV filtrelerinin kullanımı mümkün hale gelmiştir (Svobodová ve Vostálová, 2010). Güneş koruyucular; kimyasal absorblayıcılar (organik) ve fiziksel bloklayıcılar (inorganik) olarak mekanizmalarına göre iki sınıfa ayrılmaktadır. Kimyasal güneş koruyucular, genellikle bir karbonil grubuyla birleşmiş aromatik bileşiklerdir. Bu yapıdaki moleküller yüksek enerjili UV ışınlarını absorblayarak düşük enerjili olarak salınmasını sağlamaktadır. Fiziksel güneş koruyucular ise UV radyasyonu yansıtmakta ya da dağıtmaktadır. Titanyum dioksit ve çinko oksit gibi inert mineraller içermektedirler (Rai vd., 2012).

Kimyasal güneş koruyuculardan UVB filtreler; aminobenzoatlar, sinamatlar, salisilatlar, oktokrilen, ensulizol ve kamfor türevleridir. UVA filtreler ise; benzofenonlar, antranilatlar, avobenzonlar ve ekamsüldür. Geniş spektrumlu güneş koruyucular; metilen-bis-benzotriazolil tetrametilbutilfenol (MBBT) ve bis-etilheksiloksifenol metoksifenil triazin (BEMT)'i içermektedir (Gabros vd., 2024).

2.6 UV filtreler

2.6.1 İnorganik UV filtreler

Mineral filtreler olarak da bilinen ve Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (U.S. Food and Drug Administration, FDA) ve Avrupa Kimyasallar Ajansı (European Chemicals Agency, ECHA) tarafından onaylanan iki inorganik UV filtre bulunmaktadır: titanyum dioksit ve çinko oksit (Schneider ve Lim, 2019; Lu, 2025). Bu UV filtreler, inert pigmentlerden oluşmakta olup epiderminin üst tabakasını opak bir film tabakasıyla kaplayarak gelen radyasyonu absorbe eder, yansıtır ve dağıtır. Mikropartikül formundaki filtrelerde yansıtma ve dağıtma süreçleri önemli bir rol oynamaktadır. Ancak bu maddelerin nanopartikül formda UV filtresi olarak kullanılması durumunda, korumanın yaklaşık %95'i absorpsiyon yoluyla, yalnızca %5'i ise yansıtma ve dağıtma mekanizmalarıyla sağlanmaktadır (Lu, 2025; Bens, 2014; Araki ve Baby, 2025).

İnorganik UV filtreleri, absorpsiyon, yansıtma ve saçılma gibi farklı etki mekanizmalarına sahip oldukları için organik filtrelerle kıyasla daha geniş bir UV absorpsiyon spektrumuna sahiptir. Titanyum dioksit çoğunlukla UVB aralığında absorpsiyon gösterirken çinko oksit hem UVB hem de UVA ile etkileşmektedir. Bu nedenle ikisinin birlikte kullanımı daha geniş spektrumlu bir güneş koruması sağlamaktadır (Araki ve Baby, 2025).

Bazı organik UV filtrelerin satışı, su ekosistemine verdikleri zararlar nedeniyle yasaklanmıştır. Bu durum, inorganik UV filtrelerin çevre dostu bir alternatif olarak değerlendirilmesine yol açmıştır. Ancak yapılan araştırmalar, inorganik UV filtrelerin de su ekosistemine olumsuz etkilerinin bulunduğunu göstermektedir. Bir çalışmada nanopartikül olmayan çinko oksit ve titanyum dioksit karışımının denizkestanelerinin (*Paracentrotus lividus*) gelişiminde önemli advers etkilere sebep olduğu gösterilmiştir (Marcellini vd., 2024). Bu UV filtrelerin sucul ortama zararları hakkında başka çalışmalar da mevcuttur (Sendra vd., 2017; Corinaldesi vd., 2018).

Titanyum dioksit ve çinko oksit deri içine fazla geçiş yapmadıkları için toksisiteleri azdır. Öte yandan nanopartiküller konusunda endişeler bulunmaktadır. Titanyum dioksit ve çinko oksit nanopartikülleri UV maruziyeti sonucunda çeşitli serbest radikaller oluşturmaktadır. Bu nedenle formülasyonlara serbest radikalleri nötralize eden maddeler eklenmektedir (Lu, 2025). Titanyum dioksit nanopartikülleri, inhalasyon yoluyla maruziyet durumunda potansiyel kanserojen olarak değerlendirilmektedir. Dolayısıyla, bu maddelerin aerosol formülasyonlarda kullanımı uygun görülmemektedir (Araki ve Baby, 2025).

2.6.2 Organik UV filtreler

Organik UV filtreler; paraaminobenzoik asit esterleri, salisilik asit türevleri, sinnamik asit türevleri, benzilidenkamfor türevleri, dibenzoilmethan türevleri, triazın türevleri, benzofenon türevleri, benzimidazol ve benzotriazol türevleri olarak kimyasal yapılarına göre sınıflandırılabilir. Karbonil gruplarıyla konjuge olmuş aromatik moleküllerdir. UV dalga boyu aralığındaki fotonları absorbe ederek etkilerini gösterirler. UV radyasyonundan gelen enerji, organik UV filtre moleküllerinin elektronlarını uyarır ve bu enerji ısı şeklinde geri salınır. UV spektrumunda tamamen koruma sağlayamadıkları için ürün formülasyonlarında genelde birden fazla UV filtresi bulunur (Bens, 2014; NASEM, 2022). Organik UV filtreler güneş koruyucular dışında ayrıca ışıkla bozulmayı önlemek amacıyla kişisel bakım ürünlerinde, plastiklerde, boyalarda ve tekstilde kullanılmaktadır (Mitchelmore vd., 2021).

Organik UV filtreler öncelikle UVB radyasyonuna karşı koruma sağlamaktadır. Benzofenonlarda zayıf UVA koruması da bulunmaktadır. Avobenzon geniş UVA koruması sağlasa da fotoreaktif özelliği bulunmaktadır. Ekamsül, dietilamino hidroksibenzoil heksil benzoat (DHHB), MBBT, BEMT gibi yeni filtreler daha iyi UVA koruması ve fotostabilite sağlamaktadır. Organik UV filtrelerin fotokimyasal stabilitesi hem insan sağlığı hem de çevre açısından çok önemlidir (Těšínská vd., 2024).

Çeşitli çalışmalarda organik UV filtrelerin insanlarda kan dolaşımına katıldığı gösterilmiştir (Breakell vd., 2024). Bir klinik çalışmada organik UV filtreler olan avobenzon, BP-3, oktokrilen, homosalat, oksisalat, oktinosatın insanlarda sistemik dolaşıma geçtiği raporlanmıştır (Matta vd., 2020). UV filtrelere maruziyet insanlarda çeşitli endokrin bozucu etkilere neden olabilmektedir. Bazı UV filtreler polikistik over

sendromu, diyabet, testosteron düşüklüğü ile ilişkilendirilmiştir (Scinicariello ve Buser., 2016; Li vd., 2018; Gu vd., 2018; Huang vd., 2021).

UV filtrelerin çevreye karışması yüzme gibi aktivitelerle ya da insan vücudundan atık sulara ulaşarak olmaktadır. Ayrıca plastik gibi çeşitli ürünlerde kullanılmaları sebebiyle de kirlilik yaratmaktadırlar. Bu filtrelerin yüksek lipofiliteye sahip olduğu da göz önüne alındığında sucul ortamda biyoakümülyasyon tehlikesi oluşturmaları ve böylece besin zincirine katılmaları endişe yaratmaktadır (Těšínská vd., 2024; Huang vd., 2021). İber Yarımadası'ndaki nehir havzalarında çeşitli balık türlerinde lipofilik özelliği yüksek olan çeşitli UV filtreler tespit edilmiştir. Ayrıca biyomagnifikasyonu gösterir şekilde avcı balıklarda bu kimyasallara daha yüksek miktarlarda rastlanmıştır (Gago-Ferrero vd., 2015). Bu kimyasallar balıklarda östrojenik, antiöstrojenik, androjenik etkiler gibi çeşitli advers etkilere sebep olmaktadır ve fertilitiyi etkilemektedir (Gago-Ferrero vd., 2012).

Bazı UV filtreler; DNA hasarına, hormon bozulmasına, oksidatif strese, fotosentez inhibisyonuna, hastalık yatkınlığının artmasına, ısı stresinin şiddetlenmesine neden olarak mercan resiflerinin beyazlamasına sebep olmaktadır (Thomas vd., 2024) (**Görsel 2.1**). *Symbiodinium* cinsi *dinoflagellate* alg ve su altı hayvanı olan mercan arasındaki simbiyozların rengini kaybetmesine beyazlama denilmektedir. Bunun sonucunda azalmış büyüme ve artmış mortalite görülmektedir (Douglas, 2003). Amerika Birleşik Devletleri (ABD)'nde Hawaii ve Key West'te sucul ekosisteme zararları dolayısıyla BP-3 ve oktinoksat satışı yasaktır (Suh vd., 2020). Ayrıca ada ülkesi olan Palau ve Bonaire'de de BP-3 yasaklanmıştır (Thomas vd., 2024).

Görsel 2.1

Beyazlamış Beyin Mercanları ve Staghorn Mercanları (Acropora cervicornis)



Kaynak: Ananda Ellis/NOAA, Wikimedia Commons

2.6.2.1 Benzofenon türevleri ve yapısal analogları

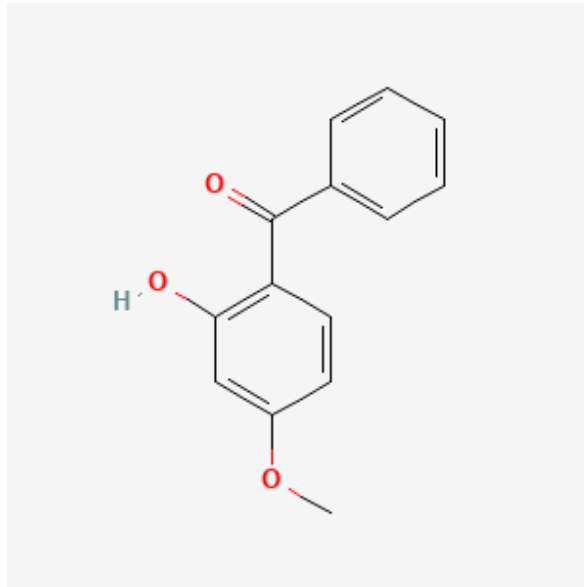
Benzofenonlar aromatik ketonlardır. İki benzen halkasının bir karbonil grubuyla bağlanması ana yapıyı oluşturmaktadır (Mao vd., 2022). Bitkilerden mantarlara birçok türde benzofenonlara rastlanmıştır. Şimdiye kadar 300'ün üzerinde doğal benzofenon tanımlanmıştır ve bu bileşikler arasında hem yapısal özellikler hem de biyoaktivite profilleri bakımından belirgin farklılıklar bulunmaktadır (Wu vd., 2014). Yapay benzofenonlar ise insan kullanımı için sentezlenmektedir. FDA monograf listelerinde yer alan benzofenonlar; sulisobenzon (benzofenon-4), dioksibenzon (benzofenon-8) ve BP-3'tür (Mustieles vd., 2023).

2.7 Benzofenon-3 ve Benzofenon -1

Benzofenon-3 (2-hidroksi-4-metoksibenzofenon, oksibenzon, BP-3) ilk kez 1906 yılında sentezlenmiştir ve FDA güneş koruyucularda kullanımını 1980'lerde onaylamıştır (Şekil 2.2). Benzofenon-1 (2,4-dihidroksibenzofenon, BP-1) ise BP-3'ün insanlarda ve kemirgenlerde majör metabolitidir (Mustieles vd., 2023) (Şekil 2.3). En çok kullanılan benzofenon BP-3'tür. UVB ve UVA2 aralığında etki gösterme kapasitesi yüksektir. Geniş spektrumlu bir UVA filtresi olmasına rağmen ışığa karşı dayanıksızdır. Hızlı bir şekilde okside olabilmekte, antioksidan sistemlerini inaktive duruma getirebilmektedir (Kullavanijaya ve Lim, 2005).

Şekil 2.2

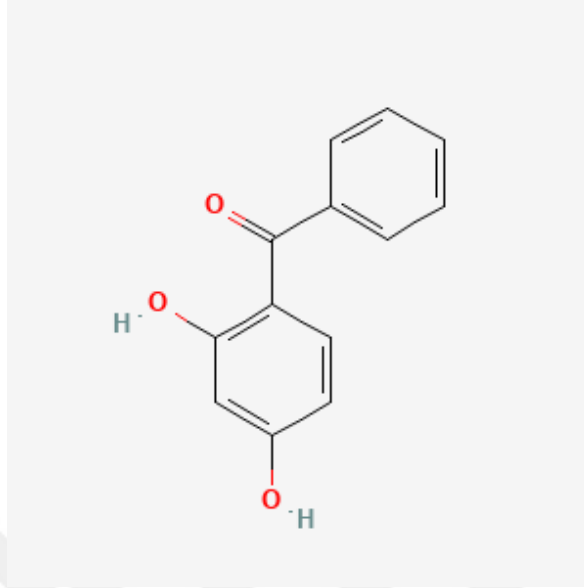
Benzofenon-3'ün Kimyasal Yapısı



Kaynak: Pubchem

Şekil 2.3

Benzofenon-1'in Kimyasal Yapısı



Kaynak: Pubchem

UV filtresi olarak kullanımı temel amacı olmakla birlikte, BP-3 kişisel bakım ürünlerinde fotostabilizasyon sağlamak amacıyla da kullanılmaktadır. Pudra, şampuan, krem ve maskara gibi birçok kozmetik üründe yer almaktadır. Ayrıca BP-3, çevresel bir kirlenici olarak hava, su, gıda ve plastik ambalajlarda da tespit edilmektedir (Wnuk vd., 2022). Benzofenonlara insan vücudunda ve kıyafetlerde de rastlanmıştır (Mao vd., 2022). BP-1'in ise her ne kadar UV stabilize edici olarak kozmetiklerde ve plastik ürünlerde kullanıldığı düşünülse de direkt kullanım verileri kısıtlıdır (Mustieles vd., 2023). Bununla birlikte, dermal yolla uygulanan BP-3'ün kan dolaşımına geçtiği ve başlıca metaboliti BP-1 üzerinden idrar yoluyla atıldığı bilinmektedir. Bu nedenle BP-1'in değerlendirilmesi de önem arz etmektedir (Mustieles vd., 2023).

Benzofenonları içeren ürünlerin sıklıkla kullanılması çevre ve insan sağlığı için risk oluşturmaktadır. Benzofenonlar arasında insan vücudunda en çok tespit edilenler BP-3 ve BP-1'dir (Mao vd., 2022). BP-3'ün güvenliliği hakkındaki endişeler sonucu birçok ülke bu bileşiği yakından incelemeye başlamıştır. FDA, diğer güneş koruyucular arasından BP-3 için ek toksikolojik veriler oluşturulmasını ve güvenliliğinin yeniden değerlendirilmesine öncelik vermiştir (Mustieles vd., 2023). Avrupa'da potansiyel endokrin bozucu etkisi sebebiyle ECHA tarafından eylem planı listesine dahil edilmiştir. 2017'den itibaren Avrupa Birliği'nde BP-3 kullanım sınırları ürün ağırlığına göre güneş

koruyucularda %10'dan maksimum %6'ya, diğer kozmetiklerde ise %5'e düşürülmüştür. 2018'de BP-1 Avrupa Komisyonu tarafından potansiyel endokrin bozucuların öncelik listesine alınmıştır. 2021 yılında SCCS BP-3'ün güneş koruyucularda %6 oranından çok kullanılmasının tüketiciler için güvenliği olmadığı sonucuna varılmıştır (Mustieles vd, 2023). ABD, Japonya ve Güney Kore'de ise potansiyel zararlı etkileri nedeniyle sınır %5 olarak belirlenmiştir. Ancak Amerika Hastalık Kontrol ve Önleme Merkezleri (Centers for Disease Control and Prevention, CDC) BP-3 maruziyetinin popülasyonda yaklaşık %97 olduğunu bildirmiştir (Wnuk vd, 2022). Son Avrupa düzenlemesine göre BP-3'ün bir ürünlerdeki ağırlık olarak oranı %6'yı aşmamalıdır fakat bu sınırın yeterli olmayabileceği düşünüldüğü için bu düzenlemenin tekrar gözden geçirilmesi önerilmektedir. BP-3 hızlı bir şekilde BP-1'e metabolize olmakta ve idrar ile atılmaktadır. BP-1'in dokularda birikim yapıp yapmadığı bilinmemektedir. Ana metabolit olmasına rağmen BP-1 ile ilgili yapılan çalışmalar kısıtlıdır bu sebeple BP-1 hakkında toksikolojik olarak daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır. BP-3 ile birlikte BP-1'in de risk değerlendirmesinde dikkate alınmasının gerekli olduğu düşünülmektedir (Mustieles vd, 2023).

2.7.1 Toksikokinetik özellikler

UV filtrelerin sadece cilt yüzeyinde etki göstermesi gerekmektedir. Dermis sınırını geçerek sistemik dolaşıma katılmaları istenmemektedir. Ancak BP-3 deriden geçebilecek kadar küçük bir molekül boyutuna sahiptir. BP-3, insanların serumlarında diğer kimyasal filtrelere göre 10 kat daha fazla konsantrasyonda bulunmuştur (Wnuk vd., 2022). Plazmada taşıyıcı proteinler tarafından taşınma, albümin ile etkileşerek ilaç, tiroit hormonları, seks hormonları gibi bileşikler yerinden etme gibi etkilere yol açma potansiyeli vardır (Wang vd., 2016). Hayvan deneylerinde topikal olarak uygulanan BP-3; beyin, karaciğer, kalp, böbrek, dalak, kas ve testislerde tespit edilmiştir. İnsan sütüne ve amniyotik sıvıya geçebilmektedir. (Wnuk vd., 2022).

Sıçanlarda yapılan toksikokinetik çalışmalarında genel olarak BP-3'ün, tek doz oral gavaj uygulamasından sonra hızlıca emildiği ve 3-4 saat içinde en yüksek plazma seviyesine ulaştığı tespit edilmiştir. Plazma proteinlerine bağlanan BP-3 yaklaşık 5 saatlik bir plazma eliminasyon yarı ömrüne sahiptir. Kemirgenlerde genellikle majör olarak BP-1 ve bazı minör metabolitlere metabolize olur. Sıçan mikrozomlarıyla *in vitro* ortamda inkübe edilen BP-3'te de benzer metabolitler oluşmuştur. Uygulanan dozun

büyük bir kısmı idrar yoluyla (%53–%58) elimine edilirken, bir kısmı ise dışkı yoluyla (%38–%42) atılmaktadır (Mustieles vd. 2023).

İnsanlarda yapılan çeşitli toksikokinetik çalışmalarda BP-3'ün kan dolaşımına geçtiği ve ana metaboliti BP-1 ile idrar yoluyla atıldığı gösterilmiştir. Benzofenonların insan karaciğerinde sitokrom P450 enzimleri ile faz 1 ve faz 2 biyotransformasyonlarına uğradığı düşünülmektedir (Mao vd., 2022). Tüm vücuda yapılan tek doz BP-3 uygulamasının ardından, kısa süre içinde plazma seviyelerinde yüksek konsantrasyonlara ulaşılabilceği rapor edilmiştir (Mustieles vd., 2023). Yapılan bir çalışmada, 24 katılımcıya %6 BP-3 içeren ürünler 4 gün boyunca günde 4 kez uygulanmış ve plazma düzeyleri 7 gün süreyle izlenmiştir. Çalışma sonucunda BP-3'ün uzun bir terminal yarı ömre (24–31 saat) sahip olduğu ve birikim gösterebildiği belirlenmiştir (Matta vd., 2019; Wnuk vd., 2022). İnsan toksikokinetik çalışmalarını, plazma benzofenon-1 verilerinin olmayışı sınırlamaktadır (Mustieles vd., 2023).

2.7.2 Çevreye olan etkileri

Benzofenon-3, oktokrilen, oktinoksat ve etilheksil salisilat gibi güneş koruyucuların, dünya genelinde birçok su kaynağında tespit edildiği gösterilmiştir (Schneider ve Lim, 2019). Doğal su kaynakları dışında UV filtreler yüzme havuzları gibi klorlanmış sularda da bulunmuştur. Organik filtreler klor ile reaksiyona girebilmekte ve tehlikeli dönüşüm ürünleri oluşturabilmektedir. Klorlanmış BP-3'ün *in vitro* hücreler üzerinde daha öldürücü olduğu bulunmuştur (Schneider ve Lim, 2019). Buna ek olarak, söz konusu UV filtrelerin geleneksel atık su arıtım yöntemleriyle etkin biçimde uzaklaştırılamadığı bildirilmiştir. Laboratuvar çalışmaları, özellikle BP-3'ün mercan resiflerinin beyazlamasında potansiyel bir rol oynayabileceğini göstermektedir (Schneider ve Lim, 2019). BP-3'ün bu duruma viral enfeksiyonların oluşmasına katkı sağlayarak neden olduğu düşünülmektedir (Florent vd., 2024).

Dünya üzerindeki çeşitli balık türlerinde 4-metilbenziliden kafur, BP-3, oktokrilen ve oktinoksat gibi UV filtreleri bulunmuştur. Bu sorunun besin zinciri açısından potansiyel sonuçlar doğurabileceği düşünülmektedir. Balıklardaki konsantrasyonları az olsa da biyoakümülyasyon ve biyomagnifikasyon dikkate alınmalıdır (Schneider ve Lim, 2019). Yapılan araştırmalar, gökkuşağı alabalığı ve Japon pirinç balığında yüksek BP-3 maruziyetinin, yumurta üretiminde azalmaya, yavru sayısında belirgin bir düşüşe ve

dişilerde bulunan yumurta sarısı proteini vitellogeninin erkeklerde indüklenmesine neden olduğunu ortaya koymaktadır (Coronado vd., 2008). Bu bulgular potansiyel feminizasyonu göstermektedir (Schneider ve Lim, 2019). Norveç'te yapılan çalışmalarda, morina balığı karaciğerinde oktokrilen ve BP-3 tespit edilmiştir. Beyaz balıkta ise oktinoksat ve BP-3 varlığı saptanmıştır (Langford vd., 2015). Benzer şekilde, İspanya'da çeşitli balık türlerinde de bu UV filtrelerin bulunduğu rapor edilmiştir (Schneider ve Lim, 2019). Ayrıca balıklar üzerinde benzofenon-1, -2, -3 ve -4 maruziyetinin karaciğer hasarına sebep olduğu bulunmuştur (Yao vd., 2024).

2.7.3 İnsan sağlığı üzerine etkiler

2.7.3.1 Maruziyet düzeyleri ve klinik bulgular

2003-2004 yıllarında NHANES verileri kapsamında yapılan testlerde 6 yaşından büyük ya da eşit 2517 kişiden alınan idrar örneklerinin yaklaşık %97'sinde BP-3'e rastlandığı bildirilmiştir (Calafat vd., 2008). Danimarka'da ortalama yaşı 20 olan yaklaşık 300 erkeğin idrarında yapılan çalışmalarda ise alınan bütün örneklerde BP-3 tespit edilmiştir (Frederiksen vd., 2020). Ayrıca yeni doğan yoğun bakım ünitesindeki 42 prematüre bebeğin idrarından alınan örneklerin büyük çoğunluğunda BP-3 bulunmuştur (Calafat vd., 2009). ABD'de hamile kadınlarının idrar örneklerinde (71 örnek) yapılan çalışmalarda, BP-3 en az %99 oranında tespit edilmiştir. 69 amniyotik sıvı örneğinin ise %61'inde BP-3 bulunmuştur (Philippat vd., 2013).

İnsanlarda topluma yayılmış olan bu maruziyet seviyesinin birincil nedeninin kişisel bakım ürünleri olduğu düşünülmektedir. BP-3 maruziyetinin önlenmesinde ürün içeriğinin önemini değerlendiren bir çalışmada, ergenlik çağındaki 100 Latin kökenli kız çocuğu, kullandıkları kişisel bakım ürünlerinin içeriğinde BP-3 bulunmamasına özen göstermiştir. Bunun sonucunda maddenin idrar konsantrasyonunda ortalama %36 oranında bir azalma görülmüştür (Harley vd., 2016). Ancak maruziyette toz, hava, musluk suyu, deniz ürünleri, plastik paketli yiyecek ve içecekler gibi faktörlerin de etkili olduğu varsayılmaktadır. Bu durum çocuklar da dahil bütün popülasyonlarda, güneş kremi kullanımından ve mevsimden bağımsız görülen BP-3 maruziyetini açıklamaktadır (Mustieles vd. 2023).

Çeşitli araştırmalar, BP-3'ün organizmada birikim potansiyeline sahip olduğunu ortaya koymuştur. Nitekim yapılan bir çalışmada, hem BP-1 hem de BP-3'ün insan tırnak

dokularında birikebildiği gösterilmiştir (Martín-Pozo vd., 2021). 144 kişiden alınan adipoz doku örneklerinin ise %79,2'sinde BP-3 tespit edilmiştir (Artacho-Cordón vd., 2018).

Yapılan bir başka çalışmada, NHANES verileri kullanılarak 1829 bireyin idrar BP-3 düzeyleri ile serum tiroksin (T4) hormon düzeyleri anlamlı bir negatif korelasyon tespit edilmiştir. BP-3'ün serbest ve toplam tiroksin hormonu seviyelerini düşürdüğü gösterilmiştir (Kim vd., 2017). 439 gebeden alınan biyolojik örneklerin analizinde, BP-3 maruziyetinin serum triiyodotironin (T3) düzeylerinde azalma ile ilişkili olduğu saptanmıştır. BP-3 maruziyetinin tiroit stimüle edici hormon (TSH) düzeyleriyle pozitif, tiroksin (T4) düzeyleriyle ise negatif korelasyon gösterdiği rapor edilmiştir. Bu durum, BP-3'ün tiroksin bağlayıcı globulin seviyelerini azaltabileceğini düşündürmektedir. T3 ve T4 düzeylerindeki düşüşe eşlik eden artmış TSH düzeyleri ise subklinik hipotiroidizm göstergesi olarak değerlendirilebilir (Aker vd., 2018).

25 endometriyozis hastası ve 74 kişilik kontrol grubu ile yapılan bir çalışmada BP-1 ve BP-3 maruziyeti ile endometriyozis oluşumu riski arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (Peinado vd., 2021). 18-44 yaş aralığında bilinen kronik rahatsızlığı olmayan 143 kadının idrar ve kan örneklerinde yapılan analizlerde BP-1 ve BP-3; östradiol, FSH, LH hormonlarının azalması, progesteron hormonunun ise artışı ile ilişkilendirilmiştir (Pollack vd., 2018).

Çocuk sahibi olmak isteyen 339 erkeğin sperm plazmasından alınan örneklerin %80'inde benzofenonlara rastlanmıştır. Benzofenon-2'nin sperm yüzdesinde düşüşe neden olduğu gösterilmiştir (Smarr vd., 2018). Yine 413 erkekten alınan örnekler ile yapılan başka bir çalışmada benzofenon-2 ve benzofenon-8'in çeşitli sperm parametrelerini etkilediği görülmüştür (Louis vd., 2015). Yapılan birçok çalışmada ise BP-3 ve sperm kalitesi arasında bir ilişki bulunamamıştır (Mustieles vd. 2023). 2011-2012 yılları arasında NHANES verileri kullanılarak yapılan başka bir çalışmada ergenlik çağındaki erkeklerin testosteron seviyeleri ile BP-3 arasında negatif bir ilişki bulunmuştur (Scinicariello ve Buser, 2016). İspanya'da 215 üniversite öğrencisinden alınan örneklerde BP-3 ve BP-1 düzeyi ile FSH seviyeleri arasında pozitif bir ilişki bulunmuştur (Adoamnei vd., 2018).

Doğum öncesi annelerin idrarında BP-3 konsantrasyonu ölçülmüş ve potansiyel BP-3 miktarına bağlı olarak erkeklerde daha yüksek doğum ağırlığı, kızlarda daha düşük doğum ağırlığı gözlenmiştir (Wolff vd., 2008). Çocukların nörogelişim düzeyleri ile BP-3 ilişkisi de incelenmiş ancak herhangi bir ilişki bulunmamıştır (Jiang vd., 2019; Nakiwala vd., 2018). Öte yandan Çin’de 386 anne-çocuk çiftinde maternal BP-3 seviyeleri çocuklarda daha kötü prososyal davranışlarla ilişkilendirilmiştir (Guo vd., 2020).

Benzofenon-3’ün ergenliğe olan etkisi ile ilgili de bazı araştırmalar yapılmıştır. 200 Şilili kız çocuğunda BP-3 maruziyeti erken menstrüasyon başlangıcı ile ilişkilendirilmiştir (Binder vd., 2018). Bunun yanında bazı araştırmalarda ise menstrüasyon başlangıç yaşı ve BP-3 arasında önemli bir ilişki bulunmamıştır (Buttke vd., 2012; Harley vd., 2019). 7 ve 15 yaş aralığında 327 çocukta yapılan prospektif bir araştırmada idrardaki BP-3 konsantrasyonu ile testis hacmi arasında ters ve önemli bir ilişki olduğu bulunmuştur. BP-3 erkeklerde geç ergenlik ile ilişkilendirilmiştir (Huang vd., 2020). Danimarkalı ergenlik öncesi çocuklarda yapılan küçük bir pilot araştırmada BP-3 maruziyeti ile yüksek tiroid hormon reseptör interaktör gende (TRIP6) DNA metilasyonu ve düşük TRIP6 protein seviyelerinin ilişkili olduğu belirlenmiştir. TRIP6 genel olarak ergenlikte testis Leydig hücrelerinde indüklenmektedir (Almstrup vd., 2020).

Bahsi geçen çalışmalar dışında BP-3 ve BP-1’in metabolik sağlığa olan etkisi hakkında yapılan araştırmalarda şaşırtıcı bir şekilde tip-2 diyabet riskine karşı koruyucu ilişkileri olduğu ortaya koyulmuştur (Mustieles vd., 2023). Hamile kadınlarda oksidatif stres ve inflamasyon üzerine yapılan bir çalışmada, BP-3 maruziyetinde C-reaktif protein ile değerlendirilen sistemik inflamasyon düzeylerinin düşük olduğu gösterilmiştir (Watkins vd., 2015).

2.7.3.2 İn vitro ve in vivo toksisite bulguları

Erkek sıçanlara 4 hafta boyunca günde 2 kez dermal olarak uygulanan BP-3 (100 mg/kg)’ün; vücut ağırlığında, organ vücut ağırlığı oranında, hematolojik ve klinik parametrelerde anlamlı değişikliklere neden olmadığı bildirilmiştir (Okereke vd., 1995). Ancak yine fare ve sıçanlar üzerinde yapılan çalışmalarda karaciğerin benzofenon toksisitesinde hedef organ olduğu gösterilmiştir. Karaciğer ağırlığında artışa,

hepatoselüler hipertrofiye, klinik kimyasal değişikliklere ve mikrozomal sitokrom P450 2B izomerinin indüklenmesine sebep olmuştur. Böbrek ağırlığında artış ve mikroskobik değişiklikler sebebiyle sıçanlarda böbreğin de benzofenon toksisitesi için hedef organ olduğu düşünülmektedir (Chhabra, 2000).

İki senelik bir kanserojenite çalışmasında; BP-3 maruziyetinin uterusu etkilediği, stromal poliplerin ve endometriyal hiperplazi oluşumunu önemli derecede arttırdığı gösterilmiştir. Ancak gözlenen bu histopatolojik değişikliklerin uterus kanserine neden olmadığı bulunmuştur. Aynı çalışmada yüksek doz grubunda testislerin etkilendiği görülmüştür. İnterstitiyel hücre hiperplazisinde ve arteriyollerde fibrinoid nekroz oluşumunda artış tespit edilmiştir. Dişilerde olduğu gibi erkeklerde de testis kanseri oluşumunda bir artış bulunmamıştır. Tiroit bezlerinde; hormon üretimini sağlayan hücrelerde önemli bir değişiklik görülme de C hücrelerinde adenoma oluşumunda artış bildirilmiştir (NTP, 2023).

Erkek sıçanlarda yapılan tekrarlı doz BP-3 maruziyetinde; vücut ağırlığında önemli bir düşüş görülmüştür. Ayrıca epididimis ve epididimis kuyruğu ağırlığında da önemli düşüşler tespit edilmiştir. Yüksek dozda epididimal sperm konsantrasyonunda %30 azalma gerçekleşmiştir. Oral olarak yüksek dozda BP-3 alan farelerde sperm konsantrasyonlarında %27'lik bir düşüş gözlemlenmiştir. Ayrıca test edilen üç dozda da sperm hücrelerindeki anormalliklerin sayısı artmıştır. Dermal olarak BP-3 uygulanan farelerde doza bağımlı olarak epididimal sperm konsantrasyonlarında düşüş yaşanmıştır (French, 1992). Prenatal ve laktasyon sırasında BP-3 maruziyeti olan sıçanlarda testosteron seviyeleri kontrol gruplarına göre daha düşük ölçülmüştür. Yüksek dozda %28'lik önemli bir düşüş tespit edilmiştir. Ayrıca prostat ve testislerde gen ekspresyonlarında değişiklikler görülmüştür. Testislerde östrojen reseptörü α (ER α) ve östrojen reseptörü β (ER β) mRNA ekspresyonlarına düşüş tespit edilmiş ve sperm motilitesiyle ilgili birkaç genin ekspresyonunda da düşüş gözlenmiştir (Nakamura vd., 2018).

Dişi üreme sistemi hakkında da çeşitli araştırmalar yapılmıştır. Farelerde yapılan bir çalışmada yüksek dozlarda BP-3 maruziyetinde östrus döngüsünün uzadığı görülmüştür (French, 1992). Çalışmaların hassaslığına bağlı olarak bazı çalışmalarda rahim ağırlığında önemli bir artış görülmezken, yetişkin olmayan sıçanlarda yapılan bir araştırmada rahim ağırlığında %23 artış tespit edilmiştir (Schlumpf vd., 2001). Ayrıca

yüksek doz BP-1'in de sıçanlarda rahim ağırlığında artışa sebep olduğu bulunmuştur (Koda vd., 2005). Rahimdeki gen ekspresyonlarında da değişiklikler görülmüştür. ER α mRNA ekspresyonu, farelerde BP-3 maruziyetinde kontrol grubuna göre önemli derecede yükselmiştir (LaPlante vd., 2018). Yüksek yağlı diyet ile beslenen farelerde BP-3 maruziyetinde meme tümör hücresi çoğalmasında artış yaşanmıştır (Kariagina vd., 2020). Ergenlikteki dişi farelerde düşük ya da yüksek doz BP-3 maruziyetinde memelerde yağ büyümesinde önemli bir artış gözlenmiştir (Matouskova vd., 2020). Ayrıca farelerde BP-3 meme epitelyumunda progesteron reseptör ekspresyonunu değiştirmiş ve progesteron-pozitif hücre sayısında azalmaya neden olmuştur (LaPlante vd., 2018). Farelerde yapılan 28 günlük bir gelişim toksisitesi çalışmasında içme suyundan BP-3'e maruz kalan dişi farelerin embriyolarının gelişimleri etkilenmiş ve blastosit aşamasına ulaşan embriyo sayısı ciddi oranda azalma göstermiştir (Jin vd., 2020).

Benzofenon-3 kan beyin bariyerinden iyi bir şekilde geçmektedir. Prenatal dönemde subkutan yolla BP-3'a maruz bırakılan fare embriyolarının beyinlerinde apoptoz aktivasyonu, mitokondriyal membran potansiyelinde kayıp, otofaji düzensizlikleri ile epigenetik ve posttranslasyonel değişiklikler gözlenmiştir. Ayrıca nörogenezis ve nörotransmisyonla sorumlu olan genlerin ekspresyonu BP-3 tarafından bozulmuştur. BP-3'ün neden olduğu etkiler, şizofreni ve Alzheimer gibi hastalıkların başlangıcında fetal döneme ait bir temel olabileceğini düşündürmektedir (Wnuk vd., 2019; Wnuk vd., 2022). Sıçanlar ile yapılan başka bir çalışmada ER β ekspresyonunda azalma görülmüştür. Frontal kortekste oluşan apoptoz ile östrojen reseptörlerinin ekspresyonundaki azalmanın ilişkilendirilebileceği düşünülmektedir (Krzyżanowska vd., 2018).

Benzofenon-3'ün sıçan timosit hücrelerinde hücre içi Zn²⁺ seviyelerini artırarak oksidatif stresi indüklediği ve bu mekanizma aracılığıyla yüksek konsantrasyonlarda sitotoksositeye neden olduğu gösterilmiştir (Utsunomiya vd., 2019). Başka bir çalışmada sıçan hepatositlerinde BP-3, konsantrasyon ve zamana bağlı hücre ölümüne sebep olmuştur. BP-1'in ise toksisitesinin ana bileşikten yüksek olduğu bulunmuştur (Nakagawa ve Suzuki, 2002). Ayrıca BP-3'ün apoptozu indükleyerek sitotoksositeye neden olduğu ve nörotoksosite gösterdiğini bildiren bazı çalışmalar da vardır (Broniowska vd., 2016).

Yapılan sınırlı genotoksisite çalışmalarında ise BP-3 ve BP-1'in potansiyel mutajen olduğu gösterilmiştir (Mustieles vd., 2023). BP-3'ün primer insan lenfositlerinde mikronükleus oluşumunu ve kromozomal aberasyon sayısını arttırdığı bulunmuştur (Santovito vd., 2019). BP-1 ise insan keratinositlerinde yapılan bir çalışmada fotogenotoksik olarak nitelendirilmiştir ve topikal kullanımından kaçınılması önerilmiştir (Amar vd., 2015).

Benzofenon-1'in insan prostat kanseri hücrelerinde hücre çoğalmasını ve metastazı arttırdığı bildirilmiştir (Kim vd., 2015). İnsan akciğer hücrelerinde ise BP-3'ün metastatik potansiyeli yükselttiği belirlenmiştir (Phiboonchaiyanan vd., 2017). BP-1 insan ovaryum hücrelerinde hücre çoğalmasını arttırmış ve östrojen reseptörlerine bağlı olarak metastazı indüklemiştir. Ayrıca BP-3 ve BP-1'in insan meme kanseri hücrelerinde hücre çoğalmasını ve migrasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Alamer ve Darbre, 2017).

Hücre temelli raportör gen deneylerinde BP-3'ün östrojenik aktivite gösterdiği gösterilmiştir. BP-1'in ise östrojenik etkilerinin daha güçlü olduğu bulunmuştur. BP-3 ve BP-1 androjen reseptörlerine antagonist özellik göstermiş ve BP-1'in etkisinin daha güçlü olduğu bulunmuştur (Watanabe vd., 2015). Ayrıca BP-3 bir tiroit reseptör agonisti olarak tanımlanmıştır (Schmutzler vd., 2007)

Benzofenon-1'in Leydig hücrelerinde testosteron sentezinin son aşamasını katalizleyen enzim 17 β hidroksi steroid dehidrojenaz (17 β -HSD3) inhibitörü olduğu gösterilmiştir (Nashev vd., 2010). İnsan sperm hücrelerinde yapılan bir çalışmada ise BP-3'ün progesteronun etkilerini taklit ederek sperm fonksiyonunu etkileyebileceği fikri ortaya sürülmüştür (Rehfeld vd., 2018).

3 MATERİYAL VE METOT

3.1 Kullanılan Materyaller

3.1.1 Kimyasal maddeler

Oksibenzon (BP-3, CAS-No: 131-57-7)	Merck
2,4-Dihidroksibenzofenon (BP-1, CAS-No: 131-56-6)	Sigma-Aldrich
DMEM/Ham's F-12 besiyeri (L-Glutamin ve 15 mM HEPES)	Capricorn Scientific
Fetal Sığır Serumu	Capricorn Scientific
At Serumu	Capricorn Scientific
PBS tabletleri MP	Biomedicals
Trypsin EDTA Solüsyon C	Biological Industries
Penisilin-Streptomisin çözeltisi	Wisent Bio Products
Tripan mavisi	Bio-Rad
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Honeywell
Tris base buffer	Wisent Inc.
Sodyum klorür	Wisent Inc.
EDTA disodyum	Wisent Inc.
Sodyum hidroksit	Sigma-Aldrich
Tris HCl	BioShop
DCFDA / H ₂ DCFDA –Hücresel ROT Kiti	Abcam
Fare/Sıçan Testosteron ELISA Kiti	Abcam
MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür)	Serva
Nötral kırmızı çözeltisi (%0,33)	Sigma-Aldrich
Kalsiyum klorür dihidrat	Merck
Formaldehit çözeltisi (%37)	Merck

Etanol (absolü)	Merck
Glasiyel asetik asit	Sigma-Aldrich
Hidroklorik asit	Sigma-Aldrich
Normal erime noktalı agar	Sigma-Aldrich
Düşük erime noktalı agar	Sigma-Aldrich
Triton X-100	Sigma-Aldrich
Hidrojen peroksit (H ₂ O ₂ %30)	Merck
SYBR Green I Boyası	Invitrogen

3.1.2 Cihaz ve ekipmanlar

Otomatik Pipet (10, 200, 1000 µl)	Eppendorf
Vorteks	Scilogex
Mikroplaka okuyucu	Biotek
Hücre sayım cihazı	Bio-Rad
Hücre sayım slaytı	Bio-Rad
Lam (26 x 76 mm)	Epredia
Lamel (24 x 60 mm)	Epredia
Santrifüj	Eppendorf
Biyogüvenlik kabini	Antes
Buzdolabı	Arçelik
Mikrodalga fırın	Beko
-80 °C dondurucu	Panasonic
Su banyosu	Wise Clean
Ters mikroskop	Leica
CO ₂ inkübatörü	Thermo Fisher

Otoklav	Hirayama
Hassas terazi	Ohaus
pH metre	Mettler Toledo
Distile su cihazı	Tecflo
Ultrasaf su cihazı	Merck Millipore
Santrifüj tüpleri	Microcult
25 ve 75 cm ² 'lik flasklar	Nest
6, 24, 96 kuyucuklu plaklar	Biofil
Kryo vial tüp	Nest
15 ve 50 ml steril santrifüj tüpü	Nest
5, 10, 25 ml steril serolojik pipet	Nest
Rezervuar	Isolab
Pipet ucu (10, 100, 200, 1000 µl)	Tarsons
Şırınga ucu filtre (0,22 µm)	Aisima Corporation
Cam şale	Superior
Elektroforez tankı	Cleaver Scientific
Floresan mikroskopu	Leica
Elektroforez güç kaynağı	Thermo-Scientific
Comet Assay IV görüntü analiz sistemi	Perceptive Instruments
Mikrosantrifüj tüpleri	Microcult

3.1.3 Hücre hattı

11-13 günlük erkek fare (*Mus musculus*, BALB/c) Leydig hücrelerinden elde edilen TM3 (Cytion katalog numarası 305167) hücre hattı, Cytion (Almanya) firmasından temin edilmiştir. Epitel morfolojiye sahip ve adherent (yapışan) hücrelerdir.

3.1.4 Çözeltiler

3.1.4.1 Hücre kültürü için kullanılan çözeltiler

3.1.4.1.1 Besiyeri hazırlanması

Besiyeri, DMEM F12 bazal besiyerine %2,5 fetal sığır serumu, %5 at serumu ve %1 penisilin-streptomisin eklenerek hazırlanmıştır. 4 °C’de saklanmıştır.

3.1.4.1.2 Fosfat tamponu (PBS) hazırlanması

1 adet PBS tableti 100 ml distile suda çözülmüştür. Şırınga ucu filtre ile (0,22 µm) steril edilerek porsiyonlanmış ve 4 °C’de muhafaza edilmiştir.

3.1.4.1.3 Tripsin-EDTA çözeltisi

10X Tripsin-EDTA (Etilendiamintetraasetik asit) çözeltisi PBS ile 1X konsantrasyona seyreltilip porsiyonlanarak -20 °C’de saklanmıştır.

3.1.4.2 MTT yönteminde kullanılan çözeltiler

MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difenil tetrazolyum bromür) çözeltisi (5 mg/ml): Işığa duyarlı bir madde olduğundan, işlemler karanlık koşullarda gerçekleştirilmiştir. MTT çözeltisi PBS ile hazırlanmış; filtre kullanılarak sterilize edilmiş ve ardından porsiyonlara ayrılmış ve -20 °C’de saklanmıştır.

3.1.4.3 Nötral kırmızı alım testinde kullanılan çözeltiler

Nötral kırmızı çözeltisi (50 µg/ml): %0,33 nötral kırmızı çözeltisi besiyeri ile istenen konsantrasyona seyreltilmiştir. Yaklaşık 24 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiş ve deney öncesi 0,22 µm filtre ile steril edilmiştir.

Formol-kalsiyum çözeltisi (%4): 1,325 g kalsiyum klorür dihidrat 10 ml distile su içerisinde çözülmüştür. 10,81 ml %37’lik formaldehit eklendikten sonra çözelti distile su ile 100 ml’ye tamamlanmıştır. Oda sıcaklığında ve ışıktan korunarak muhafaza edilmiştir. Taze hazırlanmıştır.

Asetik asit-etanol çözeltisi (%1): 25 ml absolü etanole 0,5 ml glasiyel asetik asit eklendikten sonra distile su ile 50 ml’ye tamamlama yapılmıştır. Taze hazırlanmıştır.

3.1.4.4 Reaktif oksijen türevleri oluşumunun ölçülmesinde kullanılan çözeltiler

20 mM 2',7'-diklorofluresin diasetat (DCFDA) (DMSO içinde), 10X Tampon, 55 mM tert-bütül hidroperoksit (TBHP) kit içerisinde mevcuttur. -20 °C'de ve ışıktan korunarak saklanmıştır.

1X tampon: Çift distile su ile 10X tampon seyreltilerek elde edilmiştir.

1X takviye edilmiş tampon: 1X tampona 1:10 oranında fetal sığır serumu eklenerek hazırlanmıştır.

DCFDA çözeltisi: 20 µM konsantrasyonda DCFDA çözeltisi kullanılmış, 1X tampon ile stok çözeltiden seyreltilerek hazırlanmıştır.

TBHP çözeltisi (pozitif kontrol): Stok çözelti 100 µM konsantrasyona 1X takviye edilmiş tampon ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Madde konsantrasyonları: Belirlenen konsantrasyonlar maddelerin DMSO stok çözeltilerinden 1X takviye edilmiş tampon ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.1.4.5 Comet yönteminde kullanılan çözeltiler

10 N NaOH çözeltisi: 100 g NaOH, 250 mL distile su ile çözülerek pH değeri 10 olacak şekilde ayarlanmıştır. Hazırlanan çözelti 4 °C'de muhafaza edilmiştir.

200 mM disodyum EDTA çözeltisi: 3,72 g disodyum EDTA 40 ml distile su ile çözülmüştür. pH 10'a ayarlanan çözeltinin hacmi 50 ml'ye tamamlanıp 4 °C'de saklanmıştır.

Stok lizis çözeltisi: 29,22 g NaCl, 7,44 g disodyum EDTA, 0,24 g tris baz, 2 g NaOH bir miktar distile suda çözülüp pH değeri 10'a ayarlanmıştır. 178 ml'ye tamamladıktan sonra oda sıcaklığında saklanmıştır.

Lizis çözeltisi: 2 ml Triton X, 20 ml DMSO, 178 ml stok lizis karıştırılarak deney günü hazırlanmış ve kullanılacağı zamana kadar 4 °C'de bekletilmiştir.

Elektroforez çözeltisi: 5 ml 200 mM disodyum EDTA çözeltisi, 30 ml 10 N NaOH, 965 ml distile su karıştırılarak taze hazırlanmış ve kullanılacağı zamana kadar 4 °C'de saklanmıştır.

Normal erime noktalı agar: Konsantrasyonu %1 (ağırlık/hacim) olacak şekilde distile su içerisinde hazırlanan agar mikrodalgada çözülmüştür.

Düşük erime noktalı agar çözeltisi: Düşük erime noktalı agar konsantrasyonu %1 (ağırlık/hacim) olacak şekilde PBS içerisinde hazırlanmış ve mikrodalgada çözülmüştür.

H₂O₂ çözeltisi: Çözeltiler deney günü taze hazırlanmıştır. Distile su ile 100 mM H₂O₂ stok çözelti %30'luk H₂O₂'den hareketle hazırlanmıştır. Deneyde kullanılan konsantrasyon PBS ile seyreltilerek elde edilmiştir.

Tris EDTA (TE) tampon çözeltisi: 10 mM Tris-HCl ve 1 mM EDTA-Na₂ içerecek şekilde bir TE tamponu hazırlanmıştır. Bunun için 0,5 ml nötralizasyon tamponu ile 0,1 ml 200 mM EDTA-Na₂ çözeltisi ve 18 ml distile su karıştırılmıştır. pH 8'e ayarlanmış ve son hacim 20 ml'ye tamamlanmıştır.

SYBR Green I boya çözeltisi: SYBR Green I boyası (10000X), TE tamponu içerisinde 1:5000 oranında seyreltilerek kullanıma hazırlanmıştır.

3.1.4.6 Testosteron düzeyinin ölçülmesinde kullanılan çözeltiler

Standart çözeltileri, anti-testosteron reaktifi, 20X enzim konjugatı, 20X yıkama tamponu, TMB (3,3',5,5'-Tetrametilbenzidin) substratı, durdurma çözeltisi ve seyreltme çözeltisi kit içerisinde hazır olarak bulunmaktadır.

Yıkama tamponu: 20X tampon distile su ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

Enzim konjugatı: 20X enzim konjugatı seyreltme çözeltisi ile seyreltilerek hazırlanmıştır.

3.2 Metot

3.2.1 Hücre kültürü uygulamaları

3.2.1.1 Stok hücrelerin açılması

1. -80 °C'deki dondurucudan/azot tankından çıkarılan hücreler 37 °C sıcaklıktaki su banyosunda çözülmüştür.
2. Çözünen hücre süspansiyonu 8 ml besiyerine eklenerek 130 × g'de 5 dakika santrifüj edilmiştir.

3. Santrifüjden sonra süpernatant uzaklaştırılmış, hücre pelleti 7 ml besiyeri ile tekrar süspande edilmiştir.
4. Hücreler 25 cm²'lik flaska ekilmiş ve 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir. Çoğalan hücreler 75 cm²'lik flaslara alınmıştır.

3.2.1.2 Pasaj işlemi

1. 75 cm²'lik flaslardaki hücreler yeterli yoğunluğa geldiklerinde besiyeri uzaklaştırılmış ve flask 5 ml PBS ile yıkanmıştır.
2. 1X tripsin-EDTA çözeltisi (2 ml) eklenip inkübatörde 2-3 dakika bekletilmiştir.
3. 6 ml besiyeri ilavesi ile tripsin-EDTA aktivitesi sonlandırılıp hücreler istenen yoğunluğa göre flaslara bölünmüştür.
4. Deneylerde 2. - 10. pasaj hücreler kullanılmıştır.

3.2.2 Konsantrasyon belirleme

Uygulanacak konsantrasyonların belirlenmesi amacıyla literatür taraması yapılmıştır.

- Bir *in vivo* çalışmada hamile dişi sıçanlara besin ile BP-3 verilmiştir ve doğum sonrasında da yavrulara vermeye devam edilmiştir. Toplanan kan örneklerindeki serbest BP-3 ve BP-1 konsantrasyonları 15-150 ng/ml olarak bulunmuştur (Mutlu vd., 2017).
- Benzofenon-3 ve BP-1'e ilişkin çeşitli insan biyoizleme çalışmaları da bulunmaktadır. 300 kişiden alınan serum numunelerindeki BP-3 düzeylerinin medyan değeri 0,16 ng/ml (0,0007 µM) olarak raporlanmıştır (Frederiksen vd., 2020). Başka bir çalışmada ise 23 yetişkinden alınan kanda BP-3 düzeyi medyan değeri 2,09 ng/ml (0,0092 µM), aralığı ise <0,52–3,38 ng/ml (<0,0023- 0,0149 µM) olarak bulunmuştur. BP-1 ise örneklerin sadece %4'ünde ve <0,06–0,15 ng/ml (<0,0003- 0,0007 µM) düzeylerinde tespit edilmiştir. İdrar numunelerinde ise BP-1'in tespit edilme oranı %57 olarak verilmiştir (Zhang vd., 2013). Bir diğer çalışmada 4 günlük losyon ya da sprey uygulanan toplam 24 kişide BP-3'ün maksimum kan plazma konsantrasyonu geometrik ortalaması losyon için 258,1 ng/ml (1,131 µM), sprey için ise 180,1 ng/ml (0,7891 µM) bulunmuştur (Matta vd., 2020).
- TM3 hücre hattı ile ilgili yapılan literatür incelemesinde, BP-3'ün bu hücrelerde 0,0001–500 µM konsantrasyon aralığında kullanıldığı belirlenmiştir (NTP, 2009;

Broniowska vd., 2016; Sung vd., 2024). BP-1 ise 0,0005-500 μ M arasında çalışılmıştır (Nakagawa ve Suzuki, 2002; Park vd., 2013; Shin vd., 2016).

Sonuç olarak BP-1 ve BP-3'ün nM veya μ M düzeylerindeki maruziyetleri ile hücre kültürü uygulamaları dikkate alınarak, hücre canlılığı belirlenmesi deneylerinde 0,1-500 μ M konsantrasyon aralığı seçilmiştir.

Benzofenon-3 ve BP-1'in stok çözeltileri DMSO ile taze hazırlanmıştır. İstenen konsantrasyonlara ise besiyeri ile seyreltilmiştir. Maddelerin çözünürlükleri dikkate alınarak denemeler yapılmış ve uygulanan konsantrasyonlardaki maksimum DMSO oranı %1 olarak belirlenmiştir. Kontrol grubu olarak, %1 DMSO içeren besiyeri ile muamele edilen hücreler kullanılmıştır.

24 ve 48 saat maruziyet ile elde edilen MTT bulgularının, aynı sürelerde elde edilen NKA bulgularıyla benzerlik göstermesi nedeniyle; DNA hasarı, ROT oluşumu ve testosteron düzeyi analizlerinde 24 saat MTT verileri esas alınmıştır. Bu deneylerde hücre canlılığının sırasıyla yaklaşık %90, %80 ve %70 olduğu $İK_{10}$, $İK_{20}$ ve $İK_{30}$ konsantrasyonları kullanılmıştır.

24 saat BP-3 maruziyeti MTT testi sonuçlarına göre hesaplanan konsantrasyonlar $İK_{10}$: 130,55 μ M, $İK_{20}$: 198,90 μ M, $İK_{30}$: 267,24 μ M ve $İK_{50}$: 403,93 μ M'dır. Benzer şekilde, 24 saatlik BP-1 maruziyeti sonucuna göre konsantrasyonlar $İK_{10}$: 80,73 μ M, $İK_{20}$: 134,70 μ M, $İK_{30}$: 188,66 μ M ve $İK_{50}$: 296,59 μ M olarak bulunmuştur.

3.2.3 Hücre canlılığının belirlenmesi deneyleri

3.2.3.1 MTT testi

1983 yılında Mosmann tarafından hücre canlılığının belirlenmesi için geliştirilen hızlı, kolorimetrik ve kantitatif bir testtir. Bir tetrazolyum tuzu olan MTT'nin canlı hücreler/mitokondrisi hasar görmemiş hücreler tarafından indirgenerek mor mavi renkli ve suda çözünmeyen formazan ürününe dönüşmesi prensibine dayanmaktadır (Mosmann, 1983; Ghasemi vd., 2021).

Uygulama

1. Flasklardaki besiyeri uzaklaştırılmış ve tripsin-EDTA çözeltisi eklenmiştir.

2. 2-3 dakika inkübatörde bekletildikten sonra hücrelerin yüzeyden ayrılma durumu ters mikroskop ile kontrol edilmiştir. Tripsin-EDTA aktivitesini sonlandırmak için besiyeri eklenmiştir.
3. $130 \times g$ 'de 5 dakika santrifüj edilmiş, ardından süpernatant uzaklaştırılmıştır.
4. Besiyeri ile hücreler süspansiyonda edilmiştir. 10 µl hücre süspansiyona 10 µl tripan mavi boyası eklenerek hücre sayım cihazı ile sayım yapılmıştır.
5. 1×10^4 hücre/100 µl olacak şekilde hesaplanarak kuyucuklara ekim yapılmış ve 24 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
6. BP-3 ve BP-1 konsantrasyonları (0,1-0,5-2,5-12,5-62,5-125-250-500 µM) ve kontrol (%1 DMSO içeren besiyeri) 4 tekrarlı olarak kuyucuklara uygulanmıştır. 24 ve 48 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
7. Süre sonunda hücrelerin üzerindeki çözeltiler uzaklaştırılmıştır. 5 mg/ml konsantrasyonda PBS ile hazırlanan MTT çözeltisi 1:10 oranında besiyeri ile seyreltilmiş ve her kuyucuğa 100 µl uygulanarak 3 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
8. Daha sonra MTT çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Kuyucuklara 100 µl DMSO eklenerek oluşan formazan tuzları çözülmüştür.
9. Mikroplaka okuyucuda 540 nm'de absorbans değerleri okunmuştur.
10. Her konsantrasyon için inhibe etme yüzdeleri hesaplanmış ve maddelerin İK₅₀ (yarı maksimum inhibitör konsantrasyon) değerleri belirlenmiştir.
11. Deneyler, farklı günlerde üç bağımsız tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

Yüzde hücre canlılığı hesaplanırken madde maruziyetinin olduğu kuyucukların absorbans değerinden boş olan kuyucukların absorbansının ortalaması çıkarılmış, kontrol içeren kuyucukların absorbansının ortalamasına bölünmüş ve 100 ile çarpılmıştır.

3.2.3.2 Nötral kırmızı alım testi

Nötral kırmızı alım (NKA) testi *in vitro* olarak uygulanan basit bir kantitatif hücre canlılığı testidir. Nötral kırmızı zayıf katyonik bir boyadır ve canlı hücrelerde plazma membranından geçerek lizozomlarda konsantre olması prensibine bağlı olarak hücre canlılığının belirlenmesinde kullanılmaktadır. Hücre yüzeyindeki, lizozom membranındaki ya da diğer değişiklikler geri dönüşümsüz olduğunda nötral kırmızı alımı ve bağlanması azalmaktadır (Borenfreund ve Puerner, 1984; Ates vd., 2017).

Uygulama

1. Hücreler plakalarda MTT uygulamasındaki gibi ekilmiş ve maddeler de aynı şekilde uygulanmıştır.
2. 24 ve 48 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
3. Besiyeri uzaklaştırılmış ve 200 µl nötral kırmızı içeren besiyeri eklenmiştir. 3 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
4. İnkübasyondan sonra nötral kırmızı çözeltisi uzaklaştırılmıştır. 200 µl formol-kalsiyum çözeltisi uygulanmıştır ve 300 µl Ca⁺² ve Mg⁺² içermeyen fosfat tamponu çözeltisi (DPBS) ile yıkama yapılmıştır.
5. Hücrelerdeki boyanın ekstraksiyonu için plakalar 200 µl asetik asit-etanol çözeltisi ile 20 dakika çalkalayıcıda bekletilmiştir. Daha sonra mikropilaya okuyucuda 540 nm’de okuma yapılmıştır.
6. Her bir konsantrasyon için % inhibisyon değerleri hesaplanmıştır (Baysal ve Atlı-Eklioğlu, 2021).
7. MTT yöntemindeki gibi yüzde hücre canlılığı ve İK₅₀ değerleri hesaplanmıştır.
8. Deneyler, farklı günlerde üç bağımsız tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.4 Reaktif oksijen türevleri ölçümü

Reaktif oksijen türevleri oluşumunun ölçülmesinde DCFDA / H₂DCFDA - Hücresel ROT kiti kullanılmıştır. DCFDA yöntemi canlı hücrelerde ROT’un kantitatif ölçümü için kullanılmaktadır. Florejenik bir boya olan DCFDA, hücre içine alındıktan sonra hücresel esterase tarafından floresan özelliği bulunmayan bir bileşiğe deasetile edilir; bu bileşik, ortamda reaktif oksijen türleri (ROT) bulunduğunda oksitlenerek 2’,7’-diklorofloresin (DCF) formuna dönüşür. Ana bileşik ile deasetile edilmiş formu floresan özellik göstermezken, oluşan DCF floresan spektroskopisi ile ölçülebilmektedir (Tetz vd., 2013; http-1).

Uygulama

1. Hücreler 96 kuyucuklu plakada her kuyucukta 25 x 10³ hücre olacak şekilde ekilmiştir. 24 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
2. Besiyeri uzaklaştırılmış ve her kuyucuğa 100 µl 1X tampon eklenmiştir.
3. Tampon uzaklaştırılmıştır ve her kuyucuğa 100 µl 20 µM DCFDA çözeltisi eklenmiş ve 45 dakika 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.

4. DCFDA çözeltisi uzaklaştırılmıştır. Kuyucuklara takviye edilmiş tampon içerisinde BP-3 ve BP-1'in $İK_{10}$, $İK_{20}$ ve $İK_{30}$ konsantrasyonları, kontrol ve TBHP çözeltileri (100 μ M, pozitif kontrol) 3 ya da 4 tekrarlı olacak şekilde uygulanmıştır.
5. 4 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübasyona bırakılmıştır. Floresans plaka okuyucuda Ex/Em = 485/535 nm'de okuma yapılmıştır (http-1).
6. Deneyler, farklı günlerde üç bağımsız tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.5 Comet yöntemi

Ökaryotik hücrelerde nükleer DNA hasarının değerlendirilmesi için kullanılan hızlı ve kolay uygulanan bir testtir. Çeşitli hücre tiplerinde DNA hasarlarının tespitinde kullanılabilir. Günümüzde sıklıkla kullanılan bu yöntem (tek hücre jel elektroforezi) 1988 yılında Singh ve ark. tarafından geliştirilmiştir. Alkali koşullarda gerçekleştirildiğinde çift ve tek zincir kırıkları tanımlanabilmektedir. DNA'da oluşan zincir kırıkları sebebiyle DNA sarmallarının gevşeyerek anot yönüne hareket ederek floresan mikroskopunda kuyruklu yıldız (comet) görüntüsü oluşturması esasına dayanmaktadır (Singh vd., 1998; Dinçer ve Kankaya, 2010; Collins vd., 2023).

Uygulama

1. Her kuyucukta 50 x 10³ hücre/500 μ l olacak şekilde 24 kuyucuklu plakalarda hücreler ekilmiştir. 24 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
2. Süre sonunda BP-3 ve BP-1'in $İK_{10}$, $İK_{20}$ ve $İK_{30}$ konsantrasyonları, 75 μ M H₂O₂ (pozitif kontrol) ve kontrol uygulanmıştır. 24 saat 37 °C CO₂ inkübatöründe inkübe edilmiştir.
3. Besiyerleri uzaklaştırılıp kuyucuklar PBS ile yıkanmıştır. Kuyucuk başına Tripsin-EDTA uygulanarak hücrelerin yüzeyden ayrılması sağlanmıştır.
4. Besiyeri ilavesi ile kuyucuklardan toplanan hücreler 4 °C'de 2500 rpm'de 5 dakika santrifüj edilmiştir. Süpernatant uzaklaştırılmıştır. Hücreler PBS ile süspansiyon haline getirilmiştir. Deney buz üzerinde gerçekleştirilmiştir.
5. 100 μ l hücre süspansiyonu 100 μ l düşük erime noktalı agar ile birleştirilmiştir. Önceden normal erime noktalı agar ile kaplanmış lamlara uygulanmıştır.
6. 10 dakika 4 °C'de bekletilmiş, şalelere yerleştirilmiş ve 45 dakika 4 °C'de lizis çözeltisinde bekletilmiştir. Ardından 5 dakika soğuk distile su ile yıkama yapılmıştır.

7. Lamlar elektroforez tankına yerleştirilmiş ve alkali elektroforez çözeltisinde 15 dakika bekletilmiştir.
8. Elektroforez 25 Volt 300 miliamperde 20 dakikada gerçekleştirildikten sonra lamlar soğuk distile su ile 5 dakika, nötralizasyon tamponunda ise 15 dakika bekletilmiştir.
9. Lamlar oda sıcaklığında en az bir gün boyunca kurumaya bırakılmıştır.
10. Her konsantrasyon iki tekrarlı çalışılmış ve 100 x 2 hücre SYBR Green I boya çözeltisi ile boyama yapılarak Comet Assay IV ile analiz edilmiştir.
11. Deney basamakları karanlıkta gerçekleştirilmiştir (Baysal ve Atlı-Eklioğlu, 2021).
12. Deneyler, farklı günlerde üç bağımsız tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

3.2.6 Testosteron düzeyi ölçümü

Fare/siçan testosteron enzim bağlantılı immunosorbent testi (Enzyme-linked immunosorbent assay, ELISA) kiti, numunedeki testosteron ile testosteron-HRP (Horseradish peroksidaz) konjugatının anti-testosteron reaktifine yarışmalı bir şekilde bağlanması mekanizması ile çalışır (http-2).

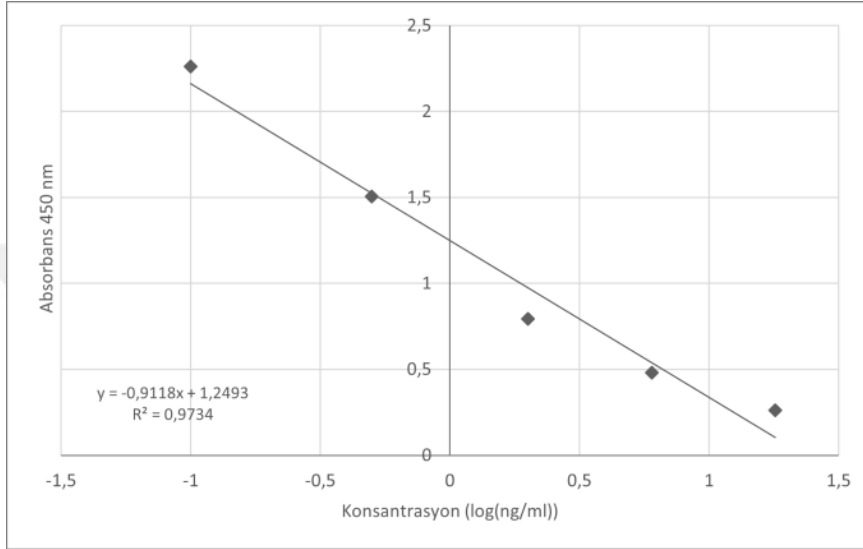
Uygulama

1. 25 cm²'lik flasklara 2 x 10⁶ hücre/3 ml olacak şekilde hücre ekilmiştir. 24 saat maruziyet sonrasında kontrol ve madde konsantrasyonları (İK₁₀, İK₂₀ ve İK₃₀) için ikişer adet flasktan numune toplanmıştır.
2. 15 dakika 1000 × g'de santrifüj edilmiş, süpernatantları porsiyonlanarak -20 °C'de saklanmıştır.
3. Kit çalışmasına başlamadan önce tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmiştir.
4. Belirlenmiş kuyucuklara 2 ya da 3 tekrarlı olacak şekilde standart, kontrol ve madde gruplarından 25 µl eklenmiştir.
5. Ardından 100 µl seyreltilmiş enzim konjugatı ve 50 µl anti-testosteron konjugatı eklenmiş ve 30 saniye karıştırılmıştır.
6. Üzeri kapatılan plaka 60 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.
7. Kuyucuklardan sıvılar uzaklaştırılıp ve yıkama tamponuyla yıkanmıştır.
8. 100 µl TMB substratı eklenip karıştırılmış ve 15 dakika oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır.
9. 50 µl durdurma solüsyonu eklenmiştir. Renk değişimi gözlemlendikten sonra 15 dakika içerisinde mikropilaka okuyucuda 450 nm'de okunmuştur (http-2).

10. Kitteki standartların konsantrasyonlarının (0,1, 0,5, 2, 6, 18 ng/ml) 10 tabanında logaritmaları alınmış ve Microsoft Office Excel programında absorbanslarına karşı standart grafiği çizilerek hesaplama yapılmıştır (**Şekil 3.1**).
11. Deneyler, farklı günlerde üç bağımsız tekrar olarak gerçekleştirilmiştir.

Şekil 3.1

Testosteron Düzeylerinin Hesaplanmasında Kullanılan Standart Grafiği



3.2.7 İstatistiksel analiz

İstatistiksel analizler GraphPad Prism 9.0 yazılımı kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Verilerin dağılımının normalliği Shapiro–Wilk testi ile, varyansların homojenliği ise Brown–Forsythe testi ile değerlendirilmiştir. Normal dağılım gösteren ve varyansları homojen olan veri setlerinde gruplar arasındaki farklar tek yönlü ANOVA analizi ile incelenmiş, anlamlılık durumunda Dunnett’in post-hoc testi uygulanmıştır. Sonuçlar ortalama $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) şeklinde sunulmuş olup, $p < 0,05$ değeri istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4 BULGULAR

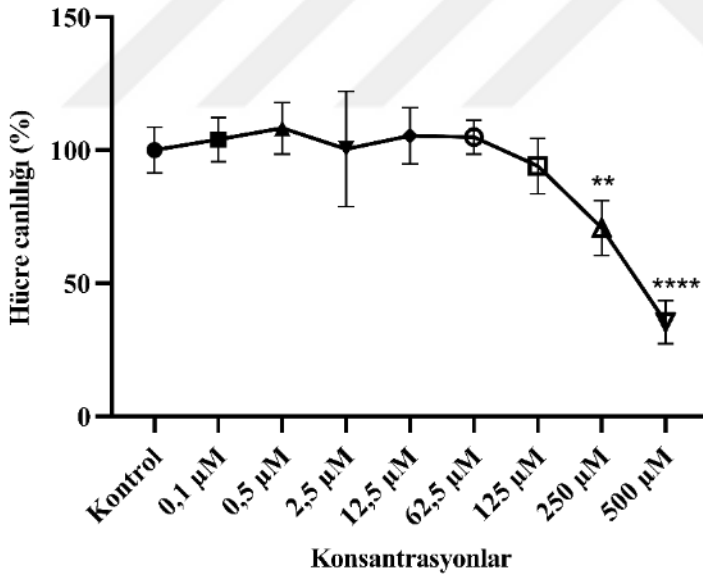
4.1 Hücre Canlılığı Bulguları

4.1.1 MTT deneyi bulguları

Benzofenon-3 ve BP-1'in 0,1-500 μM konsantrasyon aralığında 24 ve 48 saat maruziyet sonrasında TM3 Leydig hücre canlılığına etkisi belirlenmiştir. BP-3'e ait 24 saat maruziyet MTT sonuçları **Şekil 4.1**'te verilmiştir. 250 μM ($p=.0047$) ve 500 μM ($p<.0001$) konsantrasyonlarında hücre canlılığında kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı bir azalma görülmüştür (**Şekil 4.1**). 24 saat maruziyetin İK_{50} değeri 403,93 μM hesaplanmıştır. 48 saat BP-3 maruziyetinde 250 μM ($p=.0113$) ve 500 μM ($p<.0001$) konsantrasyonlarında hücre canlılığında kontrole göre anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (**Şekil 4.2**). 48 saat maruziyetin İK_{50} değeri 364,19 μM olarak hesaplanmıştır.

Şekil 4.1

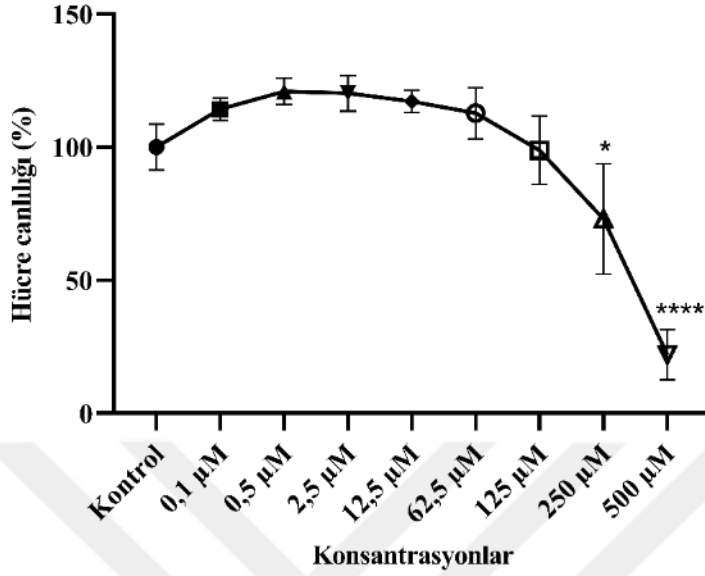
MTT BP-3 24 Saat Maruziyet Sonuçları



Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. ** ($p=.0047$); ****($p<.0001$)

Şekil 4.2

MTT BP-3 48 Saat Maruziyet Sonuçları



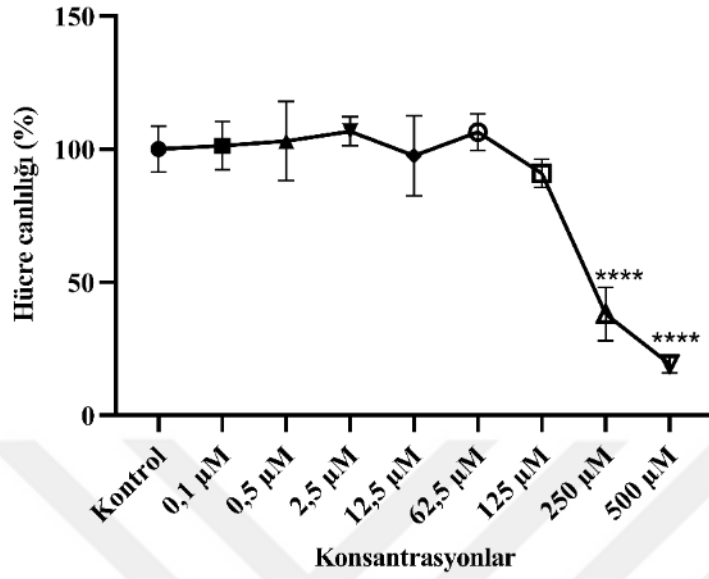
Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. ** ($p=.0113$); ****($p<.0001$)

24 saat BP-1 maruziyeti sonucunda 250 µM ve 500 µM konsantrasyonlarında anlamlı olmak üzere, 62,5 µM ve daha yüksek konsantrasyonlarda hücre canlılığında azalma görülmüştür (Şekil 4.3). $İK_{50}$ değeri 296,59 µM bulunmuştur. 48 saat BP-1 maruziyeti sonucunda hücre canlılığında 125 µM ($p=.0086$), 250 µM ($p<.0001$), 500 ($p<.0001$) konsantrasyonlarında anlamlı bir azalma tespit edilmiştir (Şekil 4.4). $İK_{50}$ değeri 258,87 µM olarak belirlenmiştir.

Benzofenon-1'in BP-3'e göre aynı konsantrasyonlarda 24 ve 48 saat maruziyette hücre canlılığı üzerinde daha fazla azalmaya neden olduğu gösterilmiştir.

Şekil 4.3

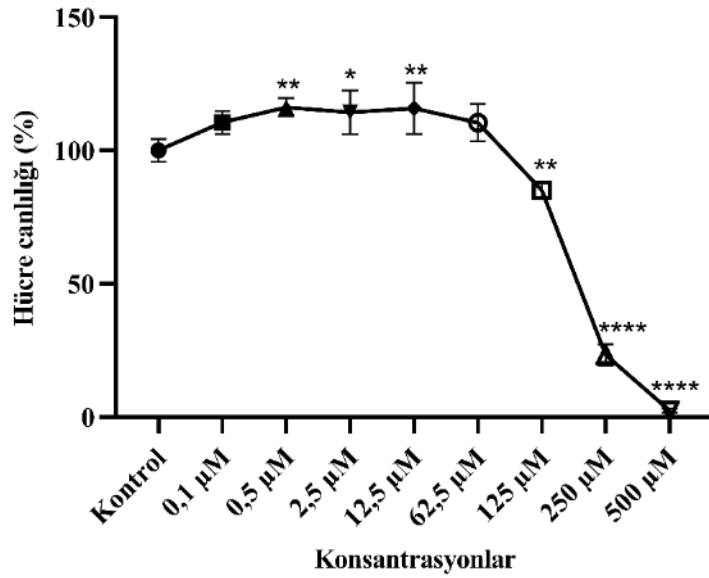
MTT BP-1 24 Saat Maruziyet Sonuçları



Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. ****($p < .0001$)

Şekil 4.4

MTT BP-1 48 Saat Maruziyet Sonuçları



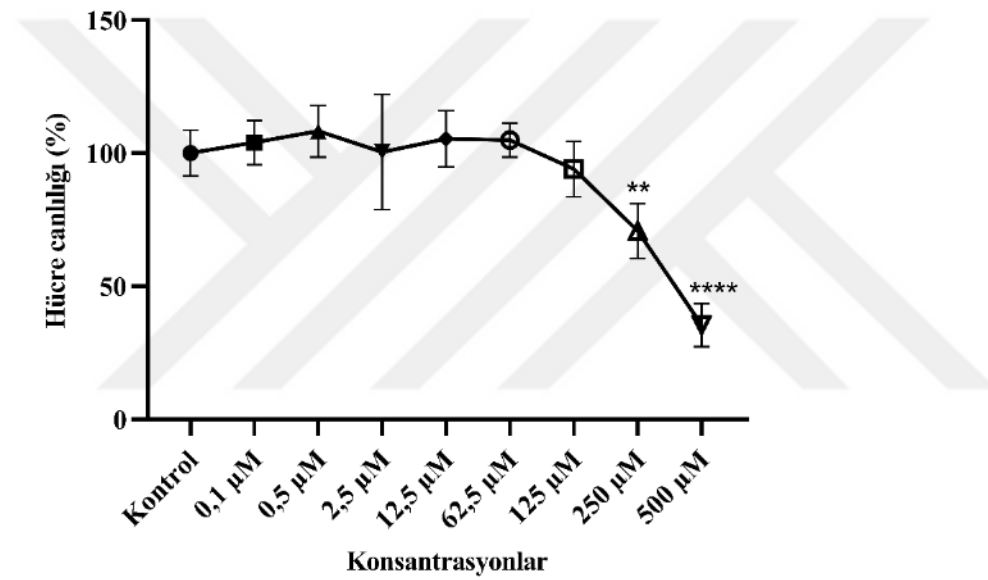
Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. ** ($p = .0086$); ****($p < .0001$)

4.1.2 Nötral kırmızı alım testi bulguları

MTT deneyindeki konsantrasyonlarda 24 ve 48 saat BP-3 ve BP-1 maruziyetinin hücre canlılığına etkisi ölçülmüştür. TM3 hücrelerinde 24 saat BP-3 maruziyeti 250 μ M ($p=.0047$) ve 500 μ M ($p<.0001$) konsantrasyonlarında hücre canlılığında anlamlı bir azalmaya yol açmıştır (Şekil 4.5). $İK_{50}$ değeri 525 μ M olarak belirlenmiştir. 48 saat maruziyette ise en yüksek konsantrasyonda bir azalma görülse de istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (Şekil 4.6). $İK_{50}$ değeri 902 μ M olarak bulunmuştur.

Şekil 4.5

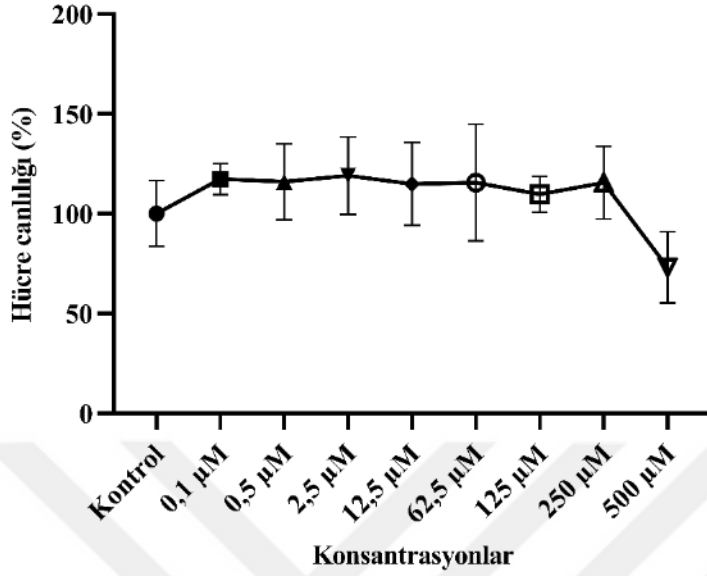
NKA Testi BP-3 24 Saat Maruziyet Sonuçları



Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. ** ($p=.0047$); ****($p<.0001$)

Şekil 4.6

NKA Testi BP-3 48 Saat Maruziyet Sonuçları

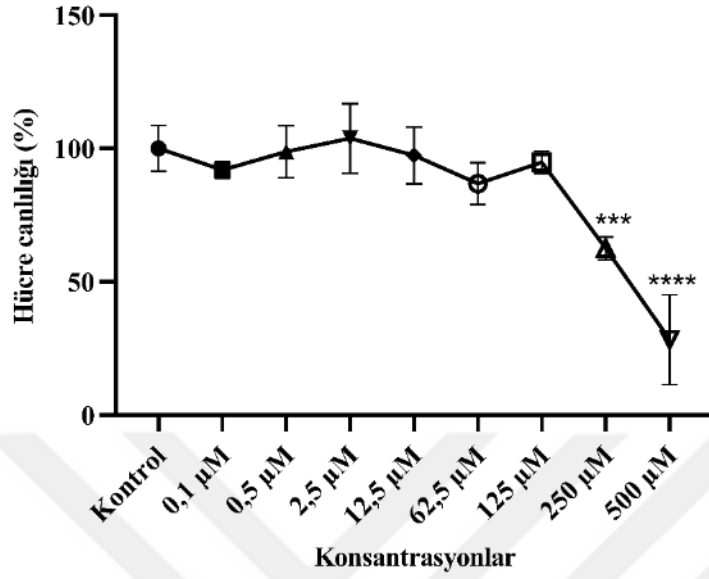


Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir.

BP-1'in 24 saat maruziyetinde ise 250 μ M ($p=.0002$) ve 500 μ M ($p<.0001$) konsantrasyonlarında hücre canlılığında anlamlı bir azalma görülürken $İK_{50}$ değeri 356 μ M olarak bulunmuştur (Şekil 4.7). 48 saat maruziyette de yine aynı konsantrasyonlarda hücre canlılığında istatistiksel olarak anlamlı azalmalar tespit edilmiştir (250 μ M ($p=.0025$) ve 500 μ M ($p<.0001$)) ve $İK_{50}$ değeri 259 μ M olarak bulunmuştur (Şekil 4.8). MTT deneyinde olduğu gibi, BP-1, BP-3'e kıyasla en yüksek konsantrasyonda hücre canlılığında daha belirgin bir azalmaya neden olmuştur.

Şekil 4.7

NKA Testi BP-1 24 Saat Maruziyet Sonuçları

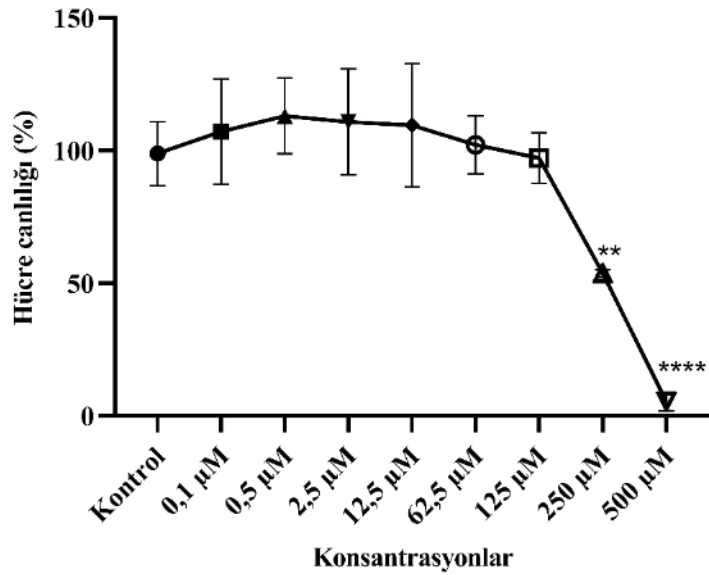


Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir.

($p=.0002$); *($p<.0001$)

Şekil 4.8

NKA Testi BP-1 48 Saat Maruziyet Sonuçları



Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. **

($p=.0025$); ****($p<.0001$)

4.2 Reaktif Oksijen Türevi Bulguları

Deneylerde, her iki madde için 24 saat maruziyet sonrasında MTT testi ile belirlenen İK₁₀, İK₂₀ ve İK₃₀ konsantrasyonları uygulanmıştır. BP-3 uygulanan gruplarda hiçbir konsantrasyonda kontrole kıyasla anlamlı bir değişim gözlenmezken, BP-1 tüm konsantrasyonlarda ROT oluşumunda kontrol grubuna göre anlamlı bir artışa neden olmuştur (İK₁₀: $p=.0082$, İK₂₀: $p=.0012$). İK₃₀ konsantrasyonunda bu artış en fazladır ($p<0,0001$). Ayrıca pozitif kontrol de anlamlı bir ROT artışına sebep olmuştur ($p=.0074$) (Tablo 4.1) (Şekil 4.9).

Tablo 4.1

Reaktif Oksijen Türevi Bulguları Tablosu

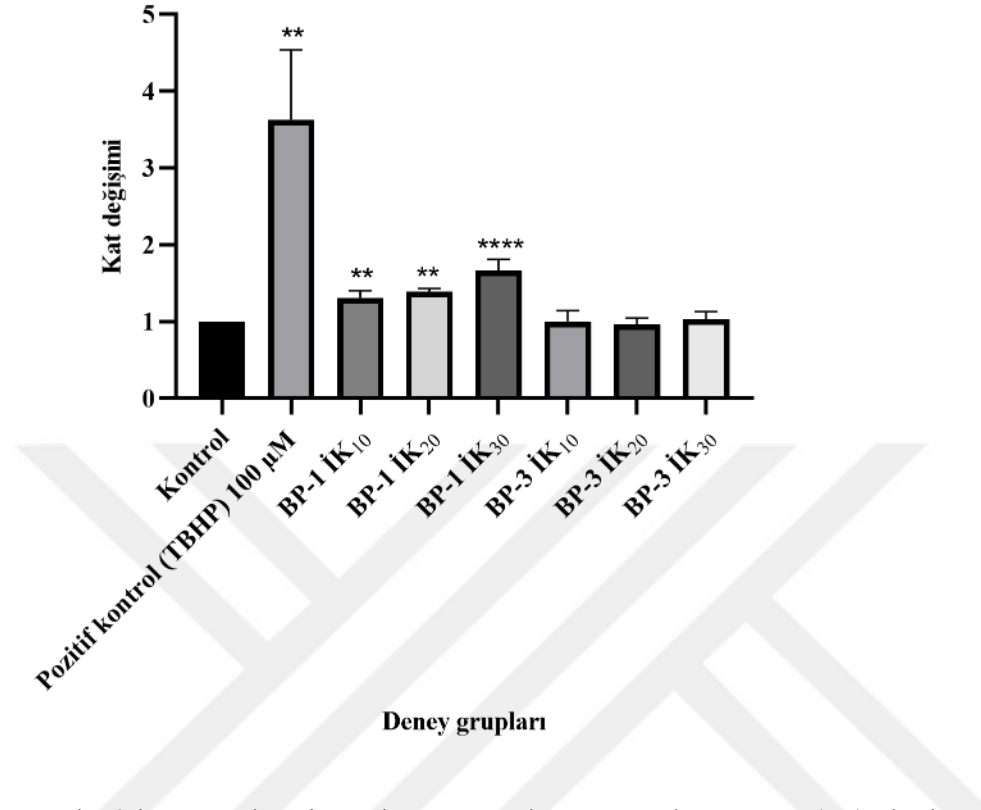
Deney grupları	Kat Değişimi
Kontrol	1 ± 0
Pozitif kontrol (100 μ M TBHP)	$3,63 \pm 0,91$
BP-1 İK ₁₀	$1,31 \pm 0,09$ **
BP-1 İK ₂₀	$1,39 \pm 0,04$ **
BP-1 İK ₃₀	$1,66 \pm 0,14$ ****
BP-3 İK ₁₀	$1,00 \pm 0,14$
BP-3 İK ₂₀	$0,96 \pm 0,08$
BP-3 İK ₃₀	$1,03 \pm 0,10$

Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. BP1: İK₁₀: ** ($p=.0082$), İK₂₀: ** ($p=.0012$), İK₃₀: **** ($p<0,0001$), pozitif kontrol: ** ($p=.0074$)

TBHP: Tert-bütül hidroperoksit; BP-1: Benzofenon-1; BP-3: Benzeofenon-3, oksibenzon; İK₁₀: Hücre canlılığında %10 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₂₀: Hücre canlılığında %20 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₃₀: Hücre canlılığında %30 inhibisyona neden olan konsantrasyon

Şekil 4.9

Reaktif Oksijen Türevleri Bulguları



Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir. BP-1: İK₁₀: ** ($p=.0082$), İK₂₀: ** ($p=.0012$), İK₃₀: **** ($p<0,0001$), pozitif kontrol: ** ($p=.0074$)

TBHP: Tert-bütül hidroperoksit; BP-1: Benzofenon-1; BP-3: Benzeofenon-3, oksibenzon; İK₁₀: Hücre canlılığında %10 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₂₀: Hücre canlılığında %20 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₃₀: Hücre canlılığında %30 inhibisyona neden olan konsantrasyon

4.3 DNA Hasarı Bulguları

Her iki madde için, 24 saat maruziyet sonrasında MTT testi ile belirlenen İK₁₀, İK₂₀ ve İK₃₀ konsantrasyonları kullanılmıştır. Comet yöntemi sonuçları, her iki maddenin bu konsantrasyonlarda kontrol grubuna göre yüzde kuyruk yoğunluğu bakımından istatistiksel olarak anlamlı bir değişim göstermediğini ortaya koymuştur (Tablo 4.2) (Şekil 4.10).

Tablo 4.2*DNA Hasarı Bulguları Tablosu*

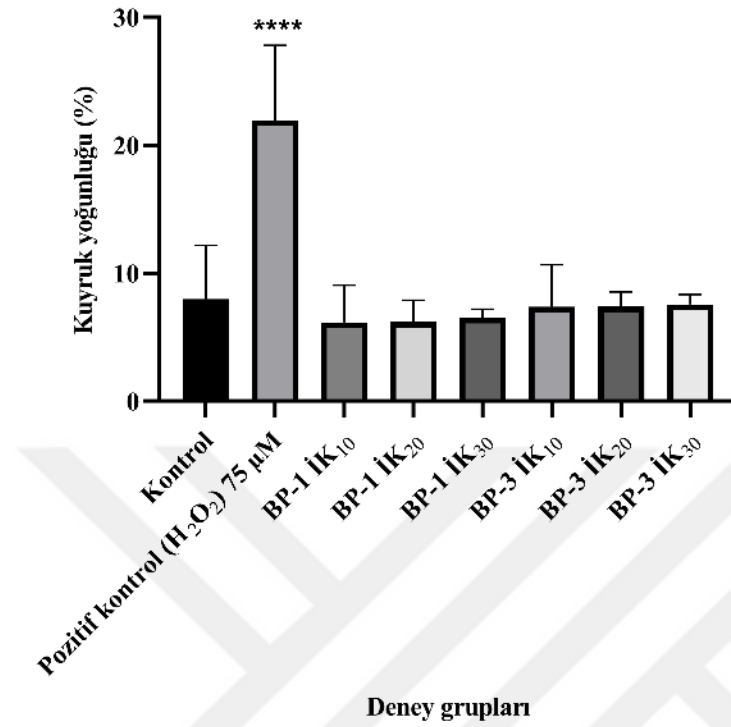
Deney grupları	Kuyruk yoğunluğu (%)
Kontrol	7,99 ± 4,21
Pozitif kontrol (75 µM H ₂ O ₂)	21,94 ± 5,87
BP-1 İK ₁₀	6,17 ± 2,89
BP-1 İK ₂₀	6,20 ± 1,70
BP-1 İK ₃₀	6,53 ± 0,65
BP-3 İK ₁₀	7,38 ± 3,23
BP-3 İK ₂₀	7,41 ± 1,12
BP-3 İK ₃₀	7,57 ± 0,78

Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması ± ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir.

H₂O₂: Hidrojen peroksit; BP-1: Benzofenon-1; BP-3: Benzeofenon-3, oksibenzon; İK₁₀: Hücre canlılığında %10 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₂₀: Hücre canlılığında %20 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₃₀: Hücre canlılığında %30 inhibisyona neden olan konsantrasyon

Şekil 4.10

DNA Hasarı Bulguları

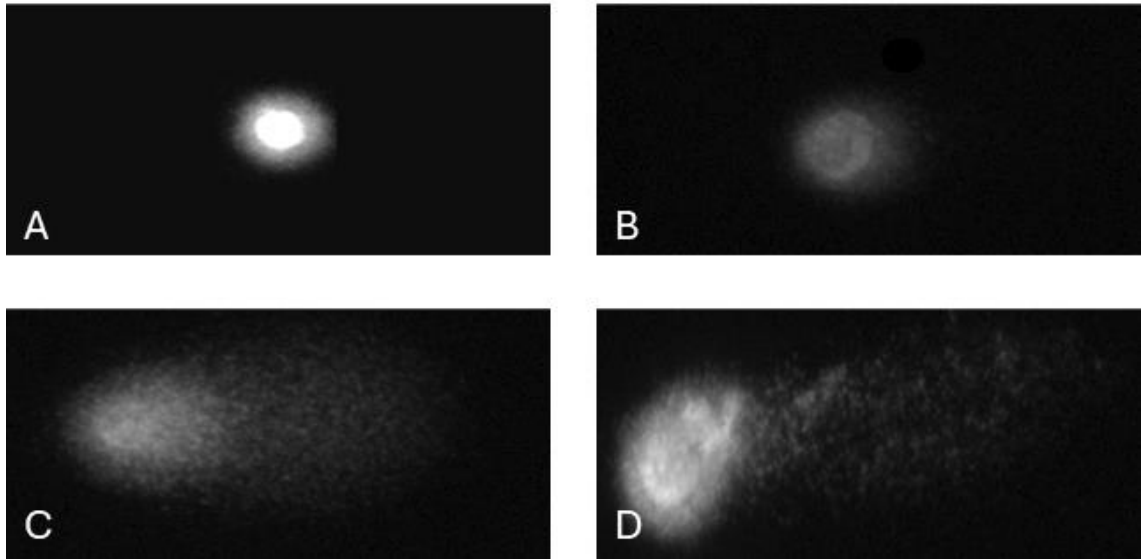


Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir.

H₂O₂: Hidrojen peroksit; BP-1: Benzofenon-1; BP-3: Benzeofenon-3, oksibenzon; İK₁₀: Hücre canlılığında %10 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₂₀: Hücre canlılığında %20 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₃₀: Hücre canlılığında %30 inhibisyona neden olan konsantrasyon

Görsel 4.1

Farklı Düzeylerde DNA Hasarını Gösteren Comet Görüntüleri



A: Normal, B: Az hasarlı, C, D: Orta/Yüksek düzeyde hasarlı

4.4 Testosteron Düzeyleri

Benzofenon-3 ve BP-1'in İK₁₀, İK₂₀ ve İK₃₀ konsantrasyonlarının 24 saat maruziyeti ile oluşan testosteron düzeyleri ölçülmüştür. Kontrol grubuna kıyasla testosteron düzeylerinde istatistiksel olarak anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir (**Tablo 4.3**) (**Şekil 4.11**).

Tablo 4.3

Testosteron Düzeyi Bulguları Tablosu

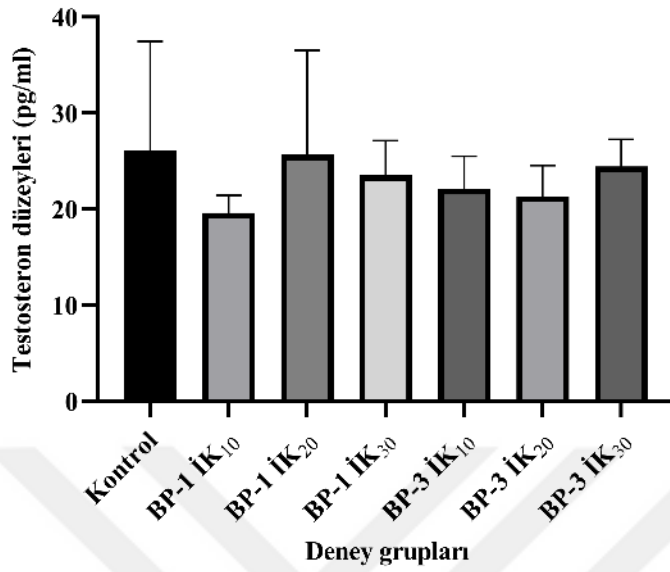
Deney grupları	Testosteron konsantrasyonları (pg/ml)
Kontrol	26,16 ± 11,30
BP-1 İK ₁₀	19,61 ± 1,83
BP-1 İK ₂₀	25,69 ± 10,87
BP-1 İK ₃₀	23,56 ± 3,59
BP-3 İK ₁₀	22,11 ± 3,40
BP-3 İK ₂₀	21,36 ± 3,17
BP-3 İK ₃₀	24,44 ± 2,85

Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması ± ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir.

BP-1: Benzofenon-1; BP-3: Benzeofenon-3, oksibenzon; İK₁₀: Hücre canlılığında %10 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₂₀: Hücre canlılığında %20 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₃₀: Hücre canlılığında %30 inhibisyona neden olan konsantrasyon

Şekil 4.11

Testosteron Düzeyi Bulguları



Sonuçlar 3 bağımsız deneyin ortalaması $\pm$ ortalamanın standart sapması (SD) olarak verilmiştir.

BP-1: Benzofenon-1; BP-3: Benzeofenon-3, oksibenzon; İK₁₀: Hücre canlılığında %10 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₂₀: Hücre canlılığında %20 inhibisyona neden olan konsantrasyon; İK₃₀: Hücre canlılığında %30 inhibisyona neden olan konsantrasyon

5 SONUÇ, TARTIŞMA VE ÖNERİLER

5.1 Sonuç

Bu çalışmada BP-3 ve BP-1'in TM3 hücreleri üzerindeki potansiyel toksik etkileri hücresel canlılık, ROT oluşumu, DNA bütünlüğü ve testosteron üretimi açısından değerlendirilmiştir. Bulgular, her iki bileşiğin de konsantrasyon artışıyla birlikte hücre canlılığında azalmaya neden olabildiğini, ancak bu etkinin BP-1 maruziyetinde daha belirgin olduğunu göstermektedir. BP-1'in uygulanan tüm konsantrasyonlarda ROT oluşumunu artırdığı, buna karşılık BP-3'ün ROT oluşumunu anlamlı biçimde tetiklemediği görülmüştür. Bununla birlikte, Comet yöntemi ile değerlendirilen DNA bütünlüğü açısından, bu deneysel koşullarda BP-1 ve BP-3 maruziyetinin TM3 hücrelerinde ölçülebilir düzeyde bir artışa yol açtığına dair bulgu elde edilmemiştir. Ayrıca her iki bileşiğin testosteron düzeyleri üzerinde anlamlı bir değişikliğe yol açmadığı belirlenmiştir.

Genel olarak değerlendirildiğinde, BP-1'in TM3 hücrelerinde BP-3'e kıyasla daha güçlü sitotoksik ve oksidatif etkiler oluşturabileceği, ancak her iki bileşiğin de incelenen koşullar altında DNA bütünlüğü ve testosteron üretimi üzerinde belirgin bir etkisinin olmadığı sonucuna varılabilir. Bu bulgular, TM3 hücrelerinde BP-1 ve BP-3 maruziyetinin potansiyel toksikolojik profiline ilişkin önemli bilgiler sunmakla birlikte, daha kapsamlı mekanistik çalışmalarla desteklenmeye ihtiyaç duymaktadır.

5.2 Tartışma

Son yıllarda UV ışınlarının zararlı etkileri konusunda yaşanan bilinçlenme ile beraber güneş koruyucu kullanımı da artış göstermiştir. İnorganik ve organik UV filtreler olarak sınıflandırılan güneş koruyucular her yaştan insan tarafından kullanılmakta ve ışıktan koruyucu olarak bazı endüstriyel ürünlerin bileşiminde de bulunmaktadır. Yaygın kullanımı sebebiyle UV filtrelerin insan sağlığında ve çevrede neden olabileceği potansiyel toksik etkilerin incelenmesi önem arz etmektedir. Ayrıca BP-3'ün de aralarında bulunduğu bazı UV filtreler endokrin bozucu etkilere sebep olmaktadır. Dünya genelinde artan infertilite problemleri de düşünüldüğünde, bu maddelerin erkek ve dişi üreme sistemine etkileri açısından da incelenmesi gerekmektedir.

Dünyada genelinde toprakta ve su kaynaklarında BP-3 varlığı tespit edilmiştir. Lipofilik bir madde olan BP-3 ayrıca bazı balıklarda da tespit edilerek biyoakümülyasyon

konusunda endişelere neden olmuştur (Schneider ve Lim, 2019). Dermal olarak uygulanan BP-3'ün %10'unun deriye nüfuz ederek sistemik dolaşıma girdiği tahmin edilmektedir (Wnuk vd., 2018). BP-3'ün başta BP-1 olmak üzere çeşitli metabolitlere dönüştüğü bilinmektedir. ABD'de NHANES kapsamında yapılan testlerde 2517 kişiden alınan idrar örneklerinin yaklaşık %97'sinde BP-3'e rastlandığı bildirilmiştir (Calafat vd., 2008). İnsanlardan alınan kan, süt, adipoz doku örneklerinde de BP-3'e rastlanmıştır. Ayrıca tırnak örneklerinde de BP-3 ve BP-1 tespit edilmiştir (Kim ve Choi, 2014; Martín-Pozo vd., 2021; Artacho-Cordón vd., 2018). İnsanlardaki maruziyet ve sistemik dolaşıma geçişi düşünüldüğünde BP-3 ve BP-1'in potansiyel toksik etkilerinin bilinmesi ve mekanizmalarının aydınlatılması önemlidir.

Bu çalışmada BP-3 ve ana metaboliti BP-1'in Leydig hücreleri üzerine olan toksik etkileri değerlendirilmiştir. Sitotoksik olmayan konsantrasyonlarda ROT oluşturma düzeyleri, DNA hasarına neden olup olmadıkları ve testosteron hormonu düzeyine olan etkileri incelenmiştir.

Benzofenon-3 ve BP-1'in sitotoksik etkileri iki farklı yöntem ile değerlendirilmiştir. Bu yöntemler sıklıkla kullanılan MTT ve NKA testidir. MTT testinin prensibi canlı hücrelerin mitokondrilerindeki dehidrojenazlar tarafından tetrazolyum tuzu olan MTT'yi suda çözünmeyen mor renkli formazan kristallerine dönüştürmesine dayanmaktadır. Böylece mitokondri metabolizması ölçülmekte ve dolaylı olarak canlı hücre sayısı belirlenmektedir (Repetto vd., 2008; Rai vd., 2018). NKA testinde ise nötral kırmızı boyası pasif difüzyon ile hücre zarından geçmekte ve lizozomlarda birirmektedir. Nötral kırmızının hücre içerisine alımı ve lizozomlarda tutulması ATP üretimi yoluyla pH farklarının korunmasına bağlıdır. Hücre öldüğünde ya da pH farkı azaldığında alım gerçekleşmez. Dolayısıyla tutulan boya miktarı, canlı hücrelerin sayısı ile doğru orantılıdır (Repetto vd., 2008). Çalışmamızda bu iki test kullanılarak hücre canlılığı iki farklı mekanizma üzerinden değerlendirilmiştir. BP-3, 24 saat maruziyette hem MTT hem NKA'da hücre canlılığını azaltmış; 48 saatte ise bu azalma özellikle MTT'de belirginleşirken, NKA'da tespit edilen inhibisyon daha sınırlı düzeyde kalmıştır. Bu durum BP-3'ün sitotoksik etkisinin ağırlıklı olarak mitokondriyal fonksiyonlar üzerinden gelişebileceğini düşündürmektedir. BP-1 ise her iki yöntem ve maruziyet süresinde, BP-3'e kıyasla daha tutarlı ve belirgin bir canlılık inhibisyonuna

neden olmuştur. Bu bulgular, BP-1'in hem mitokondriyal hem lizozomal fonksiyonları etkileyen daha geniş bir sitotoksik profile sahip olabileceğini düşündürmektedir.

NIH-3T3 fare fibroblast hücre hattında BP-3 sitotoksitesinin MTT testi ile değerlendirildiği bir çalışmada 24 saat maruziyette 125 ve 250 µM konsantrasyonlarında hücre canlılığının azaldığı gösterilmiştir. Yine aynı çalışmada BP-3'ün TM3 hücrelerindeki etkisi de değerlendirilmiş ve 62,5, 125, 250, 500 µM konsantrasyonlarında hücre canlılığında konsantrasyona bağımlı bir azalma görülmüştür. NIH-3T3 hücrelerine kıyasla, TM3 hücrelerinde hücre canlılığında daha belirgin bir azalma görülmüştür. Bu sonuca göre BP-3'ün üreme sistemiyle ilişkili olmayan hücrelere kıyasla erkek üreme sistemi ile ilişkili hücrelerde sitotoksik etkiler gösterebileceği raporlanmıştır (Sung vd., 2024). Başka bir çalışmada sıçan timositlerinde 300 µM BP-3 maruziyeti (3 saat) hücre ölümüne sebep olurken, 30 ve 100 µM konsantrasyonları hücre canlılığında önemli bir etkiye neden olmamıştır. Ayrıca BP-3'ün hücredeki Zn^{2+} seviyelerini ve hücrenin oksidatif stres hassasiyetini artırdığı bildirilmiştir (Utsunomiya vd., 2019). SH-SY5Y nöroblastoma hücre hattında BP-3'ün sitotoksik etkileri laktat dehidrojenaz salımı ve MTT testi ile değerlendirilmiştir. En yüksek konsantrasyonda (100 µM) 24 saat maruziyette anlamlı sitotoksik etki görülmüştür. Bununla birlikte, BP-3 en düşük konsantrasyonda (0,01 µM) bile apoptozla ilişkili kaspaz-3 aktivitesini yükseltmiştir (Broniowska vd., 2016). İnsan deri fibroblastlarında 24 saat 25, 50, ve 100 µM BP-3 maruziyetinin, hücre canlılığında konsantrasyona bağımlı bir azalmaya sebep olduğu gösterilmiştir (Galicka ve Sutkowska-Skolimowska, 2021).

İnsan hepatoma hücre hattı SMMC-7721'de 24 saat BP-1 maruziyetinin (10, 50, 200 ve 300 µg/mL) konsantrasyona bağımlı olarak hücre canlılığında azalmaya yol açtığı belirlenmiştir. BP-3 maruziyetinde (10, 50, 200 ve 300 µg/mL) ise düşük konsantrasyonda hücre canlılığında bir artış görülmüş daha sonra ise konsantrasyona bağımlı bir azalma tespit edilmiştir. Hücre canlılığındaki azalma çalışmamızda olduğu gibi BP-1 maruziyetinde daha fazladır. Ayrıca BP-3 maruziyetinde düşük konsantrasyonda yaşanan artışın hormesis olduğu bildirilmiştir. Bunlara ek olarak BP-1 ve BP-3'ün apoptoza sebep olabileceği gösterilmiştir (Tian vd., 2025).

Bu çalışmalar ve bizim çalışmamız birlikte değerlendirildiğinde BP-3 ve BP-1'in çeşitli hücre hatlarında sitotoksositeye neden olabileceği anlaşılmaktadır. Çalışmamızda $İK_{50}$

değerlerine bakıldığında BP-1 için hücre canlılığındaki azalma BP3-e göre daha fazladır. BP-3'ün kan dolaşımına geçtiği ve BP-1'in insanlarda ana metabolit olduğu düşünüldüğünde, bu sonuç BP-3 ile beraber BP-1'in de toksisitesinin değerlendirilmesinin gerekli olduğunu göstermektedir. Buna ek olarak, literatürde BP-1 ile ilgili olarak BP-3'e kıyasla sınırlı sayıda toksisite çalışması mevcuttur. Bu bağlamda, elde edilen bulguların literatüre potansiyel bir katkı sunabileceği değerlendirilmektedir.

Benzofenon-1 ve BP-3'ün ROT oluşturma düzeyi DCFDA yöntemi ile değerlendirilmiştir. Bu boya canlı hücrelerde floresan özellik gösteren DCF'ye dönüşerek ROT düzeyinin ölçülmesini sağlamaktadır (Tetz vd., 2013). Çalışmamızda DCFDA yöntemi sonuçlarına göre BP-1, İK₁₀, İK₂₀ ve İK₃₀ subletal konsantrasyonlarda ROT düzeylerini istatistiksel olarak anlamlı ve konsantrasyona bağımlı biçimde artırmıştır. Buna karşılık BP-3 maruziyetinde aynı konsantrasyonlarda ROT düzeylerinde anlamlı bir değişiklik gözlenmemiştir. Bir çalışmada BP-1, UV radyasyonu ayrıca güneş ışığı maruziyeti altında insan keratinositleri HaCaT hücrelerinde ROT oluşumunu artırmıştır (Amar vd., 2015). İnsan hepatoma hücre hattı SMMC-7721'de yapılan hücre canlılığı çalışmasında 24 saat BP-1 maruziyetinde konsantrasyona bağımlı bir ROT artışı olduğu gösterilmiştir. BP-3 maruziyetinde ise düşük konsantrasyonda ROT miktarında bir azalma gözlenmiş, ardından konsantrasyona bağımlı olarak ROT miktarında artış meydana gelmiştir. Bu çalışmada BP'lerin ROT üretimine, antioksidan sisteminin bozulmasına, mitokondriyel ve nükleer hasar ile apoptozu indüklenmesine sebep olduğu raporlanmıştır (Tian vd., 2025). Bir *in vivo* çalışmada, sıçanlarda dermal BP-3 maruziyetinin beyindeki antioksidan aktiviteyi önemli bir şekilde azalttığı ve lipid peroksidasyonunu artırdığı gösterilmiştir (Budziszewska vd., 2018). Benzer olarak zebra balıklarının beyinlerinde de BP-3'ün oksidatif strese neden olduğu görülmüştür (Moreira vd., 2024). Buna karşılık, 5, 25, 50 ve 500 µg/L konsantrasyonlarında BP-3 maruziyetinin ahtapot (*Octopus maya*) embriyolarında oksidatif stres oluşturmadığı raporlanmıştır (Moreno-Ortiz vd., 2023). BP-3'ün ROT oluşturma konusunda farklı sonuçlar göstermesi, kullanılan hücre türlerinin ve canlı türlerinin farklı olmasına bağlı olarak açıklanabilir. BP-1 konusunda ise BP-3'e oranla çalışmalar sınırlıdır ancak elimizdeki verilere göre ROT oluşumuna neden olduğu söylenebilir.

Tek hücre jel elektroforezi olarak da adlandırılan Comet yöntemi, DNA sarmallarının elektrik akımı ile hareket ederek floresan mikroskopunda kuyruklu yıldız (comet) görüntüsü oluşturması esasına dayanmaktadır. Hasar ne kadar fazlaysa DNA'nın hareketi de o kadar fazla olmaktadır. Nötral Comet yöntemi ile sadece çift zincir kırıklarının, alkali Comet yöntemi ile DNA'daki çift zincir kırıklarına ek olarak tek zincir kırıkları ve alkali labil bölgeler belirlenebilmektedir (Collins, 2004; Pribakovic vd., 2025). Çalışmamızda alkali Comet yöntemi sonuçlarına göre, BP-3 ve BP-1 İK₁₀, İK₂₀ ve İK₃₀ subletal konsantrasyonlarında DNA hasarında anlamlı bir artışa yol açmadığı belirlenmiştir. Çalışmamızda BP-1'in ROS düzeylerini artırması, oksidatif DNA hasarı olasılığını gündeme getirmiştir; ancak Comet analizinde anlamlı bir artış saptanmamıştır. Bu durum, hücresel ROS artışının tek ya da çift iplik kırığı oluşturacak ölçüde yoğun ya da kalıcı olmayabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca oluşan ROS'un hücresel antioksidan savunma tarafından etkin şekilde nötralize edilerek hasar vermeksizin tolere edilmiş olma ihtimali de göz ardı edilemez. Bunun yanında BP-1'in okside baz oluşumu gibi Comet yöntemiyle tespit edilmesi güç olabilecek farklı bir hasar tipi oluşturması veya onarım mekanizmalarının hızlı yanıt vererek olası hasarı gidermesi de mümkündür. Sonuçlarımızı destekleyen şekilde, genetik hasarı belirleyen bakteriyel bir test olan SOS-umu yöntemi ile BP-3'ün genotoksisitesi bir çalışmada değerlendirilmiş ve genotoksik bulunmamıştır (Zhang vd., 2016; Oda, 2016). Sıçanların kemik iliğinde gerçekleştirilen *in vivo* kromozomal aberasyon testinde BP-3 klastojenik bulunmamıştır (Robison vd., 1994). Öte yandan, insan lenfositlerinde *in vitro* BP-3 maruziyetinin kontrole oranla kromozomal aberasyon ve mikronükleus frekansında artışa sebep olduğu bulunmuştur (Santovito, 2018). Başka bir çalışmada, BP-3'ün 17 β -östradiol uygulamasına benzer ve Er α bağımlı olarak DNA hasarı artışına neden olduğu bulunmuştur. BP-3'ün 1 ve 5 μ M konsantrasyonlarında insan meme kanseri hücre hattı olan T47D hücrelerinde ve 1-30 μ M konsantrasyonlarında MCF-7 hücrelerinde γ -H2AX yoğunluğunu artırdığı yani DNA hasarına sebep olduğu gösterilmiştir. Ayrıca T47D ve MCF-7 hücrelerinde 1 ve 5 μ M BP-3 maruziyeti sonucunda DNA hasarını belirten 53BP1 (p53 bağlanma proteini 1) düzeyinde artışa neden olduğu raporlanmıştır. Yine aynı çalışmada farelerde meme dokusunda BP-3'ün kontrole oranla DNA hasarı artışına sebep olduğu bulunmuştur (Majhi vd., 2020). Bütün bu sonuçlar birlikte değerlendirildiğinde BP-3'ün genotoksik etkisinin değerlendirmede kullanılan yöntemlere ve hücre türlerine göre değiştiği söylenebilir. Aynı zamanda BP-3'ün

hormona hassas bölgelerde DNA hasarına yol açması östrojenik aktivitesinden kaynaklanabilir (Stork vd., 2016; Majhi vd., 2020).

Benzofenonon-1'in genotoksisitesini değerlendiren az sayıda çalışma vardır. *İn vitro* koşullarda insan lenfositlerinde BP-1 mikronükleus artışına sebep olmamaktadır (SCCS, 2025). Yapılan Ames testlerinde BP-1'in mutajenitesi genellikle negatif bulunmuştur (SCCS, 2025). Ancak bir çalışmada S9 fraksiyonu yokluğunda TA97 ve TA100 suşlarında BP-1'in mutajen olduğu gösterilmiştir (Wang vd., 2018). HaCaT hücrelerinde yapılan Comet ve mikronükleus testlerinde BP-1 UV radyasyon altında DNA hasarını artırmıştır (Amar vd., 2015). BG-1 insan yumurtalık kanseri hücrelerinde BP-1'in östrojen reseptör bağımlı olarak metastaza sebep olabileceği tespit edilmiştir (Shin vd., 2016). SKOV3 hücrelerinde gerçekleştirilen bir çalışmada da benzer sonuçlar raporlanmıştır (Liu vd., 2022). Aynı zamanda, BP-1'in Erα bağımlı olarak MCF-7 hücrelerinin proliferasyonunu artırabileceği de bildirilmiştir (In, 2015). BP-1'in hormon ile ilişkili kanser hücrelerinde gösterdiği bu sonuçlar, BP-3'te olduğu gibi östrojen reseptör bağımlı olarak DNA hasarına sebep olabileceğini düşündürmektedir (Stork vd., 2016; Majhi vd., 2020). Ancak bu hasara sebep olabileceğini direkt olarak kanıtlayan çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Erkek infertilitesi birçok farklı unsurun etkili olduğu, karmaşık yapıya sahip bir sağlık sorunudur. Spermatogenezin dinamik ve hassas işleyişinin sürdürülebilmesi için hormonal dengenin korunması büyük önem taşımaktadır. Nitekim literatürde hormonal bozukluklar ile erkek infertilitesi arasındaki bağlantı tutarlı biçimde gösterilmiştir. Bu süreç, testosteron başta olmak üzere çeşitli hormonların uygun düzeylerde bulunmasına bağımlıdır (Dhikhirullahi ve Zhang, 2025). Steroid yapıya sahip cinsiyet hormonlarının BP-3 ile ilişkisinin değerlendirildiği bir çalışmada, yetişkin erkeklerde BP-3 seviyelerinin total testosteron seviyeleri ile ters korelasyon gösterdiği raporlanmış ve BP-3 testosteron eksikliği için bir risk faktörü sayılmıştır (Tao vd., 2022). Benzer şekilde, BP-3 ergenlik çağındaki erkeklerde serum total testosteron seviyesi düşüklüğü ile ilişkilendirilmiştir (Scinicariello ve Buser, 2016). Bunlara ek olarak prenatal ve laktasyon sırasında BP-3'e maruz kalan sıçanlarda testosteron seviyeleri kontrol gruplarına göre daha düşük ölçülmüştür (Nakamura vd., 2018). *İn vitro* koşullarda testis hücrelerinde BP-3 ve BP-1'in testosteron düzeylerine olan etkileri ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Ancak bir çalışmada BP-1'in Leydig hücrelerinde testosteron

sentezinin son basamağını katalizleyen 17 β -hidroksisteroid dehidrojenaz tip 3'ü inhibe ettiği gösterilmiştir (İK₅₀: 1,05 μ M). Aynı çalışmada, BP-3 ise önemli bir inhibisyon göstermemiştir. Bununla birlikte, çalışmada BP-1'in sıçan ve fare testislerinde testosteron oluşumunu da inhibe ettiği bildirilmiştir (Nashev vd., 2010). Çalışmamızda ise BP-3 ve BP-1'in İK₁₀, İK₂₀ ve İK₃₀ subletal konsantrasyonlarda maruziyeti, testosteron düzeylerinde kontrole kıyasla hafif bir azalma eğilimi göstermiş olmakla birlikte, bu değişiklikler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır.

5.3 Öneriler

Benzofenon-3'ün ve ana metaboliti BP-1'in çevrede ve insanlardaki maruziyet düzeyleri düşünüldüğünde potansiyel toksik etkilerinin belirlenmesi önem arz etmektedir. Bu amaçla;

- BP-3 ve BP-1'in sitotoksisite oluşturma mekanizmalarının daha iyi açıklanabilmesi için apoptoz göstergeleri, mitokondriyal membran potansiyeli, ATP ölçümü, lizozomal bütünlük analizi gibi araştırmalar yapılabilir.
- Ayrıca oksadif stresin değerlendirilmesi adına antioksidan enzim aktiviteleri, lipid peroksidasyon ürün düzeyleri gibi parametreler incelenebilir.
- BP-3 ve BP-1'in çeşitli yöntemlerle DNA hasarı oluşumuna etkilerinin incelenmesi literatüre katkı sağlayabilir.
- *In vitro* düzeyde her iki maddenin de erkek üreme sistemine etkisinin daha kapsamlı değerlendirilmesi için Sertoli ve germ hücrelerinde potansiyel sitotoksisite ve genotoksisite oluşumu ve mekanizmaları araştırılabilir.
- BP-3 ve BP-1'in endokrin bozucu aktivitelerinin dişi üreme sisteminde ve diğer hormon etkili sistemlerde değerlendirilmesi için çeşitli hücre hatları kullanılarak mekanizmaların aydınlatılması için çalışmalar yapılabilir.
- UV filtreler preparatlarda karışım halinde bulunduğundan, diğer UV filtreler ile kombinasyonlarının potansiyel toksisitelerinin incelenmesi toksikolojik açıdan önemli katkılar sunabilir.

KAYNAKÇA

- Adoamnei, E., Mendiola, J., Moñino-García, M., Vela-Soria, F., Iribarne-Durán, L. M., Fernández, M. F., Olea, N., Jørgensen, N., Swan, S. H., Torres-Cantero, A. M. (2018). Urinary concentrations of benzophenone-type ultra violet light filters and reproductive parameters in young men. *International journal of hygiene and environmental health*, 221(3), 531–540. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2018.02.002>
- Ahn, C., Jeung, E.-B. (2023). Endocrine-Disrupting Chemicals and Disease Endpoints. , 24(6), 5342. <https://doi.org/10.3390/ijms24065342>
- Aker, A. M., Johns, L., McElrath, T. F., Cantonwine, D. E., Mukherjee, B., Meeker, J. D. (2018). Associations between maternal phenol and paraben urinary biomarkers and maternal hormones during pregnancy: A repeated measures study. *Environment International*, 113, 341–349. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.01.006>
- Aladamat, N., ve Tadi, P. (2022, November 14). *Histology, Leydig cells*. In StatPearls [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK556007/>
- Alamer, M., Darbre, P. D. (2018). Effects of exposure to six chemical ultraviolet filters commonly used in personal care products on motility of MCF-7 and MDA-MB-231 human breast cancer cells *in vitro*. *Journal of Applied Toxicology*, 38(2), 148–159. <https://doi.org/10.1002/jat.3525>
- Almstrup, K., Frederiksen, H., Andersson, A. M., & Juul, A. (2020). Levels of endocrine-disrupting chemicals are associated with changes in the peri-pubertal epigenome. *Endocrine connections*, 9(8), 845–857. <https://doi.org/10.1530/EC-20-0286>
- Amar, S. K., Goyal, S., Dubey, D., Srivastav, A. K., Chopra, D., Singh, J., Shankar, J., Chaturvedi, R. K., Ray, R. S. (2015). Benzophenone 1 induced photogenotoxicity and apoptosis via release of cytochrome c and Smac/DIABLO at environmental UV radiation. *Toxicology letters*, 239(3), 182–193. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2015.09.024>
- Araki, S. M., Baby, A. R. (2025). New Perspectives on Titanium Dioxide and Zinc Oxide as Inorganic UV Filters: Advances, Safety, Challenges, and Environmental Considerations. *Cosmetics*, 12(2), 77. <https://doi.org/10.3390/cosmetics12020077>
- Artacho-Cordón, F., Fernández, M. F., Frederiksen, H., Iribarne-Durán, L. M., Jiménez-Díaz, I., Vela-Soria, F., Andersson, A. M., Martín-Olmedo, P., Peinado, F. M., Olea, N., Arrebola, J. P. (2018). Environmental phenols and parabens in adipose tissue from hospitalized adults in Southern Spain. *Environment international*, 119, 203–211. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.05.052>
- Ates, G., Vanhaecke, T., Rogiers, V., Rodrigues, R.M. (2017). Assaying Cellular Viability Using the Neutral Red Uptake Assay. In: Gilbert, D., Friedrich, O. (eds) Cell Viability Assays. *Methods in Molecular Biology*, vol 1601. Humana Press, New York, NY. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-6960-9_2

- Bay, K., Asklund, C., Skakkebaek, N. E., Andersson, A.-M. (2006). Testicular dysgenesis syndrome: Possible role of endocrine disrupters. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, 20(1), 77–90. <https://doi.org/10.1016/j.beem.2005.09.004>
- Baysal, M., Atlı-Eklioğlu, Ö. (2021). Comparison of the toxicity of pure compounds and commercial formulations of imidacloprid and acetamiprid on HT-29 cells: Single and mixture exposure. *Food and chemical toxicology*, 155, 112430. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2021.112430>
- Bens G. (2014). Sunscreens. *Advances in experimental medicine and biology*, 810, 429–463. https://doi.org/10.1007/978-1-4939-0437-2_25
- Binder, A. M., Corvalan, C., Calafat, A. M., Ye, X., Mericq, V., Pereira, A., Michels, K. B. (2018). Childhood and adolescent phenol and phthalate exposure and the age of menarche in Latina girls. *Environmental health : a global access science source*, 17(1), 32. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0376-z>
- Breakell, T., Kowalski, I., Foerster, Y., Kramer, R., Erdmann, M., Berking, C., Heppt, M. V. (2024). Ultraviolet Filters: Dissecting Current Facts and Myths. *Journal of Clinical Medicine*, 13(10), 2986. <https://doi.org/10.3390/jcm13102986>
- Broniowska, Ż., Pomierny, B., Smaga, I., Filip, M., Budziszewska, B. (2016). The effect of UV-filters on the viability of neuroblastoma (SH-SY5Y) cell line. *Neurotoxicology*, 54, 44–52. <https://doi.org/10.1016/j.neuro.2016.03.003>
- Buck Louis, G. M., Chen, Z., Kim, S., Sapra, K. J., Bae, J., Kannan, K. (2015). Urinary concentrations of benzophenone-type ultraviolet light filters and semen quality. *Fertility and sterility*, 104(4), 989–996. <https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2015.07.1129>
- Budziszewska, B., Broniowska, Ż., Pomierny, B., Starek-Świechowicz, B., Krzyżanowska, W., Bystrowska, B., Strach, B. (2018). Benzophenone-3 concentration and its effect on oxidative stress markers in rat brain. *Proceedings for Annual Meeting of the Japanese Pharmacological Society*, WCP2018, PO4-1-45. https://doi.org/10.1254/jpssuppl.WCP2018.0_PO4-1-45
- Buttke, D. E., Sircar, K., Martin, C. (2012). Exposures to endocrine-disrupting chemicals and age of menarche in adolescent girls in NHANES (2003-2008). *Environmental health perspectives*, 120(11), 1613–1618. <https://doi.org/10.1289/ehp.1104748>
- Calafat, A. M., Weuve, J., Ye, X., Jia, L. T., Hu, H., Ringer, S., Huttner, K., Hauser, R. (2009). Exposure to bisphenol A and other phenols in neonatal intensive care unit premature infants. *Environmental health perspectives*, 117(4), 639–644. <https://doi.org/10.1289/ehp.0800265>
- Calafat, A. M., Wong, L. Y., Ye, X., Reidy, J. A., Needham, L. L. (2008). Concentrations of the sunscreen agent benzophenone-3 in residents of the United States: National Health and Nutrition Examination Survey 2003--2004. *Environmental health perspectives*, 116(7), 893–897. <https://doi.org/10.1289/ehp.11269>
- Casals-Casas, C., Desvergne, B. (2011). Endocrine disruptors: from endocrine to metabolic disruption. *Annual review of physiology*, 73, 135–162. <https://doi.org/10.1146/annurev-physiol-012110-142200>

- Chhabra, R.S. (2000). NTP Technical Report on the Toxicity Studies of Benzophenone (CAS No. 119-61-9) Administered in Feed to F344/N Rats and B6C3F1 Mice. *National Toxicology Program Toxicity Report Series Number 61*, NIH Publication No. 00-3943.
- Collins, A., Møller, P., Gajski, G., Vodenková, S., Abdulwahed, A., Anderson, D., Bankoglu, E. E., Bonassi, S., Boutet-Robinet, E., Brunborg, G., Chao, C., Cooke, M. S., Costa, C., Costa, S., Dhawan, A., de Lapuente, J., Bo', C. D., Dubus, J., Dusinska, M., Duthie, S. J., ... Azqueta, A. (2023). Measuring DNA modifications with the comet assay: a compendium of protocols. *Nature protocols*, 18(3), 929–989. <https://doi.org/10.1038/s41596-022-00754-y>
- Corinaldesi, C., Marcellini, F., Nepote, E., Damiani, E., Danovaro, R. (2018). Impact of inorganic UV filters contained in sunscreen products on tropical stony corals (*Acropora* spp.). *Science of The Total Environment*, 637–638, 1279–1285. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2018.05.108>
- Coronado, M., De Haro, H., Deng, X., Rempel, M. A., Lavado, R., Schlenk, D. (2008). Estrogenic activity and reproductive effects of the UV-filter oxybenzone (2-hydroxy-4-methoxyphenyl-methanone) in fish. *Aquatic toxicology* (Amsterdam, Netherlands), 90(3), 182–187. <https://doi.org/10.1016/j.aquatox.2008.08.018>
- Creasy, D. M. (2001). Pathogenesis of male reproductive toxicity. *Toxicologic Pathology*, 29(1), 64–76. <https://doi.org/10.1080/019262301301418865>
- De Coster, S., van Larebeke, N. (2012). Endocrine-disrupting chemicals: associated disorders and mechanisms of action. *Journal of Environmental and Public Health*, 2012, Article 713696. <https://doi.org/10.1155/2012/713696>
- Del Río Barrera, T., Zambrano Ledesma, K. N., Aguilar Hernández, M., Reyes Chávez, K., Aguirre Barajas, A. F., Alvarez Vázquez, D. P., Garcia Santiago, G., Arias Castro, A. (2025). Endocrine Disruptors and Their Impact on Quality of Life: A Literature Review. *Cureus*, 17(5), e83890. <https://doi.org/10.7759/cureus.83890>
- Dhikhirullahi, O., & Zhang, Z. (2025). Male infertility. *Systems biology in reproductive medicine*, 71(1), 416–438. <https://doi.org/10.1080/19396368.2025.2548492>
- Dinçer, Y., Kankaya, S. (2010). DNA hasarının belirlenmesinde Comet Assay. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 30(4), 1365–1373. <https://doi.org/10.5336/medsci.2009-15258>
- Domínguez-López, I., Yago-Aragón, M., Salas-Huetos, A., Tresserra-Rimbau, A., Hurtado-Barroso, S. (2020). Effects of Dietary Phytoestrogens on Hormones throughout a Human Lifespan: A Review. *Nutrients*, 12(8), 2456. <https://doi.org/10.3390/nu12082456>
- Douglas, A.E., (2003). Coral bleaching—how and why?, *Marine Pollution Bulletin*, 46(4), 385-392. [https://doi.org/10.1016/S0025-326X\(03\)00037-7](https://doi.org/10.1016/S0025-326X(03)00037-7)
- Dünya Sağlık Örgütü. (2024, Mayıs 22). *Infertility*. Erişim tarihi 19 Eylül 2025 <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/infertility>
- Ellis, A. (2023). Bleached brain corals and staghorn corals, Sombrero Key Reef. NOAA. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Bleached_brain_corals_staghorn_corals_Sombrero_Key_Reef_summer_2023.png

- Erbaş, E. (2024). *Erkek üreme sistemi histolojisi*. S. P. Ergüven & G. Hekimoğlu (Ed.), *Sağlık & Bilim 2024: Histoloji ve Embriyoloji-I* (143–158). Efe Akademi Yayınları.
- Ernstmeyer, K., ve Christman, E. (Eds.). (2024). *Medical terminology* (2nd ed.). Chippewa Valley Technical College. In *Open Resources for Nursing (Open RN)*. Chapter 6 Male Reproductive System Terminology. National Center for Biotechnology Information (NCBI). <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK607440/>
- Ezekwe, N., Maghfour, J., & Kohli, I. (2022). Visible Light and the Skin. *Photochemistry and photobiology*, 98(6), 1264–1269. <https://doi.org/10.1111/php.13634>
- Florent, Y., Nemoto, M., Pratt, V., Rowley, A. (2024). Dangers of oxybenzone in sunscreens on coral reefs: Proposed policy approaches. *Journal of Science Policy & Governance*, 24(1). <https://doi.org/10.38126/JSPG240106>
- Frederiksen, H., Krause, M., Jørgensen, N., Rehfeld, A., Skakkebæk, N. E., Andersson, A.-M. (2021). UV filters in matched seminal fluid-, urine-, and serum samples from young men. *Journal of Exposure Science & Environmental Epidemiology*, 31(2), 345–355. <https://doi.org/10.1038/s41370-020-0209-3>
- Frederiksen, H., Nielsen, O., Koch, H. M., Skakkebaek, N. E., Juul, A., Jørgensen, N., Andersson, A. M. (2020). Changes in urinary excretion of phthalates, phthalate substitutes, bisphenols and other polychlorinated and phenolic substances in young Danish men; 2009-2017. *International journal of hygiene and environmental health*, 223(1), 93–105. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2019.10.002>
- French, J. E. (1992). NTP technical report on the toxicity studies of 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone (CAS No. 131-57-7) Administered Topically and in Dosed Feed to F344/N Rats and B6C3F1 Mice. *Toxicity report series*, 21, 1-E14.
- Gabros, S., Nessel, T.A., Zito, P.M., Sunscreens and Photoprotection. (2024). *StatPearls*. StatPearls Publishing.
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. (2012). An overview of UV-absorbing compounds (organic UV filters) in aquatic biota. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 404(8), 2597–2610. <https://doi.org/10.1007/s00216-012-6067-7>
- Gago-Ferrero, P., Díaz-Cruz, M. S., Barceló, D. (2015). UV filters bioaccumulation in fish from Iberian river basins. *Science of The Total Environment*, 518–519, 518–525. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2015.03.026>
- Galicka, A., Sutkowska-Skolimowska, J. (2021). The Beneficial Effect of Rosmarinic Acid on Benzophenone-3-Induced Alterations in Human Skin Fibroblasts. *International journal of molecular sciences*, 22(21), 11451. <https://doi.org/10.3390/ijms222111451>
- Ghasemi, M., Turnbull, T., Sebastian, S., Kempson, I. (2021). The MTT Assay: Utility, Limitations, Pitfalls, and Interpretation in Bulk and Single-Cell Analysis. *International journal of molecular sciences*, 22(23), 12827. <https://doi.org/10.3390/ijms222312827>

- Gilbert, S. F. (2000). *Developmental biology* (6th ed.). Sinauer Associates. Spermatogenesis. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK10095/>
- Giona, S. (2022). The epidemiology of testicular cancer. N. Barber & A. Ali (Ed.), *Urologic cancers* (Chapter 9). Exon Publications. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK585983/>
<https://doi.org/10.36255/exon-publications-urologic-cancers-epidemiology-testicular-cancer>
- Gu, J., Yuan, T., Ni, N., Ma, Y., Shen, Z., Yu, X., Shi, R., Tian, Y., Zhou, W., Zhang, J. (2019). Urinary concentration of personal care products and polycystic ovary syndrome: A case-control study. *Environmental research*, 168, 48–53. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.09.014>
- Guo, J., Wu, C., Zhang, J., Li, W., Lv, S., Lu, D., Qi, X., Feng, C., Liang, W., Chang, X., Zhang, Y., Xu, H., Cao, Y., Wang, G., Zhou, Z. (2020). Maternal and childhood urinary phenol concentrations, neonatal thyroid function, and behavioral problems at 10 years of age: The SMBCS study. *The Science of the total environment*, 743, 140678. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2020.140678>
- Gurung, P., Yetiskul, E., Jialal, I. (2023, May 1). *Physiology, male reproductive system*. In *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538429/>
- Hanneman, K.K, Cooper, K.D, Baron, E.D. (2006). Ultraviolet immunosuppression: mechanisms and consequences. *Dermatol Clin.* 24,19–25. <https://doi.org/10.1016/j.det.2005.08.003>
- Harley, K. G., Berger, K. P., Kogut, K., Parra, K., Lustig, R. H., Greenspan, L. C., Calafat, A. M., Ye, X., Eskenazi, B. (2019). Association of phthalates, parabens and phenols found in personal care products with pubertal timing in girls and boys. *Human reproduction* (Oxford, England), 34(1), 109–117. <https://doi.org/10.1093/humrep/dey337>
- Harley, K.G., Kogut, K., Madrigal, D.S., Cardenas, M., Vera, I.A., Meza-Alfaro, G., She, J., Gavin, Q., Zahedi, R., Bradman, A., Eskenazi, B., Parra, K.L., (2016). Reducing phthalate, paraben, and phenol exposure from personal care products in adolescent girls: Findings from the hermosa intervention study. *Environ. Health Perspect.* 124, 600–1607. <https://doi.org/10.1289/ehp.1510514>
- http-1: <https://www.abcam.com/en-us/products/assay-kits/dcfda-h2dcfda-cellular-ros-assay-kit-ab113851#tab=datasheet> (Erişim tarihi: 10.07.2024) ab113851 DCFDA / H2DCFDA - Cellular ROS Assay Kit)
- http-2: <https://www.abcam.com/products/elisa-kits/mouserat-testosterone-elisa-kit-ab285350.html> (Erişim tarihi: 10.07.2024) ab285350 – Mouse/Rat Testosterone ELISA Kit
- Huang, B., Wang, Z., Kong, Y., Jin, M., Ma, L. (2023). Global, regional and national burden of male infertility in 204 countries and territories between 1990 and 2019: An analysis of Global Burden of Disease Study. *BMC Public Health*, 23, 2195. <https://doi.org/10.1186/s12889-023-16793-3>
- Huang, Y., Wang, P., Law, J. C., Zhao, Y., Wei, Q., Zhou, Y., Zhang, Y., Shi, H., Leung, K. S. (2020). Organic UV filter exposure and pubertal development: A

- prospective follow-up study of urban Chinese adolescents. *Environment international*, 143, 105961. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.105961>
- In, S. J., Kim, S. H., Go, R. E., Hwang, K. A., Choi, K. C. (2015). Benzophenone-1 and nonylphenol stimulated MCF-7 breast cancer growth by regulating cell cycle and metastasis-related genes via an estrogen receptor α -dependent pathway. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 78(8), 492–505. <https://doi.org/10.1080/15287394.2015.1010464>
- İrkılata, H. C., Alp, B. F. (2012). İnmemiş testis etiyolojisi, epidemiyolojisi ve sınıflaması [Etiology, epidemiology and classification of undescended testis]. *Turkish Urology Seminars*, 3, 23–30.
- Jiang, Y., Zhao, H., Xia, W., Li, Y., Liu, H., Hao, K., Chen, J., Sun, X., Liu, W., Li, J., Peng, Y., Hu, C., Li, C., Zhang, B., Lu, S., Cai, Z., Xu, S. (2019). Prenatal exposure to benzophenones, parabens and triclosan and neurocognitive development at 2 years. *Environment International*, 126, 413–421. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2019.01.023>
- Jin, L., Zhu, H., Kang, X., Lin, L., Zhang, P., Tan, T., Yu, Y., Fan, Y. (2020). Melatonin protects against oxybenzone-induced deterioration of mouse oocytes during maturation. *Aging (Albany NY)*, 13, 2727–2749. <https://doi.org/10.18632/aging.202323>
- Kabir, E. R., Rahman, M. S., Rahman, I. (2015). A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 40(1), 241–258. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.06.009>
- Kariagina, A., Morozova, E., Hoshyar, R., Aupperlee, M. D., Borin, M. A., Haslam, S. Z., Schwartz, R. C. (2020). Benzophenone-3 promotion of mammary tumorigenesis is diet-dependent. *Oncotarget*, 11, 4465–4478. <https://doi.org/10.18632/oncotarget.27831>
- Kim, S. H., Hwang, K. A., Shim, S. M., Choi, K. C. (2015). Growth and migration of LNCaP prostate cancer cells are promoted by triclosan and benzophenone-1 via an androgen receptor signaling pathway. *Environmental toxicology and pharmacology*, 39(2), 568–576. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.01.003>
- Kim, S., Choi, K. (2014). Occurrences, toxicities, and ecological risks of benzophenone-3, a common component of organic sunscreen products: a mini-review. *Environment international*, 70, 143–157. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2014.05.015>
- Kim, S., Kim, S., Won, S., Choi, K. (2017). Considering common sources of exposure in association studies - Urinary benzophenone-3 and DEHP metabolites are associated with altered thyroid hormone balance in the NHANES 2007-2008. *Environment International*, 107, 25–32. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2017.06.013>
- Koda, T., Umez, T., Kamata, R., Morohoshi, K., Ohta, T., Morita, M. (2005). Uterotrophic effects of benzophenone derivatives and a p-hydroxybenzoate used in ultraviolet screens. *Environmental Research*, 98(1), 40–45. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2004.05.015>

- Krzyżanowska, W., Pomierny, B., Starek-Świechowicz, B., Broniowska, Ż., Strach, B., Budziszewska, B. (2018). The effects of benzophenone-3 on apoptosis and the expression of sex hormone receptors in the frontal cortex and hippocampus of rats. *Toxicology letters*, 296, 63–72. <https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2018.08.006>
- Kullavanijaya, P., Lim, H.W. (2005). Photoprotection. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 52(6), 937–962. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2004.07.063>
- Langford, K. H., Reid, M. J., Fjeld, E., Øxnevad, S., Thomas, K. V. (2015). Environmental occurrence and risk of organic UV filters and stabilizers in multiple matrices in Norway. *Environment international*, 80, 1–7. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.03.012>
- LaPlante, C. D., Bansal, R., Dunphy, K. A., Jerry, D. J., Vandenberg, L. N. (2018). Oxybenzone Alters Mammary Gland Morphology in Mice Exposed During Pregnancy and Lactation. *Journal of the Endocrine Society*, 2(8), 903–921. <https://doi.org/10.1210/js.2018-00024>
- Lavker, R.M., Gerberick, G.F., Veres, D., Irwin, C.J., Kaidbey, K.H. (1995). Cumulative effects from repeated exposures to sub erythematous doses of UVB and UVA in human skin. *J Am Acad Dermatol*. 32, 53–62. [https://doi.org/10.1016/0190-9622\(95\)90184-1](https://doi.org/10.1016/0190-9622(95)90184-1)
- Lee, H. R., Jeung, E. B., Cho, M. H., Kim, T. H., Leung, P. C., Choi, K. C. (2013). Molecular mechanism(s) of endocrine-disrupting chemicals and their potent oestrogenicity in diverse cells and tissues that express oestrogen receptors. *Journal of cellular and molecular medicine*, 17(1), 1–11. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2012.01649.x>
- Levine, H., Jørgensen, N., Martino-Andrade, A., Mendiola, J., Weksler-Derri, D., Jolles, M., Pinotti, R., Swan, S. H. (2023). Temporal trends in sperm count: A systematic review and meta-regression analysis of samples collected globally in the 20th and 21st centuries. *Human Reproduction Update*, 29(2), 157–176. <https://doi.org/10.1093/humupd/dmac035>
- Li, A. J., Xue, J., Lin, S., Al-Malki, A. L., Al-Ghamdi, M. A., Kumosani, T. A., Kannan, K. (2018). Urinary concentrations of environmental phenols and their association with type 2 diabetes in a population in Jeddah, Saudi Arabia. *Environmental research*, 166, 544–552. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.06.040>
- Liu, X., Zhan, T., Gao, Y., Cui, S., Liu, W., Zhang, C., Zhuang, S. (2022). Benzophenone-1 induced aberrant proliferation and metastasis of ovarian cancer cells via activated ER α and Wnt/ β -catenin signaling pathways. *Environmental pollution (Barking, Essex : 1987)*, 292(Pt B), 118370. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2021.118370>
- Lu, T. M. T., Le, N. P. T., Nguyen, T. D., Nguyen, M. D. (2025). Review on the application of inorganic UV filters in sunscreens: Mechanisms, evaluation methods, toxicity, and safety enhancements. *Results in Surfaces and Interfaces*, 20, 100580. <https://doi.org/10.1016/j.rsi.2025.100580>
- Lyons, A. B., Trullas, C., Kohli, I., Hamzavi, I. H., & Lim, H. W. (2021). Photoprotection beyond ultraviolet radiation: A review of tinted sunscreens.

- Journal of the American Academy of Dermatology, 84(5), 1393–1397.
<https://doi.org/10.1016/j.jaad.2020.04.079>
- Macedo, S., Teixeira, E., Gaspar, T. B., Boaventura, P., Soares, M. A., Miranda-Alves, L., Soares, P. (2023). Endocrine-disrupting chemicals and endocrine neoplasia: A forty-year systematic review. *Environmental research*, 218, 114869.
<https://doi.org/10.1016/j.envres.2022.114869>
- Majhi, P. D., Sharma, A., Roberts, A. L., Daniele, E., Majewski, A. R., Chuong, L. M., Black, A. L., Vandenberg, L. N., Schneider, S. S., Dunphy, K. A., Jerry, D. J. (2020). Effects of Benzophenone-3 and Propylparaben on Estrogen Receptor-Dependent R-Loops and DNA Damage in Breast Epithelial Cells and Mice. *Environmental health perspectives*, 128(1), 17002.
<https://doi.org/10.1289/EHP5221>
- Mantovani, A., Maranghi, F. (2005). Risk assessment of chemicals potentially affecting male fertility. *Contraception*, 72(4), 308–313.
<https://doi.org/10.1016/j.contraception.2005.04.014>
- Mao, J. F., Li, W., Ong, C. N., He, Y., Jong, M. C., Gin, K. Y. (2022). Assessment of human exposure to benzophenone-type UV filters: A review. *Environment international*, 167, 107405. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2022.107405>
- Maradonna, F., Batti, S., Marino, M., Mita, D. G., Carnevali, O. (2009). Tamoxifen as an emerging endocrine disruptor. effects on fish reproduction and detoxification target genes. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1163, 457–459.
<https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2008.03653.x>
- Marcellini, F., Varrella, S., Ghilardi, M., Barucca, G., Giorgetti, A., Danovaro, R., Corinaldesi, C. (2024). Inorganic UV filter-based sunscreens labelled as eco-friendly threaten sea urchin populations. *Environmental pollution* (Barking, Essex : 1987), 351, 124093. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.124093>
- Martín-Pozo, L., Gómez-Regalado, M. D. C., Cantarero-Malagón, S., Navalón, A., Zafra-Gómez, A. (2021). Determination of ultraviolet filters in human nails using an acid sample digestion followed by ultra-high performance liquid chromatography-mass spectrometry analysis. *Chemosphere*, 273, 128603.
<https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.128603>
- Mason, H. (2016). Male reproductive physiology and the fertilisation process. A. Fiander B. Thilaganathan (Ed.), *MRCOG Part One: Your Essential Revision Guide* (431–438). chapter, Cambridge: Cambridge University Press.
- Matouskova, K., Jerry, D. J., Vandenberg, L. N. (2020). Exposure to low doses of oxybenzone during perinatal development alters mammary gland morphology in male and female mice. *Reproductive Toxicology*, 92, 66–77.
<https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2019.08.002>
- Matta, M. K., Florian, J., Zusterzeel, R., Pilli, N. R., Patel, V., Volpe, D. A., Yang, Y., Oh, L., Bashaw, E., Zineh, I., Sanabria, C., Kemp, S., Godfrey, A., Adah, S., Coelho, S., Wang, J., Furlong, L.-A., Ganley, C., Michele, T., Strauss, D. G. (2020). Effect of sunscreen application on plasma concentration of sunscreen active ingredients: A randomized clinical trial. *JAMA*, 323(3), 256–267.
<https://doi.org/10.1001/jama.2019.20747>

- Matta, M. K., Zusterzeel, R., Pilli, N. R., Patel, V., Volpe, D. A., Florian, J., Oh, L., Bashaw, E., Zineh, I., Sanabria, C., Kemp, S., Godfrey, A., Adah, S., Coelho, S., Wang, J., Furlong, L. A., Ganley, C., Michele, T., Strauss, D. G. (2019). Effect of Sunscreen Application Under Maximal Use Conditions on Plasma Concentration of Sunscreen Active Ingredients: A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 321(21), 2082–2091. <https://doi.org/10.1001/jama.2019.5586>
- Merin, K. A., Shaji, M., & Kameswaran, R. (2022). A review on sun exposure and skin diseases. *Indian Journal of Dermatology*, 67(5), 625. https://doi.org/10.4103/ijd.ijd_1092_20
- Mitchellmore, C. L., Burns, E. E., Conway, A., Heyes, A., Davies, I. A. (2021). A critical review of organic ultraviolet filter exposure, hazard, and risk to corals. *Environmental Toxicology and Chemistry*, 40(4), 967–988. <https://doi.org/10.1002/etc.4948>
- Moreira, A. L. P., Paiva, W. S., de Souza, A. M., Pereira, M. C. G., Rocha, H. A. O., de Medeiros, S. R. B., Luchiari, A. C. (2023). Benzophenone-3 causes oxidative stress in the brain and impairs aversive memory in adult zebrafish. *Environmental toxicology and pharmacology*, 100, 104164. <https://doi.org/10.1016/j.etap.2023.104164>
- Moreno-Ortiz, G., Aguilar, L., Caamal-Monsreal, C., Noreña-Barroso, E., Rosas, C., Rodríguez-Fuentes, G. (2023). Benzophenone-3 does not cause oxidative stress or B-esterase inhibition during embryo development of *Octopus maya* (Voss & Solís Ramírez, 1966). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 111, 60. <https://doi.org/10.1007/s00128-023-03788-4>
- Mosmann, T. (1983). Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: Application to proliferation and cytotoxicity assays. *Journal of Immunological Methods*, 65, 55–63. [https://doi.org/10.1016/0022-1759\(83\)90303-4](https://doi.org/10.1016/0022-1759(83)90303-4)
- Mustieles, V., Balogh, R. K., Axelstad, M., Montazeri, P., Márquez, S., Vrijheid, M., Draskau, M. K., Taxvig, C., Peinado, F. M., Berman, T., Frederiksen, H., Fernández, M. F., Marie Vinggaard, A., Andersson, A. M. (2023). Benzophenone-3: Comprehensive review of the toxicological and human evidence with meta-analysis of human biomonitoring studies. *Environment international*, 173, 107739. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2023.107739>
- Mutlu, E., Pierfelice, J., McIntyre, B. S., Cunny, H. C., Kissling, G. E., Burbach, B., Waidyanatha, S. (2017). Simultaneous quantitation of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone, a sunscreen ingredient, and its metabolites in Harlan Sprague Dawley rat plasma following perinatal dietary exposure. *Journal of Analytical Toxicology*, 41(9), 744–754. <https://doi.org/10.1093/jat/bkx070>
- Nakagawa, Y., ve Suzuki, T. (2002). Metabolism of 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone in isolated rat hepatocytes and xenoestrogenic effects of its metabolites on MCF-7 human breast cancer cells. *Chemico-Biological Interactions*, 139(2), 115–128. [https://doi.org/10.1016/S0009-2797\(02\)00051-4](https://doi.org/10.1016/S0009-2797(02)00051-4)
- Nakamura, N., Vijay, V., Desai, V. G., Hansen, D. K., Han, T., Chang, C. W., Chen, Y. C., Harrouk, W., McIntyre, B., Foster, P. M., Fuscoe, J. C., Inselman, A. L. (2018). Transcript profiling in the testes and prostates of postnatal day 30 Sprague-Dawley rats exposed prenatally and lactationally to 2-hydroxy-4-

- methoxybenzophenone. *Reproductive toxicology* (Elmsford, N.Y.), 82, 111–123. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2018.10.001>
- Nakiwala, D., Peyre, H., Heude, B., Forhan, A., Charles, M. A., van der Waerden, J., Lioret, S. (2018). In-utero exposure to phenols and phthalates and the intelligence quotient of boys at 5 years. *Environmental Health*, 17, 17. <https://doi.org/10.1186/s12940-018-0359-0>
- Nashev, L. G., Schuster, D., Laggner, C., Sodha, S., Langer, T., Wolber, G., Odermatt, A. (2010). The UV-filter benzophenone-1 inhibits 17beta-hydroxysteroid dehydrogenase type 3: Virtual screening as a strategy to identify potential endocrine disrupting chemicals. *Biochemical pharmacology*, 79(8), 1189–1199. <https://doi.org/10.1016/j.bcp.2009.12.005>
- National Academies of Sciences, Engineering, and Medicine [NASEM]. (2022). Introduction to sunscreens and their UV filters. In Review of fate, exposure, and effects of sunscreens in aquatic environments and implications for sunscreen usage and human health (Chap. 2). National Academies Press. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK587270/>
- National Center for Biotechnology Information. 2,4-Dihydroxybenzophenone [Compound summary for CID 8572]. PubChem. Erişim tarihi: 27 Ekim 2025, https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2_4-Dihydroxybenzophenone
- National Center for Biotechnology Information. 2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone [Compound summary for CID 4632]. PubChem. Erişim tarihi: 27 Ekim 2025, <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/2-Hydroxy-4-methoxybenzophenone>
- National Toxicology Program (NTP). (2023). NTP technical report on the toxicology and carcinogenesis studies of perfluorooctanoic acid (CASRN 335-67-1) administered in feed to Sprague Dawley (Hsd:Sprague Dawley® SD®) rats (revised): Technical report 598 (Appendix D, Summary of Peer Review Panel Comments). Research Triangle Park, NC: National Toxicology Program. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560139/>
- National Toxicology Program. (2009). *H295R steroidogenesis assay: Final report* (UV1). National Institute of Environmental Health Sciences. https://ntp.niehs.nih.gov/sites/default/files/2024-04/uv1_h295r_steroidogenesis_redacted_disclaimer.pdf
- Oda, Y. Development and progress for three decades in *umu* test systems. *Genes and Environ* 38, 24 (2016). <https://doi.org/10.1186/s41021-016-0054-8>
- Okereke, C. S., Barat, S. A., Abdel-Rahman, M. S. (1995). Safety evaluation of benzophenone-3 after dermal administration in rats. *Toxicology letters*, 80(1-3), 61–67. [https://doi.org/10.1016/0378-4274\(95\)03334-h](https://doi.org/10.1016/0378-4274(95)03334-h)
- Palmer, J. R., Herbst, A. L., Noller, K. L., Boggs, D. A., Troisi, R., Titus-Ernstoff, L., Hatch, E. E., Wise, L. A., Strohshitter, W. C., Hoover, R. N. (2009). Urogenital abnormalities in men exposed to diethylstilbestrol in utero: A cohort study. *Environmental Health*, 8, 37. <https://doi.org/10.1186/1476-069X-8-37>
- Park, M. A., Hwang, K. A., Lee, H. R., Yi, B. R., Jeung, E. B., Choi, K. C. (2013). Benzophenone-1 stimulated the growth of BG-1 ovarian cancer cells by cell

- cycle regulation via an estrogen receptor alpha-mediated signaling pathway in cellular and xenograft mouse models. *Toxicology*, 305, 41–48. <https://doi.org/10.1016/j.tox.2012.12.021>
- Peinado, F. M., Ocón-Hernández, O., Iribarne-Durán, L. M., Vela-Soria, F., Ubiña, A., Padilla, C., Mora, J. C., Cardona, J., León, J., Fernández, M. F., Olea, N., Artacho-Cordón, F. (2021). Cosmetic and personal care product use, urinary levels of parabens and benzophenones, and risk of endometriosis: results from the EndEA study. *Environmental research*, 196, 110342. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2020.110342>
- Phiboonchaiyanan, P. P., Busaranon, K., Ninsontia, C., Chanvorachote, P. (2017). Benzophenone-3 increases metastasis potential in lung cancer cells via epithelial to mesenchymal transition. *Cell biology and toxicology*, 33(3), 251–261. <https://doi.org/10.1007/s10565-016-9368-3>
- Philippat, C., Wolff, M. S., Calafat, A. M., Ye, X., Bausell, R., Meadows, M., Stone, J., Slama, R., Engel, S. M. (2013). Prenatal exposure to environmental phenols: concentrations in amniotic fluid and variability in urinary concentrations during pregnancy. *Environmental health perspectives*, 121(10), 1225–1231. <https://doi.org/10.1289/ehp.1206335>
- Pribakovic, R., Bornhorst, J., Stopper, H., & Bankoglu, E. E. (2025). Influence of pH and lysis duration on DNA damage detection: a comparison of neutral and alkaline comet assays. *Mutagenesis*, 40(4), 535–541. <https://doi.org/10.1093/mutage/geaf019>
- Pollack, A. Z., Mumford, S. L., Krall, J. R., Carmichael, A. E., Sjaarda, L. A., Perkins, N. J., Kannan, K., Schisterman, E. F. (2018). Exposure to bisphenol A, chlorophenols, benzophenones, and parabens in relation to reproductive hormones in healthy women: A chemical mixture approach. *Environment International*, 120, 137–144. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2018.07.028>
- Rai, R., Shanmuga, S. C., Srinivas, C. (2012). Update on photoprotection. *Indian Journal of Dermatology*, 57(5), 335–342. <https://doi.org/10.4103/0019-5154.100472>
- Rai, Y., Pathak, R., Kumari, N., Sah, D. K., Pandey, S., Kalra, N., Soni, R., Dwarakanath, B. S., Bhatt, A. N. (2018). Mitochondrial biogenesis and metabolic hyperactivation limits the application of MTT assay in the estimation of radiation induced growth inhibition. *Scientific reports*, 8(1), 1531. <https://doi.org/10.1038/s41598-018-19930-w>
- Raimondi, S., Suppa, M., & Gandini, S. (2020). Melanoma epidemiology and sun exposure. *Acta Dermato-Venereologica*, 100(11), 250–258. <https://doi.org/10.2340/00015555-3491>
- Rehfeld, A., Egeberg, D. L., Almstrup, K., Petersen, J. H., Dissing, S., Skakkebaek, N. E. (2018). EDC IMPACT: Chemical UV filters can affect human sperm function in a progesterone-like manner. *Endocrine Connections*, 7(1), 16-25. Erişim tarihi 17 Temmuz 2024, <https://doi.org/10.1530/EC-17-0156>
- Reincke, M., Arlt, W., Damdimopoulou, P., Köhrle, J., Bertherat, J. (2024). Endocrine disrupting chemicals are a threat to hormone health: A commentary on behalf of

- the ESE. *Nature Reviews Endocrinology*, 20(4), 187–188. <https://doi.org/10.1038/s41574-024-00958-0>
- Repetto, G., del Peso, A., Zurita, J. (2008). Neutral red uptake assay for the estimation of cell viability/cytotoxicity. *Nat Protoc* 3, 1125–1131. <https://doi.org/10.1038/nprot.2008.75>
- Rhodes, L.E. (1998). Topical and systemic approaches for protection against solar radiation-induced skin damage. *Dermatol Clin.*,16, 75–82. [https://doi.org/10.1016/S0738-081X\(97\)00171-5](https://doi.org/10.1016/S0738-081X(97)00171-5)
- Robison, S. H., Odio, M. R., Thompson, E. D., Aardema, M. J., Kraus, A. L. (1994). Assessment of the in vivo genotoxicity of 2-hydroxy 4-methoxybenzophenone. *Environmental and molecular mutagenesis*, 23(4), 312–317. <https://doi.org/10.1002/em.2850230409>
- Russart, K. L. G., Nelson, R. J. (2018). Light at night as an environmental endocrine disruptor. *Physiology & Behavior*, 190, 82–89. <https://doi.org/10.1016/j.physbeh.2017.08.029>
- Santovito, A., Ruberto, S., Galli, G., Menghi, C., Girotti, M., Cervella, P. (2018). Induction of chromosomal aberrations and micronuclei by 2-hydroxy-4-methoxybenzophenone (oxybenzone) in human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 42(4), 378–385. <https://doi.org/10.1080/01480545.2018.1455206>
- SCCS (Scientific Committee on Consumer Safety), Opinion on Benzophenone-1 (CAS No. 131-56-6, EC No. 205-029-4), preliminary version of 25 October 2024, final version of 27 March 2025, SCCS/1672/24.
- Schlumpf, M., Cotton, B., Conscience, M., Haller, V., Steinmann, B., Lichtensteiger, W. (2001). In vitro and in vivo estrogenicity of UV screens. *Environmental Health Perspectives*, 109(3), 239–244. <https://doi.org/10.1289/ehp.01109239>
- Schmutzler, C., Gotthardt, I., Hofmann, P. J., Radovic, B., Kovacs, G., Stemmler, L., Nobis, I., Bacinski, A., Mentrup, B., Ambrugger, P., Grüters, A., Malendowicz, L. K., Christoffel, J., Jarry, H., Seidlovà-Wuttke, D., Wuttke, W., Köhrle, J. (2007). Endocrine disruptors and the thyroid gland--a combined in vitro and in vivo analysis of potential new biomarkers. *Environmental health perspectives*, 115 Suppl 1(Suppl 1), 77–83. <https://doi.org/10.1289/ehp.9369>
- Schneider, S. L., Lim, H. W. (2019). A review of inorganic UV filters zinc oxide and titanium dioxide. *Photodermatology, Photoimmunology & Photomedicine*, 35(6), 442–446. <https://doi.org/10.1111/phpp.12439>
- Schneider, S. L., Lim, H. W. (2019). Review of environmental effects of oxybenzone and other sunscreen active ingredients. *Journal of the American Academy of Dermatology*, 80(1), 266–271. <https://doi.org/10.1016/j.jaad.2018.06.033> .
- Scinicariello, F., Buser, M. C. (2016). Serum testosterone concentrations and urinary bisphenol A, benzophenone-3, triclosan, and paraben levels in male and female children and adolescents: NHANES 2011–2012. *Environmental health perspectives*, 124(12), 1898–1904. <https://doi.org/10.1289/EHP150>
- Seité, S., Moyal, D., Verdier, MP., Hourseau, C., Fourtanier, A. (2000). Accumulated p53 protein and UVA protection level of sunscreens. *Photodermatol*

Photoimmunol Photomed. 16, 3–9. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0781.2000.160103.x>

- Sendra, M., Sánchez-Quiles, D., Blasco, J., Moreno-Garrido, I., Lubián, L. M., Pérez-García, S., Tovar-Sánchez, A. (2017). Effects of TiO₂ nanoparticles and sunscreens on coastal marine microalgae: Ultraviolet radiation is key variable for toxicity assessment. *Environment International*, 98, 62–68. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2016.09.024>
- Shin, S., Go, R.-E., Kim, C.-W., Hwang, K.-A., Nam, K.-H., Choi, K.-C. (2016). Effect of benzophenone-1 and octylphenol on the regulation of epithelial-mesenchymal transition via an estrogen receptor-dependent pathway in estrogen receptor expressing ovarian cancer cells. *Food and Chemical Toxicology*, 93, 58–65. <https://doi.org/10.1016/j.fct.2016.04.002>
- Singh, N. P., McCoy, M. T., Tice, R. R., Schneider, E. L. (1988). A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Experimental cell research*, 175(1), 184–191. [https://doi.org/10.1016/0014-4827\(88\)90265-0](https://doi.org/10.1016/0014-4827(88)90265-0)
- Smarr, M. M., Kannan, K., Sun, L., Honda, M., Wang, W., Karthikraj, R., Chen, Z., Weck, J., Buck Louis, G. M. (2018). Preconception seminal plasma concentrations of endocrine disrupting chemicals in relation to semen quality parameters among male partners planning for pregnancy. *Environmental research*, 167, 78–86. <https://doi.org/10.1016/j.envres.2018.07.004>
- Smart Servier Medical Art. Glands – Testicle 1 [Görsel]. Wikimedia Commons. https://commons.wikimedia.org/wiki/File:Glands_-_Testicle_1_--_Smart-Servier.png
- Sousa, M., Ferreira, C., Rabaca, A., Sá, R. (2017). Assessing male reproductive toxicity during drug development. *Andrology-Open Access*, 6(2), Article 1000185. <https://doi.org/10.4172/2167-0250.1000185>
- Stork, C. T., Bocek, M., Crossley, M. P., Sollier, J., Sanz, L. A., Chédin, F., Swigut, T., & Cimprich, K. A. (2016). Co-transcriptional R-loops are the main cause of estrogen-induced DNA damage. *eLife*, 5, e17548. <https://doi.org/10.7554/eLife.17548>
- Suh, S., Pham, C., Smith, J., Mesinkovska, N. A. (2020). The banned sunscreen ingredients and their impact on human health: A systematic review. *International Journal of Dermatology*, 59(9), 1033–1042. <https://doi.org/10.1111/ijd.14824>
- Sung, C. R., Kim, B. J., Park, C. J., Oh, I. A., Lee, Y. J., Park, Y. R., Kwack, S. J. (2024). Evaluation of the anti-androgenic and cytotoxic effects of benzophenone-3 in male Sprague-Dawley rats. *Journal of toxicology and environmental health. Part A*, 87(6), 266–273. <https://doi.org/10.1080/15287394.2023.2300785>
- Svobodová, A., Vostálová, J. (2010). Solar radiation induced skin damage: Review of protective and preventive options. *International Journal of Radiation Biology*, 86(12), 999–1030. <https://doi.org/10.3109/09553002.2010.501842>
- Tang, X., Yang, T., Yu, D., Xiong, H., Zhang, S. (2024). Current insights and future perspectives of ultraviolet radiation (UV) exposure: Friends and foes to the skin

- and beyond the skin. *Environment International*, 185, 108535. <https://doi.org/10.1016/j.envint.2024.108535>
- Tao, Z., Wang, Z., Zhu, S., Wang, S., Wang, Z. (2022). Associations between benzophenone-3 and sex steroid hormones among United States adult men. *Reproductive toxicology* (Elmsford, N.Y.), 114, 44–51. <https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2022.10.002>
- Těšínská, P., Škarohlíd, R., Kroužek, J., McGachy, L. (2024). Environmental fate of organic UV filters: Global occurrence, transformation, and mitigation via advanced oxidation processes. *Environmental Pollution*, 363(Part 1), 125134. <https://doi.org/10.1016/j.envpol.2024.125134>
- Tetz, L. M., Kamau, P. W., Cheng, A. A., Meeker, J. D., Loch-Carusio, R. (2013). Troubleshooting the dichlorofluorescein assay to avoid artifacts in measurement of toxicant-stimulated cellular production of reactive oxidant species. *Journal of pharmacological and toxicological methods*, 67(2), 56–60. <https://doi.org/10.1016/j.vascn.2013.01.195>
- Thomas, T., Fat, M., Kearns, G. (2024). Sunscreens: Potential hazards to environmental and human health. *Frontiers in Marine Science*, 11, 1471574. <https://doi.org/10.3389/fmars.2024.1471574>
- Tian, L., Wu, Y., Jia, Y., Guo, M. (2025). Understanding of Benzophenone UV Absorber-Induced Damage and Apoptosis in Human Hepatoma Cells. *International journal of molecular sciences*, 26(7), 2990. <https://doi.org/10.3390/ijms26072990>
- Utsunomiya, H., Hiraishi, R., Kishimoto, K., Hamada, S., Abe, S., Bekki, Y., Kamemura, N. (2019). Cytotoxicity of benzophenone-3, an organic ultraviolet filter, caused by increased intracellular Zn²⁺ levels in rat thymocytes. *Chemico-biological interactions*, 298, 52–56. <https://doi.org/10.1016/j.cbi.2018.10.029>
- Wang, J., Pan, L., Wu, S., Lu, L., Xu, Y., Zhu, Y., Guo, M., Zhuang, S. (2016). Recent Advances on Endocrine Disrupting Effects of UV Filters. *International journal of environmental research and public health*, 13(8), 782. <https://doi.org/10.3390/ijerph13080782>
- Wang, W. Q., Duan, H. X., Pei, Z. T., Xu, R. R., Qin, Z. T., Zhu, G. C., & Sun, L. W. (2018). Evaluation by the Ames Assay of the Mutagenicity of UV Filters Using Benzophenone and Benzophenone-1. *International journal of environmental research and public health*, 15(9), 1907. <https://doi.org/10.3390/ijerph15091907>
- Watanabe, Y., Kojima, H., Takeuchi, S., Uramaru, N., Sanoh, S., Sugihara, K., Kitamura, S., Ohta, S. (2015). Metabolism of UV-filter benzophenone-3 by rat and human liver microsomes and its effect on endocrine-disrupting activity. *Toxicology and applied pharmacology*, 282(2), 119–128. <https://doi.org/10.1016/j.taap.2014.12.002>
- Watkins, D. J., Ferguson, K. K., Anzalota Del Toro, L. V., Alshawabkeh, A. N., Cordero, J. F., Meeker, J. D. (2015). Associations between urinary phenol and paraben concentrations and markers of oxidative stress and inflammation among pregnant women in Puerto Rico. *International journal of hygiene and environmental health*, 218(2), 212–219. <https://doi.org/10.1016/j.ijheh.2014.11.001>

- Wnuk, A., Rzemieniec, J., Lasoń, W., Krzeptowski, W., Kajta, M. (2018). Benzophenone-3 Impairs Autophagy, Alters Epigenetic Status, and Disrupts Retinoid X Receptor Signaling in Apoptotic Neuronal Cells. *Molecular neurobiology*, 55(6), 5059–5074. <https://doi.org/10.1007/s12035-017-0704-2>
- Wnuk, A., Rzemieniec, J., Staroń, J., Litwa, E., Lasoń, W., Bojarski, A., Kajta, M. (2019). Prenatal Exposure to Benzophenone-3 Impairs Autophagy, Disrupts RXRs/PPAR γ Signaling, and Alters Epigenetic and Post-Translational Statuses in Brain Neurons. *Molecular neurobiology*, 56(7), 4820–4837. <https://doi.org/10.1007/s12035-018-1401-5>
- Wnuk, W., Michalska, K., Krupa, A., & Pawlak, K. (2022). Benzophenone-3, a chemical UV-filter in cosmetics: is it really safe for children and pregnant women?. *Postepy dermatologii i alergologii*, 39(1), 26–33. <https://doi.org/10.5114/ada.2022.113617>
- Wolff, M. S., Engel, S. M., Berkowitz, G. S., Ye, X., Silva, M. J., Zhu, C., Wetmur, J., Calafat, A. M. (2008). Prenatal phenol and phthalate exposures and birth outcomes. *Environmental Health Perspectives*, 116(8), 1092–1097. <https://doi.org/10.1289/ehp.11007>
- Wong, W. J., ve Khan, Y. S. (2022, November 14). *Histology, Sertoli cell*. In *StatPearls* [Internet]. StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK560631/>
- Wu, S.B., Long, C., Kennelly, E.J. (2014). Structural diversity and bioactivities of natural benzophenones. *Natural product reports*, 31(9), 1158–1174. <https://doi.org/10.1039/c4np00027g>
- Yao, Y.N., Wang, Y., Zhang, H., Gao, Y., Zhang, T., Kannan, K. (2024). A review of sources, pathways, and toxic effects of human exposure to benzophenone ultraviolet light filters. *Eco-Environment & Health*, 3, 30-44. <https://doi.org/10.1016/j.eehl.2023.10.001>
- Zhang, S., Wang, X., Yang, H., Xie, Y. F. (2016). Chlorination of oxybenzone: Kinetics, transformation, disinfection byproducts formation, and genotoxicity changes. *Chemosphere*, 154, 521–527. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2016.03.116>
- Zhang, T., Sun, H., Qin, X., Wu, Q., Zhang, Y., Ma, J., & Kannan, K. (2013). Benzophenone-type UV filters in urine and blood from children, adults, and pregnant women in China: Partitioning between blood and urine as well as maternal and fetal cord blood. *Science of the Total Environment*, 461–462, 49–55. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2013.04.074>

ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sena ERGÜN

Yabancı Dil : C1 İngilizce

Eğitim Bilgileri:

2023- , Anadolu Üniversitesi, Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı

2018-2023, Anadolu Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Eczacılık

Mesleki Deneyimi:

2024- , Araştırma Görevlisi, Marmara Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalı

2022, Stajyer, Uluönder Eczanesi, Eskişehir

2022, Stajyer Feyza Eczanesi, Balıkesir

2021, Stajyer, Balıkesir Devlet Hastanesi, Balıkesir

2020, Stajyer, Feyza Eczanesi, Balıkesir

Bilimsel Faaliyetleri:

Ergün, S., Yardımcı, M., Yeşil, T. (2025). SGLT2 İnhibitörlerinin Karaciğer Güvenliliği, *Poster sunumu*, Marmara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Ulusal Eczacılık Kongresi (MÜEFKON 2025), İstanbul, Türkiye

Ergün, S., Hıdıroğlu, M., Yeşil, T. (2025). Liver Safety of Oral Antidiabetics: From the Perspective of MASLD, 12th International Congress of the Turkish Society of Toxicology (TTD 2025), İstanbul, Türkiye