T.C.
LOKMAN HEKİM ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİSFENOL A VE BİSFENOL F'NİN ÇİN HAMSTER YUMURTALIK HÜCRELERİNDE (CHO) OKSİDATİF STRES İNDÜKLEYİCİ ETKİSİ ÜZERİNDE KERSETİNİN ETKİLERİNİN DEĞERLENDİRİLMESİ

İdil KAYAR

FARMASÖTİK TOKSİKOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Dr. Öğr. Üyesi Deniz Özkan VARDAR

ANKARA
2025

ONAY

Lokman Hekim Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Farmasötik Toksikoloji Ana Bilim Dalında
İdil KAYAR tarafından hazırlanan
"Bisfenol A ve Bisfenol F'nin Çin Hamster Yumurtalık Hücrelerinde (CHO) Oksidatif Stres İndükleyici Etkisi Üzerinde Kersetinin Etkilerinin Değerlendirilmesi" adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak OY BİRLİĞİ ile kabul edilmiştir.

İmza
Üye (Jüri Başkanı): Prof. Dr. Belma KOÇER GÜMÜŞEL
İstanbul Okan Üniversitesi

İmza
Üye: Doç. Dr. Enis MACİT
Lokman Hekim Üniversitesi

İmza
Üye (Danışman):
Dr. Öğr. Üyesi Deniz Özkan VARDAR
Lokman Hekim Üniversitesi

Bu tez Lokman Hekim Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca yukarıdaki jüri tarafından uygun bulunmuştur.

Sağlık Bilimleri Enstitüsü Onayı
…….
Prof. Dr. Belgin AKIN
Enstitü Müdürü

YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI

Enstitü tarafından onaylanan lisansüstü tezimin/raporumun tamamını veya herhangi bir kısmını, basılı (kâğıt) ve elektronik formatta arşivleme ve aşağıda verilen koşullarla kullanıma açma iznini Lokman Hekim Üniversitesi'ne verdiğimi bildiririm.

Bu izinle Üniversiteye verilen kullanım hakları dışındaki tüm fikri mülkiyet haklarım bende kalacak, tezimin tamamının ya da bir bölümünün gelecekteki çalışmalarda (makale, kitap, lisans ve patent vb.) kullanım hakları bana ait olacaktır.

Tezin kendi orijinal çalışmam olduğunu, başkalarının haklarını ihlal etmediğimi ve tezimin tek yetkili sahibi olduğumu beyan ve taahhüt ederim. Tezimde yer alan telif hakkı bulunan ve sahiplerinden yazılı izin alınarak kullanılması zorunlu metinlerin yazılı izin alınarak kullandığımı ve istenildiğinde suretlerini Üniversiteye teslim etmeyi taahhüt ederim.

( ) Tezimin/ Raporumun tamamı dünya çapında erişime açılabilir ve bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir. (Bu seçenekte teziniz arama motorlarında indekslenebilecek, daha sonra tezinizin erişim statüsünün değiştirilmesini talep etseniz ve kütüphane bu talebinizi yerine getirse bile, teziniz arama motorlarının önbelleklerinde kalmaya devam edebilecektir.)

( ) Tezimin/ Raporumun ……. tarihine kadar erişime açılmasını ve fotokopi alınmasını istemiyorum (İç kapak, Özet, İçindekiler ve Kaynakça hariç) (Bu sürenin sonunda uzatma için başvuruda bulunmadığım takdirde tezimin/raporumun tamamı her yerden erişime açılabilir, kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisi alınabilir.)

( ) Tezimin/ Raporumun…… tarihine kadar erişime açılmasını istemiyorum ancak kaynak gösterilmek şartıyla bir kısmı veya tamamının fotokopisinin alınmasını onaylıyorum.

( ) Serbest Seçenek/ Yazarın Seçimi

…./…./….

İmza

İdil KAYAR

ETİK BEYAN

LOKMAN HEKİM ÜNİVERSİTESİ SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ MÜDÜRLÜĞÜNE

Bu belge ile tezdeki bütün bilgilerin akademik kurallara ve etik davranış ilkelerine uygun olarak toplanıp sunulduğunu beyan ederim. Bu kural ve ilkelerin gereği olarak, tez çalışmamda bana ait olmayan tüm veri, düşünce ve sonuçları bilimsel etik kurallar gözeterek ifade ettiğimi ve kaynağını gösterdiğimi ayrıca beyan ederim (...../...../.....).

İdil KAYAR

İmza:

ÖZET

Bisfenol A ve Bisfenol F'nin Çin Hamster Yumurtalık Hücrelerinde (CHO) Oksidatif Stres İndükleyici Etkisi Üzerinde Kersetinin Etkilerinin Değerlendirilmesi

Günümüzde gelişen üretim endüstrisi ile ortaya çıkan endokrin bozucu kimyasal maddeler (EDC) insan sağlığını olumsuz yönde etkileyebilmektedir. EDC'lerden bisfenol A (BPA) ve türevleri, hakkında en fazla araştırma yapılan maddelerdendir. Polikarbonatlar ve epoksi reçinelerin üretiminde kullanılan BPA en çok plastik maddeler ile günlük hayata girmektedir. Östrojen hormonuna olan benzerliği nedeniyle vücuttaki östrojen reseptörlerine bağlanabilen BPA'nın etkileri, en çok östrojen hormonuna bağlı işleyen sistemler üzerinde görülmektedir. Doğal kaynaklı antioksidanlardan olan kersetin, bitkisel ürünlerin içeriğinde yoğun olarak bulunabilen bir flavanoid bileşiktir. Oksidatif strese bağlı gelişen hastalıklarda etkilerini antioksidan seviyelerini dengelenmesi ile gösterebilir. Sunulan tez çalışmasında BPA ve BPF'nin Çin hamster yumurtalık hücrelerinde (CHO) neden olduğu sitotoksisite ile oksidatif stres düzeyleri reaktif oksijen bileşikleri (ROS), glutatyon (GSH) ve lipid peroksidasyonu seviyeleri incelenmiş ve kersetinin bu parametreler üzerinde koruyucu etkinliği değerlendirilmiştir. Araştırma sonucunda, MTT testi ile belirlenen IC_{30} dozlarının BPA için %34,05, BPF için %49,73 oranında hücre canlılığını azalttığı saptanmıştır. Kersetin uygulaması ile değerler sırasıyla %74,69 ve %71,6 oranında artarak toksik etkiler azaltılmıştır. ROS, GSH ve lipid peroksidasyonuna ait parametrelerde ise BPA ve BPF'nin oksidatif stresi tetiklediği, buna karşılık kersetinin antioksidan özellikleriyle koruyucu bir rol oynadığı gösterilmiştir. Özellikle BPA ve kersetin uygulanan grup özelinde ROS ve TBARS düzeylerinin anlamlı şekilde azaldığı, GSH düzeylerinin ise kontrol grubuna göre artış gösterdiği sonucuna varılmıştır. Bu sonuçlar çerçevesinde çevresel toksinlere karşı doğal antioksidanların potansiyel koruyucu etkisi hipotezi desteklenmekte ve BPF'nin BPA'ya kıyasla daha düşük toksisite profiline sahip olduğu görülmektedir.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A, Bisfenol F, Kersetin, Oksidatif Stres

ABSTRACT

Evaluation of the Effects of Quercetin on the Oxidative Stress-Inducing Effect of Bisphenol A and Bisphenol F in Chinese Hamster Ovary Cells (CHO)

Endocrine disrupting chemicals (EDCs) that emerged with today's developing manufacturing industry can negatively affect human health. Amongst EDCs, bisphenol A (BPA) and its derivatives are of the most researched substances. Used in the production of polycarbonates and epoxy resins, BPA enters daily life mostly through plastic materials. Due to its similarity to the estrogen hormone, BPA can bind to estrogen receptors in the body, hence its effects are most commonly seen on systems depending on the estrogen hormone. Quercetin, a naturally occurring antioxidant, is a flavonoid compound found abundantly in plant-based products. It may show its effects on diseases caused by oxidative stress by balancing antioxidant levels. In the presented thesis, the cytotoxicity and oxidative stress levels (reactive oxygen species (ROS), glutathione (GSH), and lipid peroxidation) induced by BPA and BPF in Chinese hamster ovary cells (CHO) were investigated, and the protective efficacy of quercetin on these parameters was evaluated. The study found that IC_{30} doses determined by the MTT test had reduced cell viability by 34.05% for BPA and 49.73% for BPF. Quercetin administration had increased these values by 74.69% and 71.6% respectively by reducing the toxic effects. In the parameters of ROS, GSH, and lipid peroxidation, it was shown that BPA and BPF triggered oxidative stress, while quercetin played a protective role with its antioxidant properties. It was concluded that ROS and TBARS levels were significantly reduced in the BPA and quercetin-treated group, while GSH levels increased compared to the control group. Within the framework of these results, the hypothesis of the potential protective effect of natural antioxidants against environmental toxins is supported and BPF appears to have a lower toxicity profile compared to BPA.

Keywords: Bisphenol A, Bisphenol F, Quercetin, Oxidative Stress

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans ve tez sürecimde yardımlarını esirgemeyen ve her türlü desteğini sunan danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Deniz Özkan VARDAR'a teşekkürlerimi sunarım.

Ayrıca sayın hocam Prof. Dr. Belma KOÇER GÜMÜŞEL'e katkısı ve desteği için teşekkürlerimi sunarım.

Aynı zamanda bana bu süreç içerisinde destek olan aileme de teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ONAY ii
YAYIMLAMA VE FİKRİ MÜLKİYET HAKLARI BEYANI iii
ETİK BEYAN iii
ÖZET iv
ABSTRACT v
TEŞEKKÜR vi
İÇİNDEKİLER vii
TABLOLAR LİSTESİ x
ŞEKİLLER LİSTESİ xi
KISALTMALAR LİSTESİ xii
1. GİRİŞ 1
2. GENEL BİLGİLER 4
2.1. Dişi Üreme Sistemi ve Yumurtalıklar 4
2.1.1. Endometriozis 5
2.1.2. PCOS 6
2.1.3. Yumurtalık Kanseri 7
2.2. Endokrin Bozucu Kimyasal Maddeler 9
2.2.1. Endokrin Bozucu Kimyasal Maddelerin İnsan Sağlığına Etkileri 10
2.3. Bisfenol A ve Bisfenol F 11
2.3.1. Bisfenol A'nın Kimyasal Yapısı ve Özellikleri 11
2.3.2. Bisfenol A'nın Biyotransfromasyonu 13
2.3.3. Bisfenol A'nın Kullanım Alanları ve Maruziyeti 14
2.3.4. Bisfenol A'nın İnsan Sağlığına Etkileri 16
2.3.5. Bisfenol F'nin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri 19
2.3.6. Bisfenol F'nin Biyotransformasyonu 20
2.3.7. Bisfenol F'nin İnsan Sağlığına Olan Etkileri 20
2.4. Oksidatif Stres 22
2.4.1. Reaktif Oksijen Türevleri ve Serbest Radikaller 22
2.4.2. Oksidatif Stresin Gelişimi 23
2.4.3. Oksidatif Stresin Hücresel Etkileri 24

2.4.3.1. DNA Hasarı 24
2.4.3.2. Lipit Peroksidasyonu 25
2.4.4. Antioksidan Savunma Sistemi 26
2.4.4.1. Süperoksit Dismuztaz 27
2.4.4.2. Glutatyon Peroksidaz 27
2.4.4.3. Katalaz 27
2.4.4.4. Glutatyon 28
2.5. Kersetin 29
2.5.1. Kersetinin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri 30
2.5.2. Kersetin ve Bisfenol A Çalışmaları 31
2.5.3. Kersetin ve Yumurtalık Üzerine Olan Etkileri 33
3. GEREÇ VE YÖNTEM 36
3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler 36
3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler 37
3.3. Çalışmada Kullanılan Hücre Hattı 37
3.4. Hücre Kültürü İçin Kullanılan Besiyeri ve Hazırlanması 38
3.5. Deneylerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması 38
3.5.1. Bisfenol A Stok Çözeltisi 38
3.5.2. Bisfenol F Stok Çözeltisi 38
3.5.3. Kersetin Stok Çözeltisi 38
3.5.4. MTT Yöntemi ile Sitotoksisite Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler 39
3.5.5. ROS Tayininde Kullanılan Çözeltiler 39
3.5.6. Hücre Lizisinde Kullanılan Çözeltiler 39
3.5.7. Protein Tayininde Kullanılan Çözeltiler 40
3.5.8. Glutatyon Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler 40
3.5.9. Lipit Peroksidasyonu Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler 41
3.6. Yöntemler 42
3.6.1. Hücre Kültürü 42
3.6.2. Çalışma Grupları 42
3.6.3. Hücrelerin Çözülmesi 43
3.6.4. Hücrelerin Pasajlanması ve Çoğaltılması 43
3.6.5. Hücrelerin -80°C'e Kaldırılması 44

3.6.6. Hücre Sayımı 44
3.6.7. MTT Yöntemi ile Sitotoksisitenin Belirlenmesi 45
3.6.8. Hücre İçi Reaktif Oksijen Bileşiklerinin (ROS) Belirlenmesi 46
3.6.9. Hücre Lizisi ve Fraksiyonlanması 47
3.6.10. Protein Miktarının Belirlenmesi 48
3.6.11. Total Glutatyon Düzeylerinin Belirlenmesi 49
3.6.12. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi 51
3.6.13. İstatistiksel Değerlendirme 53
4. BULGULAR 54
4.1. Hücrelerde Sitotoksisitenin Belirlenmesi 54
4.2. Hücre İçi Reaktif Oksijen Bileşiklerinin Belirlenmesi 62
4.3. Total Glutatyon Düzeylerinin Belirlenmesi 65
4.4. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi 68
5. TARTIŞMA 71
6. SONUÇ 83
7. ÖNERİLER 85
8. KAYNAKÇA 87
EKLER 113
Ek 1: İntihal Raporu 113
ÖZGEÇMİŞ 119

TABLOLAR LİSTESİ

Tablo 4.1. Uygulanan BPA Konsantrasyonları ve Hücrelerinin Canlılığı 54
Tablo 4.2. Uygulanan BPF Konsantrasyonları ve Hücrelerinin Canlılığı 55
Tablo 4.3. Uygulanan Kersetin Konsantrasyonları ve Hücrelerinin Canlılığı 56
Tablo 4.4. BPA İçin Bulunan IC_{30} ve IC_{50} Değerleri 56
Tablo 4.5. BPF İçin Bulunan IC_{30} ve IC_{50} Değerleri 56
Tablo 4.6. Kersetin İçin Bulunan IC_{30} ve IC_{50} Değerleri 57
Tablo 4.7. Kersetin + BPA'nın IC_{30} Dozlarının (110 μM ve 50 μM) Hücre Canlılığına Etkisi 61
Tablo 4.8. Kersetin+ BPF'nin IC_{30} Dozlarının (110 μM ve 85 μM) Hücre Canlılığına Etkisi. 62
Tablo 4.9. BPA ve BPA+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri 63
Tablo 4.10. BPF ve BPF+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri 65
Tablo 4.11. BPA ve BPA+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri 66
Tablo 4.12. BPF ve BPF+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri 67
Tablo 4.13. BPA ve BPA+Q İçin TBARS Düzeyleri 69
Tablo 4.14. BPF ve BPF+Q İçin TBARS Düzeyleri 70

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. Bisfenol A'nın Kimyasal Yapısı 12
Şekil 2.2. Bisfenol A'nın Fenol ve Asetondan Sentezi (Das ve ark., 2004) 12
Şekil 2.3. Bisfenol A Metabolitleri Oluşumu (Gramec Skledar & Peterlin Mašič, 2016) 13
Şekil 2.4. Bisfenol F'nin Kimyasal Yapısı 19
Şekil 3.1. CHO Hücrelerinin Mikroskop Altındaki Görüntüsü 42
Şekil 3.2. MTT'nin Formazan Tuzuna Dönüşüm Metabolizması 45
Şekil 3.3. Protein Standart Eğrisi 49
Şekil 3.4. Glutatyon Döngüsü 49
Şekil 3.5. GSH Standart Eğrisi 51
Şekil 3.6. MDA-TBA Kompleksinin Oluşumu 51
Şekil 3.7. TBA Standart Eğrisi 53
Şekil 4.1. Uygulanan BPA'nın (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi 57
Şekil 4.2. Uygulanan BPA'nın (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi 57
Şekil 4.3. Uygulanan BPF'nin (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi 58
Şekil 4.4. Uygulanan BPF'nin (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi 58
Şekil 4.5. Uygulanan Kersetinin (5-800 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi 59
Şekil 4.6. Uygulanan Kersetinin (5-800 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi 59
Şekil 4.7. Kersetin + BPA'nın IC_{30} Dozlarının (110 µM ve 50 µM) Hücre Canlılığına Etkisi 61
Şekil 4.8. Kersetin+ BPF'nin IC_{30} Dozlarının (110 µM ve 85 µM) Hücre Canlılığına Etkisi 62
Şekil 4.9. BPA ve BPA+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri 64
Şekil 4.10. BPF ve BPF+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri 65
Şekil 4.11. BPA ve BPA+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri 66
Şekil 4.12. BPF ve BPF+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri 68
Şekil 4.13. BPA ve BPA+Q İçin TBARS Düzeyleri 69
Şekil 4.14. BPF ve BPF+Q İçin TBARS Düzeyleri 70

KISALTMALAR LİSTESİ

µM	Mikromolar
8-OHdG	8-hidroksi-2' -deoksiguanozin
ADP	Adenazindifosfat
AMH	Antimülleryen Hormon
ATP	Adenazintrifosfat
BCA	Bişinkonininik asit
BMI	Vücut Kitle İndeksi
BPA	Bisfenol A
BPAG	Bisfenol A glukronid
BPAS	Bisfenol A sülfat
BRCA	Meme Kanseri Geni
CAT	Katalaz
CHO	Çin Hamster Yumurtalık Hücresi (Chinese Hamster Ovary Cell)
COX	Siklooksijenaz
CuZnSOD	Çinko Süperoksit Dismutaz
DMEM	Dulbecco's Modified Eagle Medium
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiriboz nükleik asit
D-PBS	Dulbecco’s Fosfat Tamponlu Serum Fizyolojik Çözeltisi
DTNB	5,5’-diti bis-(2-nitrobenzoik) asit
ECSOD	Ekstraselüler Süperoksit Dismutaz
EDC	Endokrin Bozucu Kimyasal Madde (Endocrine Disrupting Chemical)
EDTA	Etilendiamin tetraasetik asit
EGFR	Epidermal Büyüme Faktörü Reseptörü
ER	Östrojen Reseptörü
ER a/b	Östrojen Reseptörü a/b
ERRy	Östrojen İlişkili Reseptör y
ERK1/2	Hücre Dışı Sinyalle Düzenlenen Kinazlar 1/2

EU	Avrupa Birliği (Europan Union)
FAD	Flavin adenin dinükleotit
FADH2	Flavin adenin dinükleotit difosfat
FBS	Fetal Sığır Serumu
FDA	Gıda ve İlaç Dairesi (Food and Drug Administration)
FSH	Folikül Uyarıcı Hormon
GnRH	Gonadotropin Salgılatıcı Hormon
GPR30	G Proteinine Bağlı Reseptör 30
GPx	Glutatyon Peroksidaz
GSH	Glutatyon
GSSG	Glutatyon disülfat
GST	Glutatyon S-Transferaz
H_2O_2	Hidrojen Peroksit
HNE	4-Hidroksi-2-nonenal
HNO_2	Nitröz Asit
HOBr	Hipobromöz Asit
HOCl	Hipokloröz Asit
HRT	Hormon Replasman Tedavisi
IC_{30}	İnhibitör Konsantrasyon 30
IC_{50}	Medyan İnhibitör Konsantrasyon
Q	Kersetin (Quercetin)
LH	Lutenize Edici Hormon
LOOH	Lipit Hidroperoksit
MDA	Malondialdehit
MnSOD	Mitokondriyel Mangan Süperoksit Dismutaz
MTT	3-(4,5-dimetiltiyazol- 2- il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür
NAD	Nikotinamid adenin dinükleotit
NADH	Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat
NO	Azot monoksit
O_2	Moleküler Oksijen, Dioksijen
$O_{2\text{-}}$	Süperoksit Anyonu, Süperoksit Radikali
OH	Hidroksil Radikali

PCOS	Polikistik Over Sendromu
PFAS	Per- ve Polifloroalkil Maddeler
PGE2	Prostaglandin E2
PUFA	Çoklu Doymamış Yağ
RNS	Reaktif Azot Türleri
ROS	Reaktif Oksijen Türleri
SDS	Sodyum dodesil sülfat
-SH	Sülfhidril, Tiyol
SOD	Süperoksit Dismutaz
SULT	Sülfotransferaz
TBA	Tiyobarbitürik asit
TBARS	Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri
TRAIL	Tümör Nekroz Faktörü İle İlişkili Apoptoz İndükleyen Ligand
UGT	Üridin difosfat glukuronil transferaz
VEGF	Vasküler Endotelyal Büyüme Faktörü

1. GİRİŞ

Bisfenoller polikarbonat plastiklerin ve epoksi reçinelerin üretiminde kullanılan ve günlük hayatta birçok eşyanın içeriğinde yer alan kimyasal maddelerdir. Bisfenol içeren polikarbonatlar, plastiklerin imalatında kullanılmakla birlikte ev eşyaları, gıda paketleri gibi birçok plastik ürünün içeriğinde de bulunur (Calafat ve ark., 2009). Bisfenol içeren bir diğer madde olan epoksi reçineler ise kaplamalarda kullanılabilir. Kullanım alanları dolayısıyla sık kullanılan yiyecek ve içecek kapları, plastik biberon gibi çocuk eşyaları ve kozmetik ürünlerde bulunması bisfenol maruziyeti açısından önem taşır (Wolff ve ark., 2015). Endokrin bozucu kimyasal maddeler (EDC) arasında geçen bisfenoller, diğer birçok endokrin bozucu madde gibi hormon benzeri özellikleri ile insan vücudunda toksik etkilere neden olabilir. Etkilerini çoğunlukla hormonların sentezi, taşınması reseptörlere bağlanması ve salgılanması gibi mekanizmaları bozarak, etkileyerek veya yerine geçerek gösteren EDC'ler, etkilerin artmasına veya azalmasına bağlı olarak vücut fonksiyonlarını bozarlar (Rattan ve ark., 2017).

Kimyasal olarak östrojen hormonuna benzerlik göstermesi yönünden östrojenin görev aldığı mekanizmaları etkiler. Bisfenollerden en sık kullanılan Bisfenol A (BPA), yapısal olarak 17-estradiole benzemesi açısından insan vücudunda hormon benzeri etkilere neden olabilir. Östrojen ve estradiole kıyasla etkisi daha az olsa da, östrojen reseptörlerine (ER) bağlanabilme potansiyeli taşır. İçlerinden özellikle östrojen reseptörleri a ve b (ERa ve ERb)'ye kıyasla daha yüksek afinite ile bağlandığı östrojen ilişkili reseptör y (ERRy) ile etkileri görülmektedir (K.-S. Zhang ve ark., 2014). ER dışında androjen ve tiroid hormon reseptörleri de BPA tarafından etkilenebilir. Bu nedenle insan sağlığı yönünde etkileri birçok araştırmanın konusu olmuştur. Yapılan araştırmalar sonucunda insan sağlığı üzerine olumsuz sonuçlara yol açabileceği görülmektedir (Peretz ve ark., 2014).

Toksik etkileri nedeniyle BPA kullanımı birçok ülke kısıtlanmış veya yasaklanmıştır. Kanada'nın 2008'de BPA kullanımını yasaklamasını takiben Amerika Birleşik Devletleri ve Avrupa Birliği ülkeleri de BPA'nın biberonlar gibi bebek ürünlerinde kullanımlarını yasaklamıştır (EU, 2011b; Health Canada & Environment Canada, 2008). Kullanımının kısıtlanması araştırmacıları alternatif madde arayışına

yöneltmiştir. Bunlar arasında BPA'ya kıyasla daha az toksik olduğu düşünülen türevleri yer almaktadır. Türevler arasından en çok kullanılanlar olarak BPF, BPS ve BPAF sayılabilir (D. Chen ve ark., 2016). Türevlerin BPA'ya kıyasla ER bağlama potansiyeleri farklı olsa da yapılan çalışmalar sonucunda kimyasal benzerlikleri dolayısıyla insan sağlığı BPA'ya benzer şekilde etkileyebilecekleri yönünde kanıtlar bulunmuştur. Bu sonuçlar ele alındığında BPA ve türevleri arasında yapılan risk karşılaştırma çalışmaları ayrıntılı bilgiler sağlamaktadır (Huang ve ark., 2020).

BPA'nın dişi ve erkek üreme sistemleri üzerine olan etkileri oldukça büyük önem taşır. Bunlardan özellikle dişi üreme sistemi mekanizmalarına olan etkileri östrojenik aktiviteleri nedeniyle önem taşımaktadır. Polikistik over sendromu (PCOS) ve endometriozis gibi hastalıklara neden olabildiği gibi, yumurtalık fonksiyonlarının etkilenmesi ile kısırlık gibi etkilerin de BPA nedeniyle gelişebildiği bilinmektedir (Pivonello ve ark., 2020). Bununla birlikte insülin metabolizmasının bozulması ile birlikte gelişen diyabet ve obezite gibi hastalıklar, kısırlık, erken ergenlik ve erkek üreme sisteminin etkilenmesi ile sperm kalitesi ve sayısında azalışlar, kadın üreme sistemi organlarında ve fetüs gelişiminde sorunlar genel olarak BPA maruziyetinin sonuçları ile bağdaştırılmaktadır. Kanser potansiyeli de araştırma konusu olan BPA için prostat, over ve meme kanserleri gelişimindeki rolü ile ilgili ayrıntılı birçok çalışma bulunmaktadır (Dumitrascu ve ark., 2020).

Hormon reseptörleri haricinde BPA'nın oksidan etkileri, mitokondriyal hasar neden olması, sinyal yolaklarını etkilemesi ve reaktif oksijen radikalleri (ROS) artışını tetiklemesi gibi çeşitli özellikleri de vücut üzerinde sorun gelişiminde büyük bir rol oynar (Huc ve ark., 2012). BPA üzerinden ROS oluşumu fenoksil radikalleri ile gerçekleşmektedir. Radikallerin NADPH, glutatyon peroksidaz (GPX), süperoksit dismutaz (SOD) ve katalaz ile reaksiyonları sonucu daha reaktif süperoksit bileşiklerinin oluşumu ile lipit peroksidasyonu, DNA hasarı ve protein hasarına neden olmaktadır (F. Xin ve ark., 2014). Dişi ve erkek üreme sisteminde de oksidatif stres mekanizmalarını tetikleyebildikleri ve üreme fonksiyonlarını etkiledikleri bilinmektedir. Özellikle yumurtalık sorunları göz önüne alındığında, çeşitli hastalıklara yol açması yönünde kadın sağlığı açısında önem taşımaktadır (Meli ve ark., 2020). Ancak BPA dışında birçok kimyasal madde de benzer etkiler göstererek

ROS artışına ve hücre hasarına neden olabilir. Antioksidan özellikli maddeler bu hasarları tersine çevirmek ve azaltmak için kullanılabilirler (Fang ve ark., 2002).

Antioksidan maddeler genellikle doğal kaynaklı olup birçok çeşitleri mevcuttur. Bunlardan biri olan kersetin de çoğunlukla soğan, lahana ve elma meyve ve sebzelerde bulunan bitkisel kaynaklı bir flavanoittir. Birçok hastalığın tedavisinde antioksidan özellikleri sayesinde etkili olduğu görülmüştür. Etkilerini çoğunlukla vücuttaki glutatyon seviyelerini dengeleyerek gösteren kersetin, glutatyon (GSH) sentezini tetikler ve antioksidan seviyelerini artmasında rol oynar. Ayrıca anti inflamatuar etkileri çeşitli etkenlere karşı oluşturulan immün yanıtın derecesinin de düzenlenmesinde etkilidir (Y. Li ve ark., 2016). Dişi üreme sistemi hastalıklarında bu nedenle koruyucu olarak kullanılabileceği düşünülmektedir. Çeşitli çalışmalar kersetinin, özellikle yumurtalık hücrelerindeki etkilerinde bahseder (Y. Chen ve ark., 2022; J. Wang ve ark., 2020). Yumurtalıklarda en sık görülen hastalıklardan PCOS ve endometriozis gelişiminde hasarlı hücrelerin proliferasyonunu engelledikleri ve sağlıklı hücre gelişimini ROS ve DNA hasarından koruduğu görülmektedir (Duan ve ark., 2024; Park ve ark., 2019).

Sunulan tez çalışmasında bisfenol türevleri arasından BPA ve BPF'nin, Çin hamster yumurtalık epitelyel hücre hattı (CHO) hücrelerinde neden oldukları oksidatif stres dereceleri çeşitli parametreler ele alınarak karşılaştırılmıştır. Ayrıca hasar üzerine antioksidan özellikleri belirlenmiş olan kersetinin oksidatif stresteki rolü de BPA ve BPF uygulanmış hücrelerdeki hasar ele alınarak değerlendirilmiştir. Tez çalışmasında ele alınan ve ölçülen parametreler arasından hücredeki oksidatif stresin gelişmesinde rol oynayan ROS'lar, hücredeki antioksidan seviyelerinin derecelendirilmesinde kullanılan total glutatyon seviyeleri, lipit peroksidasyonu ve hücre apoptoz düzeylerinin değerlendirilmiştir. Bu çalışma sayesinde kersetinin oksidatif stres üzerine olan koruyucu niteliği BPA ve BPF maruziyetine uğramış CHO hücrelerinde değerlendirilecek ve aynı zamanda iki bisfenol türü arasından bir kıyaslama yapılarak BPA'dan daha az toksik olarak nitelendirilen BPF'nin etkinlikleri yönünden yeni bilgilerin açığa çıkarılması ile literatüre kazandırılacaktır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Dişi Üreme Sistemi ve Yumurtalıklar

Canlılarda popülasyonun devamı için çeşitli mekanizmalar bulunur. Bunlardan biri olan dişi ve erkek üreme sistemleri, bir sonraki nesli oluşturan yapıtaşlarından sayılmaktadır. Özellikle dişi üreme sistemi, canlı oluşumunun başladığı ve geliştiği yer olarak önemlidir ve sistem içerisinde yer alan mekanizmaların düzenli işlemesi istenir (Rosner ve ark., 2025). Bu doğrultuda menstrüasyon ve ovulasyon gibi biyolojik olaylar, östrojen ve progesteron gibi yine sistem tarafından kontrol edilen hormonların salgılanması ve düzenlenmesine bağlıdır. Dişi üreme sisteminde birçok mekanizma bulunmakla birlikte, fetüs oluşumu için en gerekli içerik olan yumurtaların üretildiği ve salınımında sorumlu olan yumurtalıklar büyük önem taşımaktadır.

Yumurtalıklar dişi üreme sisteminde gonad olarak görev alırlar. Özellikle östrojen ve progesteron hormonlarının salgılandığı yer olarak çeşitli biyolojik fonksiyonların gerçekleşmesinde sorumludur Yumurtaların üretildiği ve salındıkları yer olarak üreme işlevinin odak noktası olarak geçer. Yumurtlama süreci, folikül uyarıcı hormon (FSH) ve lutenize edici hormon (LH) yumurtalık foliküllerini uyarması ile başlar. Östrojen ve progesteron hormonları bu süreci düzenleyici bir rol oynar. Yumurtalıklarda salınan yumurtalar fallop tüplerinden geçerek rahim boşluğuna gider ve fertilizasyonun gerçekleşmesi halinde yumurtanın rahme yerleşmesi ile fetüs gelişimi başlar. Fertilizasyon gerçekleşmediği takdirde yumurtalar endometrium tabakası ile birlikte menstrüasyonun gerçekleşmesi sonucu vücut dışına atılır. (Holesh ve ark., 2025).

Üreme sürecinde önemli bir rol oynayan yumurtalıklar aynı zamanda vücut içerisinde çeşitli hormon bağımlı olayların gerçekleşmesinde de yer alır. Ergenlik dönemi, gebelik ve menopoz gibi yaşam boyunca gerçekleşen süreçlerde hormonlar görevlidir Yumurtalıklar bu olaylarda özellikle östrojen ve progesteron hormonlarının salınmasını ve sekonder cinsiyet özelliklerinin gelişimini etkiler. Ancak yumurtalıklarda birçok nedene bağlı olarak görülen fonksiyonel ve gelişimsel sorunlar, üreme sisteminin işleyişini ve hormon bağımlı mekanizmalarını etkiler. Yumurtalıklara bağlı meydana gelen hastalıklar arasında en bilinenler olarak

endometriozis, polikistik over sendromu (PCOS) ve yumurtalık kistleri sayılabilir. Bunların haricinde yumurtaların oluşumlarında bozuklukların gerçekleşmesi de doğurganlık, cinsiyet özelliklerinin oluşumu ve sağlıklı fetüs gelişiminde sorunlar ile kendini gösterebilir (Richards, 2018).

2.1.1. Endometriozis

Normalde rahim içini kaplayan endometrial dokunun rahim dışında gelişmesine bağlı olarak oluşan bir hastalık olarak tanımlanır. Endometriozisin pelvik bölgede ağrı, dismenore ve kısırlık gibi semptomlara neden olduğu bilinir. Daha çok genç kadınlarda görülmekle birlikte üreme döneminde olan her kadını etkileyebilir. Kronik inflamasyon süreçleri ile karakterize olmakla birlikte bu süreçte gelişen inflamasyon oksidatif stres ve DNA hasarına neden olabilir (Bulun ve ark., 2019)

Endometrial dokunun genellikle yumurtalık ve fallop tüplerinde geliştiği daha sık görülse de pelvik bölgedeki diğer organlara kadar yayılma potansiyeli de taşıyabilir. Kesin gelişim nedeni çoğunlukla net olarak bilinemez. Ancak yaygın görüş, menstrüasyon sürecinde endometrial tabakanın akış yönünün terse dönmesi sonuncunda pelvik boşluğa gelmesi ve burada tutunarak çoğalması yönündedir (Sampson, 1927). Retrograd menstrüasyon denilen bu olayda risk faktörü olarak yoğun ve uzun süren kanama süreci gösterilebilir. Östrojen reseptörlerinin artmış hormon seviyeleri ile tetiklenmesi, endometriozisin kökeni olan inflamasyon sürecini başlatan bir immün yanıta sebep olabilir (Vercellini ve ark., 2014). Bu nedenle bu hastalığın kökeni genlikle inflamasyon ve immün süreçlerde gerçekleşen sorunlara bağlanmaktadır. Gerçekleştirilen çalışmalar, GATA bağlayıcı faktör 6'nın aşırı ekspresyonunun tetiklenmesi ile birlikte ERβ artışına bağlamaktadır. Endometrium tabakasının oluşumu ve gelişiminde önemli bir rolü olan östrodiol ve östrojen, dokunun tutunmasını sağlayabilir. Bu süreçte yükselen östrojen miktarları doku proliferasyonu tetiklenerek sonucunda hormon bağımlı bir inflamasyon oluşabilir (S. J. Han ve ark., 2015).

Birçok hastalıkta risk faktörü oluşturabilen endometriozis, kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi vücutta inflamasyon ve immün yanıtın bozulması ile çeşitli sorunların riski de endometriozis varlığında artabilir (Kvaskoff ve ark., 2015). Bunlara ek olarak dişi üreme sistemi kanserlerine de ayrıca hormonal

mekanizmaların etkilenmesi ile de sıkça rastlanabilindiği bilinmektedir (Vercellini ve ark., 2014).

2.1.2. PCOS

Polikistik over sendromu üreme döneminde olan kadınlarda sık görülen rahatsızlıklardan biri olarak geçer. Çeşitli metabolik ve hormon bağımlı olayların düzensizliği dolayısıyla görülen bu hastalığa sık rastlanılabilmektedir. Östrojen seviyelerinin düzensizleşmesi sonucunda, reseptörleri etkileyerek folikül oluşma sürecini bozabildiği düşünülmektedir (Sirmans & Pate, 2013; X.-L. Xu ve ark., 2021). Genel olarak PCOS, yumurtalıklarda kist oluşumu ile karakterize olarak bilinse de sadece buna bağlı bir sorun görülmeyebilir. Kist oluşumu sonucunda ovulasyonun gerçekleşmesinin engellenmesi ile amenore yani adet düzensizliğinin, yumurtanın salınımının olmaması ve fertilizasyon gerçekleşmesinin engellenmesi gibi sorunlar görülebilir. Fertilizasyonun olması halinde ise kistlerin varlığı veya hormonal düzensizlikler dolayısıyla gebeliğin sorunlu geçmesi, düşük veya doğumda komplikasyonlara yol açması nedeniyle önemli olduğu bilinir (Escobar-Morreale, 2018).

PCOS'un kadınlarda erkeklere özgü karakteristik özelliklerin görülmesine yol açtığı bilinmektedir. Bu durum kistlerin, androjen üreterek hiperandrojenizme neden olması sonucu oluşur. Bu belirtiler arasında çoğunlukla hirsutizm, kilo alımında artış ve ciltte yağlanma, kararma ve aknelerde artış bulunur (Teede ve ark., 2010). Androjenik özelliklerin artışı aynı zamanda dişi üreme sistemini de olumsuz etkileyerek fertilizasyon ve gebelik süreçlerinin gerçekleşmesi için olumsuz bir faktör olarak görülmektedir (Escobar-Morreale, 2018).

İnsülin direncini de beraberinde getirmekle ile birlikte vücutta yağlanma ve kilo artışına neden olabildiği bilinir. Bu duruma bağlı olarak tip 2 diyabet, hipertansiyon, dislipidemi ve kardiovasküler rahatsızlıkların görülme riski PCOS'lu bireylerde artış gösterebilmektedir (Shaikh ve ark., 2014). Aynı zamanda yumurtalıklarda gelişen kistlerin bazı durumlarda rahatsızlık verici boyut ve ağırlıklara ulaşması sonucunda karın ve pelvik bölgede ağrı, sık idrara çıkma, kabızlık gibi diğer organlara yaptıkları baskı ile sorunlara yol açabilir.

PCOS genetik ve çevresel faktörlere bağlı olarak gelişebilir. Ancak genel olarak metabolik bir rahatsızlık olması dolayısıyla, hormonal dengeyi bozucu olaylar oluşumunun tetiklenmesi açısında önem taşır. Bunlardan bazıları olarak tiroid sorunları, hiperprolaktinemi ve adrenal hiperplazi sayılabilir. Aynı zamanda çevresel kimyasallara maruziyet ile birlikte de kist oluşumunu etkileyecek mekanizmalar uyarılabilir. Bunlar arasında özellikle hormon benzeri etkilere sahip BPA, ftalat ve paraben gibi maddeler bulunur (Palioura & Diamanti-Kandarakis, 2015).

Genetik faktörler arasında ise genellikle steroidogenezi düzenleyen genlerde veya insülin direncine neden olan gen ve mekanizmalarda gerçekleşen sorunlar örnek gösterilebilir. Aile öyküsüne bağlı olarak görülmesi yönünde yine araştırmalar yapılmış olmakla birlikte, antimülleryen hormon (AMH) düzeylerine bağlı olan bir şekilde annede görülmesi halinde kız çocuğunda da görülme riskinin yüksek olduğu düşünülmektedir (Cook ve ark., 2002).

2.1.3. Yumurtalık Kanseri

Kanser, vücut hücrelerinin doğal işleyiş süreçlerinde fiziksel veya çevresel faktörler nedeniyle gelişen sorunlar dolayısıyla görülen bir hastalıktır. Hücrelerin kontrolsüz çoğalması ile karakterize olup, vücut fonksiyonlarının etkilenmesine, yanlış işlemesine ve ölüme neden olabilir (Folkman, 1995). Birçok mekanizma üzerinden oluşabilen kanser, oksidatif stres artışı, apoptoz sürecinin bozulması, gen mutasyonları, onkogenlerin aktivasyonu veya tümör baskılayıcı genlerin engellenmesin gibi nedenler ile gelişebilir (Kreso & Dick, 2014).

Yumurtalık kanseri kadınlarda görülen jinekolojik kanserler arasında en fazla görülen ve en önemli kanser türüdür. 2025 yılı itibariyle belirlenen vaka sayılarına göre ABD'de yaklaşık 20.000 yeni hasta tespit edilmiş olup, bu vakalardan 12.000 kadarının ölümle sonuçlandığı bildirilmektedir (OCRA, 2025). Jinekolojik kanserler arasında ölüm oranı en yüksek olandır. Yumurtalık kanseri, yaşa bağlı gelişir. Hastaların büyük çoğunluğu 50 yaş üstü kadınlardan oluşur. Hastalığın genellikle menapoz sonrası görülmesi ise, riskin yaşla birlikte artmasına ve 50-70 yaş aralığında en yüksek seviyelere ulaşmasına neden olur. Yumurtalık kanserinde erken teşhis olup, geç fark edilmesi durumunda 5 yıllık hayatta kalım oranı %50 altına düşebilir. Semptomlarının spesifik olmaması bu duruma neden olan en büyük

etkendir. Genellikle diğer hafif hastalıkların belirtileriyle karıştırılan semptomlar arasında, karın ağrısı, sık idrara çıkma ve karın şişliği ile bağırsak sorunları sayılabilir (SEER, 2025).

Yumurtalık kanserinde hastalık, yumurtalık yüzeyinde gelişen epitel karsinomlar üzerinden oluşur. Köken aldıkları hücre ve doku türlerine göre de farklı sınıflara ayrılabilirler. Bunlar arasında yumurta hücrelerinde köken alan germ ve hormon salgılayan hücrelerde köken alan stromal tümörler bulunur (Purdie ve ark., 2003; Suh ve ark., 2010). Tedavisi için genellikle kemoterapötik ilaçlar uygulandığı gibi ooferoktemi veya histeroktemi gibi yumurtalık, rahim veya çevresinin cerrahi işlemlerle alındığı yöntemler de mevcuttur (Lawrie ve ark., 2015).

Kanser gelişimi birçok faktöre bağlı olmakla birlikte, yumurtalık epitel yüzeyinin yumurtlama ve atım dönemlerinde sürekli tekrarlayan yıkımı ve onarımı, östrojen ve progesteron gibi hormonlara yüksek seviyelerde sürekli maruziyeti, bunlara bağlı olarak gelişen inflamatuar süreçler gibi olaylar sonucunda gelişiminin tetiklendiği söylenebilir (Risch, 1998). Tümör gelişimi özellikle östrojen, progesteron, FSH ve lutanize LH gibi yumurtalık ve çevresinin üzerine etkisi bulunan hormonların bireysel ve çevresel durumlardan etkilenmesi ile görülebilir (Scsukova ve ark., 2016). Hormonlar haricinde genetik etkenler, aile öyküsü, mutasyonlar sayılabildiği gibi yumurtalık kanseri özelinde en önemli faktörlerden biri de yaş ve üreme süreçleri ile ilgili değişkenlerdir. Yaşam tarzı etkenlerinden en çok dengesiz beslenme, fiziksel aktivite azlığı ve kilo alımı hastalıkların gelişimi açısından önem taşır. Çalışmalara göre yumurtalık kanseri gelişiminde obezitenin önemli bir risk faktörü olduğu görülmektedir (H.-F. Chen ve ark., 2014).

Yumurtalık kanserinde üreme geçmişi büyük önem taşır. Östrojen ve progesteron hormonlarına sürekli olarak maruz kalınması, kanser riskini arttırır. Tamamlanan her yumurtalama döngüsü sonucunda kanser riski yükselmektedir. Gebelik haricinde yumurtlama döngüsü, oral kontraseptif kullanımı, menapoz ve emzirme gibi durumlarda ise kesintiye uğrayarak hormonal süreçleri durdurur ve kanser riskini azaltır (Cramer, 2023). Özellikle oral kontraseptiflerin kullanımlarının uzun yıllar devam etmesi ile riski azaltırken, kullanımlarının bırakılmaları halinde bile etkileri sürebilir (McGuire ve ark., 2016). Menopoz sürecinde kullanılan hormon replasman tedavileri (HRT) ile doğurganlık arttırıcı hormonal ilaçların kullanımlarının da

yumurtalık kanserinde bir risk faktörü olarak değerlendirildikleri araştırmalar mevcuttur (Riman ve ark., 2004). Genetik etkenler arasında ise en sık BRCA genleri sayılır. Meme ve yumurtalık kanserleri gelişiminde etkili olan bu genlerdeki mutasyonlar kanser riskini arttırır. Bu durumda bir başka önemli etken olan aile öyküsü ise birinci derece akrabalarında kanser veya BRCA genleri varlığında riski oldukça yükseldiğini göstermektedir (Gayther & Pharoah, 2010).

Bu süreçler ve hastalıkların ilerleyişi üzerinde özellikle hormon benzeri aktivite gösteren kimyasal maddeler sorunlara neden olabilir. Bu durumun en bilinen örnekleri arasında endokrin bozucu kimyasal maddeler (EDC) sayılmaktadır. İnsan vücudundaki hormonal mekanizmaları tetikleyerek veya bozarak sorunlara yol açan EDC'lere maruziyet, çeşitli yollarla gerçekleşebilir. Doğal kaynaklar, kimyasal ürünler ve mesleki nedenler de maruziyete yol açar. Ancak insanlar en sık, gıda ürünlerinde kullanılan ambalajlar, katkı maddeleri ve kişisel bakım ürünleri ile EDC'lere maruz kalmaktadır (Braun, 2017).

Hormonların aktivitelerini taklit eden EDC'ler yumurtalık etkilerini doğrudan veya dolaylı mekanizmalarla gösterebilir. Özellikle BPA ve per- ve polifloroalkil maddelerin (PFAS) ele alındığı çalışmalarda bu maddelerin PCOS'a neden olabildiği, ftalatların ise endometriozis gelişiminde risk faktörü olarak yer aldığı görülmektedir (Siddiqui ve ark., 2022). Etkilerini ER'lere bağlanması, hücre sentezlerini etkilemesi ve transkripsiyonel aktivitelerini bozarak gerçekleştirdikleri bilinen EDC'ler, özellikle yumurtalık kanserinde steroidogenez süreçlerini etkileyerek hormon dengesizliklerine nende olabilir. Ayrıca proliferasyonu ve oksidatif stresi de östrojenik etkileri dolayısıyla uyararak, çeşitli hastalıkların gelişim riski arttırdıkları yönünde yapılan çalışmalar mevcuttur (Gogola ve ark., 2020).

2.2. Endokrin Bozucu Kimyasal Maddeler

Endokrin sistem üzerinde etkili olan ekzojen maddelere endokrin bozucu kimyasal maddeler (EDC) denir. Vücuttaki birçok işleyişin düzenlenmesinde sorumlu olan endokrin sistemin etkileri hormonlar aracılığıyla görülür. Büyüme, gelişme ve üreme gibi çoğu mekanizma vücut tarafından salgılanan hormonlar ile denetlenir. Bu mekanizmaların dışarıdan veya içeriden bir neden dolayısıyla bozulması, hormonların sentezlenmesini, taşınmasını, etki göstermesini, metabolizmasını,

bağlanmasını etkileyebilir. EDC'ler de hormon benzeri etkileri nedeniyle sorunlara ve devamında kronik hastalıklar, fiziksel hasarlar ve hatta kanser ve ölüme yol açabilmektedir (Zoeller ve ark., 2012).

Sentetik ve doğal olarak ayrılabilen EDC'ler, vücut içerisine en çok yiyecek ve içecek gibi gıdalar ile alım yoluyla girer. Bunun dışında solunum ve dermal yollarla da maruziyetleri gerçekleşebilir (Gore ve ark., 2015). Doğal EDC'ler arasında genistein, daidzein gibi fitoöstrojenler sayılırken; BPA, ftalar, dioksinler gibi sentetik EDC'ler genellikle pestisitler, gıda katkı maddeleri ve plastik eşyalar ve kişisel bakım ürünleri ile kozmetikler gibi günlük hayatta sıklıkla kullanılan ürünlerde bulunur (Carpenter, 2013). Bu nedenle EDC'lerin insan sağlığına olan etkisi ve toksisite potansiyeli ve mekanizmaları hakkında birçok çeşitli çalışma yapılmış ve yapılmaya devam edilmektedir.

Maruziyet özellikleri kimyasal maddeler söz konusu olduğunda büyük önem taşır. Doz, zaman ve yol olarak değerlendirildiğinde aynı madde bile farklı etkiler gösterebilir. Örnek olarak bebekler ve yetişkinlerin bir maddeye olan maruziyeti ve sonuçları karşılaştırıldığında sistemsel farklılıklar dolayısıyla etkiler de değişebilir (Basak ve ark., 2020). Maruziyet dozu da benzer şekilde farklı miktarlarda farklı etkilerin görülmesine yol açar. Bazı durumlarda ise doz kişide belirgin bir etkiye sebep olmasa bile gelecek nesillerde olumsuz sonuçlara yol açabilir (Sargis ve ark., 2019). EDC'ler arasında özellikle üreme sistemi hasarlarına yol açanlar ciddi bir tehlike taşımaktadır. Özellikle seks ve tiroid hormon reseptörlerine olan etkileri büyüme ve gelişme sorunlarına yol açabilirler. EDC'ler arasından etkileri en sık görülenler günlük eşyaların içeriğinde en fazla bulunan BPA ve ftalattır (Beszterda & Frański, 2018).

2.2.1. Endokrin Bozucu Kimyasal Maddelerin İnsan Sağlığına Etkileri

Östrojen, progesteron ve androjen gibi çeşitli hormonlarla işleyişi denetlenen üreme sitemleri EDC'lerden en fazla etkilenen sistemlerdendir (Brehm & Flaws, 2019). EDC'lerin varlığı ile dişilerde yumurtalık ve rahim fonksiyonları etkilenirken erkeklerde kriptorşidizm gibi testislerde fiziksel sorunlara ve sperm yapısı ve sayısında anormalliklerine yol açabilir (Caserta ve ark., 2014; Castellini ve ark., 2022). Aynı zamanda erken veya geç puberte, erken doğum, polikistik over,

endometriyozis, kısırlık ve prostat, testis, rahim kanserleri gibi hastalıklarda neden olabilirler (Bonde ve ark., 2016; Rattan ve ark., 2017).

Metabolik sorunlara da neden olabilen EDC'ler bu etkilerini yağ metabolizmasını bozmakla gösterebilir. Aşırı kilo artışı olarak adlandırılan obezite fazla yiyecek tüketimi ve hareketsizlik ile birlikte gelişir (Hruby & Hu, 2015). EDC'ler obezitenin gelişmesinde rol alarak hormonal düzensizlikle, insülin direnci ve adipogenez ile birlikte yağ metabolizması ile etkilerini gösterir (Biemann ve ark., 2021). Ayrıca çoğu EDC'nin lipofilik olması da obezite ile paralel bir şekilde etki potansiyellerinin artmasına neden olabilir. İnsülin direnci benzer şekilde diyabet gelişimini beraberinde getirir. β-hücrelerin fonksiyon bozukluğu ile yetersiz insüline veya hücresel direnç gelişiminde yine EDC'lerin etkileri görülebilir (Biemann ve ark., 2021). Özellikle β-hücre sorunları ve apoptozu oksidatif strese bağlı olarak ilerler. Apoptoz, insülin mekanizmasını bozarak diyabet gelişimine neden olması yönünden etkilidir (Cimmino ve ark., 2019).

Beyin gelişiminden sorumlu olan tiroit hormonlarının sentezi ve salgılanması, EDC'lerin varlığında bozulabilir. Büyüme ve gelişim işleyişinde oluşan sorunlar ile fonksiyon bozuklukları görülür. Aynı zamanda tiroit kanseri gibi hastalılara da yol açabilir (Zeng ve ark., 2017). Anne karnında EDC'lere maruziyet ise çocuklarda hipotiroitizm ve sinir sistemi hasarlarına yol açarak davranışsal bozuklukları, zekâ geriliği ve dikkat eksikliği gibi sorunlara neden olabilir (Wong & Durrani, 2017) .

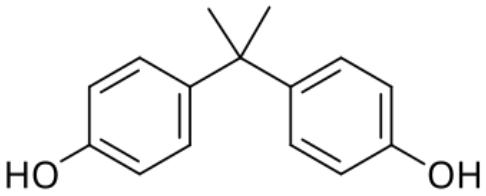
2.3. Bisfenol A ve Bisfenol F

2.3.1. Bisfenol A'nın Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Bisfenoller, günlük hayatta birçok yoldan maruz kalınabilen kimyasal maddelerdir. Yapısal olarak bir karbon atomu ile bağlı 2 fenol halkasının birleşmesi ile oluşurlar ve reaktif gruplarına göre isimlendirilirler. En bilinen bisfenol türevi 2,2-(4,4'dihidroksifenil) propan olarak geçen ve kimyasal formülü $C_{15}H_{16}O_2$, olan bisfenol A (BPA)'dır. Günümüzde birçok alanda BPA ve diğer bisfenol türevleri kullanılmaktadır (Konieczna ve ark., 2015).

Bisfenol türevleri büyük çoğunluğu BPA'nın tehlikeli etkilerinin belirlenmesi sonucunda endüstride alternatif madde kullanımının arayışı ile ortaya çıkmıştır. BPA türevleri yapısal olarak BPA'ya benzerdir ancak etki potansiyelleri farklılık

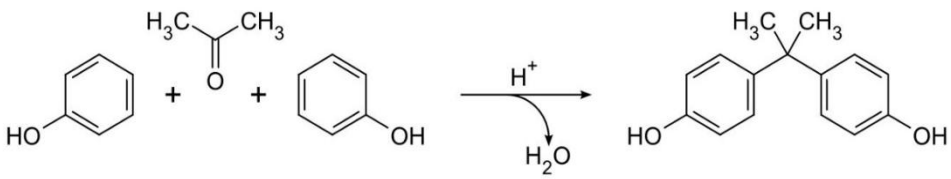
gösterebilir. Ancak bazı çalışmalar bu türevlerin de östrojen benzeri hormon aktivitesini gösterir niteliktedir (Rochester, 2013). Kullanımda olan bisfenol türevleri arasında bisfenol P (BPP) bisfenol S (BPS), bisfenol B (BPB), bisfenol F (BPF) bisfenol Z (BPZ), bisfenol AP (BPAP) ve bisfenol AF (BPAF) sayılabilir (D. Chen ve ark., 2016).



Şekil 2.1. Bisfenol A'nın Kimyasal Yapısı

Bisfenollerin birbirlerinden temel farklılıkları fenol halkaları ile bağlanmış olan gruplardır. Bu nedenle kimyasal özellikleri de değişiklik gösterebilir (Vandenberg ve ark., 2007). İçlerinden BPA, uçuculuğu düşük olan bir maddedir. Su içerisinde 120 mg/L şeklinde orta derecede bir çözünme gösterir. Bir maddenin toprak ve benzeri maddelerdeki biyoakümülasyonunu ölçen logK_{OW} değeri BPA için 3,4'dir, bu derece az seviyede bir dağılmayı işaret eder (Staples ve ark., 1998).

İlk defa 1905'de bir kondenzasyon tepkimesinin sonucunda fenol ve asetonun birleşimi ile sentezlenmiştir. Başta sentetik östrojenik bir ajan olarak kullanılması amaçlanan BPA, dietilstilbestrol adlı (DES) ajanın ortaya çıkması sonucunda bu yönüyle kullanıma sunulmamıştır. (S. Li ve ark., 2003). 1950'lerde sentetik üretime geçilmesi ile başlıca plastiklerin yapımı olmak üzere endüstriyel imalatta kullanılmaya başlanmıştır.

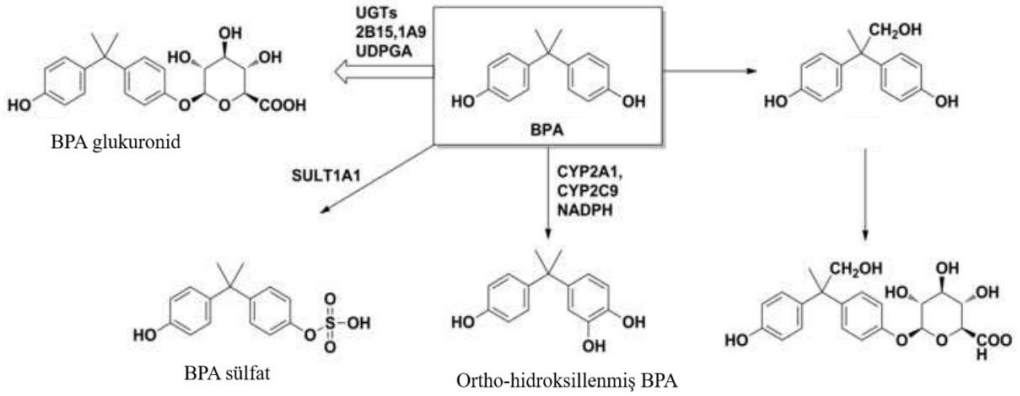


Şekil 2.2. Bisfenol A'nın Fenol ve Asetondan Sentezi (Das ve ark., 2004)

2.3.2. Bisfenol A'nın Biyotransfromasyonu

İnsan vücuduna alındıklarında her kimyasal madde gibi bisfenoller de metabolize olma ve atılma süreçlerinden geçer. En sık gıda yoluyla maruz kalınmaları dolayısıyla bisfenollerin ve özellikle BPA'nın vücut içerisindeki ilk absorbsiyonu gastrointestinal kanaldan emilimi şeklinde gerçekleşir (Toner ve ark., 2018; Y. Wang ve ark., 2018). Takiben karaciğere gelen ve ilk geçiş etkisine uğrayan BPA, CYP2C18, CYP2C19 ve CYP2C9 enzimleri ile metabolize edilir. Glukuronik asit konjugasyonu ile ana metaboliti BPA glukuronit (BPAG) ve sülfatasyon ile minor metaboliti BPA-sülfat (BPAS) konjugatlarına dönüştürülür (Matthews ve ark., 2001).

BPA'nın glukronidasyonunu hepatik uridin 5′-difosfo-glukronoziltransferazlar (UGT) enzimleri sülfatasyonu ise sulfotransferaz (SULT) 1A1 gerçekleştirir. Karaciğer dışındaki diğer dokularda ekstrahepatik UGT'lerden, UGT2A1 ve UGT1A10 ve UGT1A1 enzimleri glukuronidasyonda görev alır (Hanioka ve ark., 2008).



Şekil 2.3. Bisfenol A Metabolitleri Oluşumu (Gramec Skledar & Peterlin Mašič, 2016)

Metabolizasyon sonrasında BPA idrarla vücut dışına atılır. Konjugatlar metabolik olarak aktif olmadığından BPA'nın detoksifikasyon mekanizması olarak da metabolizması gerçekleştirilmiş olur. Yarı ömrü 6 saattir ve yaklaşık 42 saatte idrar ile neredeyse tamamen vücuttan atılabilir. Oral yol haricinde dermal veya inhalasyon

yolu ile BPA'nın vücuda geçtiği durumlarda ise, maddeye yönelik ilk geçiş etkisi görülmeyerek atılımı yavaş gerçekleşir (Y. Wang ve ark., 2018).

2.3.3. Bisfenol A'nın Kullanım Alanları ve Maruziyeti

Çoğunlukla polikarbonat plastiklerin ve epoksi reçinelerin üretiminde kullanılan BPA ayrıca PVC yapımında ve plastiklerin bozunmasını önleyici olarak da kullanılabilir (Geens ve ark., 2009). Epoksi reçineler genellikle döşeme gibi kaplamalarda kullanılırken plastikler çevrede türlü malzemenin içeriğinde bulunur. Özellikle içecek şişeleri, yiyecek kapları, ambalaj kağıtları, elektronik eşyalar gibi günlük hayatta kullanılan birçok ürün içeriğinde plastik barındırır. Bunlara ek olarak telefon ve bilgisayarlar gibi çoğu elektronik eşyanın içerisinde, otomotiv sanayisinde ve ürün fişlerinin baskısında kullanılan termal kağıtların yapımında da BPA içeren maddelerden faydalanılmaktadır (EFSA, 2015a; Goodson ve ark., 2004).

BPA en çok gıdalarla olan teması yönünden önem taşır. Polikarbonat plastiklerin dayanıklı yapıda ve şeffaf görünümlü olması kullanım alanlarını arttırmıştır. Tek kullanımlık bardak ve tabak gibi ürünlerden yiyeceklerin uzun süreli tutulduğu saklama kaplarına kadar geniş bir yelpazede kullanılabilirler. Ancak son yıllarda yapılan birçok araştırma ile birlikte ambalaj kaplamalarından yiyeceklere büyük miktarlarda BPA geçtiği yönünde sonuçlar elde edilmiştir (Cimmino ve ark., 2020).

İnsanlar bisfenollere en çok yiyecek ve içecek yoluyla maruz kalmaktadır. Bu durum ise çoğunlukla gıdaların ambalajlanmasında kullanılan maddelerin içeriğinde bulunması nedeniyle gerçekleşmektedir. Popülasyonun büyük bir kısmında bu nedenle her koşulda tespit edilebilir BPA seviyeleri görülebilir. BPA'nın yapısal stabiletisi çevreye dağılımını etkiler. Dışarıdan bir etken olmadığında çözünürlüğü azken sıcaklık ve pH artışı ile dağılım katsayısı artış göstermektedir (C. Li ve ark., 2016). Fabrikasyon ve saklanma aşamaları göz önüne alındığında gıdalara geçiş potansiyeli yükselebilir (Lorber ve ark., 2015).

Yiyecekler haricinde özellikle bebeklerin ve küçük çocukların alışkanlıkları, hassas yapıları ve daha hızlı olan metabolizmaları ele alındığında, kullandıkları eşyaların BPA içermemesi gerekir (Konieczna ve ark., 2015). Ancak çoğu oyuncak ve biberonun içeriğinde BPA bulunması nedeniyle maruziyetlerin fazla olduğunu gösteren çalışmalar bulunmaktadır (Jeon, 2022). Özellikle idrar, plazma, plasenta ve

anne sütündeki BPA konsatrasyonlarının ölçüldüğü çalışmalar sonucunda BPA maruziyetinin tahmin edilenden daha fazla olabileceği görülmüştür (Pacyga ve ark., 2019; Thoene ve ark., 2018). Benzer şekilde oral, dermal ve inhalasyon ile gerçekleşen maruziyetin ölçüldüğü çalışmalarda bu yollarla insan vücuduna alınan BPA konsantrasyonlarının yüksek olduğunu göstermektedir (Rolfo ve ark., 2020). Oral olarak bir maruziyet yolu da dental dolgular ve kompozitlerin yapılmasında kullanımı ile gerçekleşebilir.

Günlük hayat dışında BPA'ya çevresel olarak da maruz kalınabilir. Hava, su ve topraktaki BPA seviyelerinin değerlendirildiği birçok çalışma, BPA seviyelerinin bu yollar için de yüksek derecelerde olabileceğini belirtmektedir (Chakraborty ve ark., 2019; Vasiljevic & Harner, 2021). Atıkların sulara atılması nedeniyle BPA ve benzeri çeşitli kimyasal madde doğal kaynaklara geçebilir. Bunlardan en dikkat edilmesi gereken atıkların depolanma alanlarına oluşabilecek sızıntılardır (Yu ve ark., 2011).

Maruziyeti göz önüne alındığında bisfenoller ve özellikle BPA hakkında birçok yasal düzenleme yıllar içerisinde gerçekleştirilmiştir. Düzenlemelerin çoğu geçmiş yıllarda kısıtlanmasına yönelik iken günümüzde daha çok yasaklanması ve alternatif maddelerin kullanımını destekler şekildedir. Özellikle BPA'nın kullanımı Avrupa Birliği (EU) tarafında yapılan düzenlemeler ile kısıtlanmıştır. İnsan vücuduna ana maruziyet yolunun gıdalar ile olduğu göz önüne alındığında yapılan ilk düzenlemeler de ambalaj ve paketleri kapsar şekildedir. Gıda maddeleriyle kullanılan plastikler ile ilgili Komisyon Yönetmeliği (AB) No. 10/2011/EDU ile birlikte (AB) No. 321/20118 sayılı maddeye bağlı olarak 2011 yılında bebek biberonlarının üretiminde BPA kullanımını yasaklamıştır (EU, 2011a) . FDA ise takiben 2012 yılında, BPA içeren biberonlarının ve takiben 2013 yılında bebek maması ambalajlarında kullanılması yasaklanmıştır (FDA, 2014).

Bebek biberonlarında BPA ve benzeri polikarbonatların bulunmasını tamamen yasaklayan ilk ülke olan Kanada, kendi popülasyonunu ele alarak yaptığı çalışmalarda BPA seviyelerinin özellikle çocuklar arasında oldukça yüksek olduğu göstermiştir (Bushnik ve ark., 2010; Health Canada & Environment Canada, 2008). Bunlara ek olarak 2015 yılında, Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi gıda maddelerine BPA geçişini belirterek üreticilerin bisfenol alternatiflerini ve türevlerini kullanmaya yönelmesine neden olmuştur (EFSA, 2015b).

2.3.4. Bisfenol A'nın İnsan Sağlığına Etkileri

Endokrin bozucu kimyasal maddelerin ortak özellikleri belli hormonların kimyasal yapılarını ve vücut içerisindeki aktivitelerini taklit ederek hormon dengesinin bozulmasına ve çeşitli hastalıkların görülmesine neden olmalarıdır. Bir EDC olarak sınıflandırılan BPA da, yapısal olarak östrojen hormonuna olan benzerliği dolayısıyla vücut üzerinde östrojene benzer etkiler gösterebilir. Bu özelliğine ek olarak oksidatif hasar gelişiminde de rol oynadığı bilinmektedir (İyigündoğdu ve ark., 2020).

BPA'ların östrojen reseptörü afiniteleri doğal hormonlara kıyasla düşüktür ancak yine de etkinlikleri vardır. Çalışmalar sonucunda BPA'nın ERα ve ERβ'yi bağlama yeteneklerinin az olmasına rağmen yine de reseptörleri belirgin derecede etkileyebildikleri görülmüştür. BPA'nın aynı zamanda ERα'ya göre 10 kat afinite göstererek ERβ'ye de bağlandığı görülmektedir. Ancak genellikle östrojen benzeri aktiviteye neden olmasına rağmen bazı durumlarda antagonistik bir etkiye de sebep olduğu bilinmektedir (Wetherill ve ark., 2007). ERRγ (östrojen ilişkili reseptör gamma) bağlanma afinitesi ile ilgili yapılan çalışmalar ise BPA'nın bu reseptörlere olan ilgisini en sık olarak meme kanseri prognozu ile ilişkilendirmektedir (Okada ve ark., 2008). 1993'de yapılan deneyde meme kanseri hücreleri üzerine östrojenik aktivitesi keşfedilmiş olup, insan vücudunda gösterebileceği zararlı etkiler yönünde çalışmalara yön verilmiştir. Bunlara ek olarak BPA metabolizasyonu sonucunda oluşan yan ürünleri de ERa'ları etkileyebilir. (Krishnan ve ark., 1993).

Genel olarak östrojenik ve antiandrojenik etkileri ile vücut üzerinde metabolizma sorunlarına ve hastalık gelişmesine neden olur. Bunlar arasında da hormon dengesizliklerine bağlı erkek ve dişi üreme sistemlerinde oluşan sorunlar büyük önem taşır (Tomza-Marciniak ve ark., 2018). Özellikle östrojen hormon üretiminin ve reseptörlere olan uyarıların en sık gerçekleştiği yer olan yumurtalıklardaki etkileri oldukça önemlidir. Yapılan araştırmalarda folikül hücrelerine belirgin miktarlarda geçebildikleri gösterilmektedir. Bunun nedeni folikülogenez ve steriodogenez mekanizmalarına olan etkisi ile değerlendirilebilir (Craig ve ark., 2011). Özellikle bazı çalışmalarda BPA'nın folikül sıvısında bile tespit edilebildiği görülmektedir. Bu nedenle yumurtalıklarda hormonal etkilere neden olması kaçınılmazdır. Çalışmalar sonucunda, BPA'nın anovülasyona neden olabileceği ve ayrıca folikül sayısını azaltarak kısırlığa sebep olabileceği de görülmektedir (Czubacka ve ark., 2021).

Ayrıca, granüloza hücrelerinde stroidogenez sürecini etkileyerek, üreme fonksiyonlarında bozukluklara da yol açabilir (Grasselli ve ark., 2010). Östrojen reseptörlerine olan etkisi, granüloza hücrelerinin hormon üretmeleri dolayısıyla çok miktarda östrojen reseptörüne sahip bir hedef olması yönünden önemlidir (Leung & Choi, 2007). KGN insan granüloza hücrelerinin incelendiği çalışmalar, çeşitli sinyal yolaklarını aktive ederek otofajiyi tetiklediklerini göstermektedir. Yine benzer şekilde granüloza hücrelerinde canlığı azalttığı ve apotoz mekanizmalarını tetiklediği görülmektedir (J. Xu ve ark., 2002). Aynı zamanda sağlıklı bireylerden alınan örneklere bakıldığında, oositlerin tutunma ve gelişme potansiyallerini de düşürebildikleri bildirilmiştir (Lin ve ark., 2021).

Dişi üreme sisteminde ayrıca endometrial duvar kalınlığında belirgin bir artış ile de ilişkilendirildiği çalışmalar vardır (Mínguez-Alarcón ve ark., 2015). Endometrial tabakada gelişim gösteren bir hastalık olan endometriozise sahip kadınlardan alınana serum örneklerinin incelemesi sonucunda bu hastalığa sahip olanlarda sağlıklı örneklere kıyasla daha yüksek BPA seviyelerine rastlanıldığı görülmektedir (Cobellis ve ark., 2009).

İlişkilendirildği bir başka hastalık olan PCOS'ta, BPA'nın yumurtalık hücrelerini östrojenik ve androjenik etkileri ile uyarması açısından etkilediği düşünülmektedir. Özellikle steroidogenezde etkili olan 17ß-hidroksilaz enziminin artışı ile yumurtalıklarda androjen hormonunu uyardığı ve yumurtalık teka hücrelerini etkileyerek kist gelişimine neden olduğunu savunan araştırmalar bulunmaktadır. Steroidogeneze olan etkisinin ER'lerden G proteinine bağlı reseptör 30'u (GPR30) etkilediği de düşünülmektedir (A. Rutkowska & Rachoń, 2014). *in vivo* modeller ise, prenatal BPA maruziyetine uğramış farelerde yumurtalıkta antral folikül hücresi oluşumu ve rahim gelişimi gibi olayların östrojen reseptör ve miktarlarına bağlı olarak etkilendiğini göstermektedir (Markey ve ark., 2003). Benzer şekilde sıçanlarda gerçekleştirilen çalışmalarda ise maruziyet sonrasında yumurtalık gelişiminde sorunlar görüldüğü ve kist oluşumunda artış olduğu belirtilmektedir. Aynı zamanda yetişkin sıçanlarda, GnRH salınımı inhibe ederek PCOS'ta rol oynayabileceği de düşünülmektedir (Fernández ve ark., 2010).

Yapılan insan çalışmaları, BPA'nın androjen seviyelerinde artışa bağlı olarak PCOS riskini arttırdığını gösterir (Kandaraki ve ark., 2011; Kechagias ve ark., 2020). Bu

hastalığa sahip kadınlarda incelenen idrar ve serum örneklerinde BPA miktarlarının kontrol gruplarına kıyasla yüksek olduğu görülmektedir (Palioura & Diamanti-Kandarakis, 2015; A. Z. Rutkowska & Diamanti-Kandarakis, 2016). Yine hastalardan alınan örnekler değerlendirildiğinde BPA miktarları ve hastalığın gelişimi arasında doğrusal bir ilişki görülmektedir (Kandaraki ve ark., 2011). Ayrıca sağlıklı gruplarla kıyaslanıldığında vücut kitle indeksi (BMI) yüksek hastalardaki konsantrasyonlarının daha fazla olması BPA'nın metabolik dengeyi etkileyici potansiyelini de gösterir nitelikte olabilir (Akgül ve ark., 2019; Konieczna ve ark., 2015). Genel kanı ise maruziyetinin folikül gelişimini bozması yönünden kist oluşumuna neden olabileceği yönündedir. Benzer şekilde, PCOS'ta risk ve semptom olarak görülen insülin direnci ve obezitede BPA ile ilişkilendirilebilir. ER ile adipoz dokuların etkilenmesi de bu hastalığın gelişimini etkileyen bir risk faktörü olarak ele alınabilir (Somm ve ark., 2009).

Kanser gelişimi de BPA'ya bağlı olarak başlayabilir. Özellikle erkek ve dişi üreme sistemi organlarından over ve rahim ile birlikte hormonlara bağlı olarak işleyiş gösteren prostat ve meme dokuları gibi bölgelerde hormonal aktivitenin dengesiz oluşu oldukça büyük önem taşır (Maffini ve ark., 2006; Seachrist ve ark., 2016).

Gerçekleştirilen *in vitro* çalışmalar, çeşitli mekanizmalar aracılığı ile yumurtalık kanseri gelişiminde rol alabileceklerini göstermektedir. Hücre proliferasyonlarını etkileyebildikleri gibi, özellikle yumurtalık hücrelerinde BRCA1 ve 2 genlerinde mutasyonlara sebep olabildikleri de bilinmektedir (Antoniou ve ark., 2003). Bu hücrelerin çoğalmasında rol oynayan sinyal yollarını ve vasküler endotelyal büyüme faktörü (VEGF) artışını indükleyebildiği görülmektedir (Ptak & Gregoraszczuk, 2015). Yumurtalık kanseri hücrelerinde özellikle ERα üzerinden proliferasyonu arttırdığını gösteren çalışmalar bulunmaktadır. İn vivo modellerde yapılan çalışmalarda ise BPA'nın yumurtalık hücrelerinde östrojen reseptörlerine bağlı yolakları etkilediği ve metastazı tetikleyerek riski arttırdığı söylenebilir (Hui ve ark., 2018).

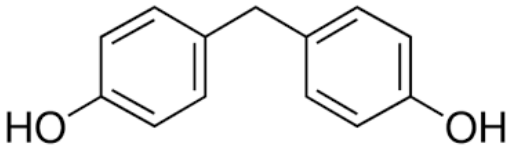
Ayrıca BPA konsantrasyonlarının bazı popülasyonlarda gerçekleşen düşük sayısı ile doğru orantılı olduğu da görülmektedir (Shen ve ark., 2015). Erkeklerde ise BPA'nın antiadrojenik aktivitesinin sperm kalitesinde azalmaya ve fonksiyonlarında bozulmaya neden olduğu araştırmalar sonucunda görülmektedir (Hart ve ark., 2018;

Krzastek ve ark., 2020). Yapılan hayvan çalışmaları da bu verileri destekler niteliktedir. Zebra balıkları ile gerçekleştirilen bir çalışma sonucunda BPA ve BPS'nin üreme sistemlerine olan etkileri araştırılmış olup, bisfenollerin çeşitli yolaklar üzerinden gen ekspresyonlarını etkileyerek embriyo gelişimini bozduğu görülmüştür (Qiu ve ark., 2016).

Diyabet ve obezite gibi metabolik rahatsızlıklar ve tiroid sorunları da BPA seviyelerine bağlı olarak oluşabilir. (Pérez-Bermejo ve ark., 2021). Ancak neden oldukları olumsuzlar arasında en önemlisi ise fetal gelişime olan etkileridir. Fetüsün oluşum ve devamında oluşabilecek maruziyetler yenidoğanda fiziksel deformitelere, malformasyonlara, otizim gibi kromozomal sorunlara neden olabilir. Bunlara ek olarak ileriki dönemlerde görülebilen davranış sorunlarının da BPA'nın nörogelişimsel mekanizmaları etkilemesi kaynaklı olduğuna dair araştırmalar mevcuttur (Braun, 2017).

2.3.5. Bisfenol F'nin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Bir bisfenol türevi olan BPF (bis 4-hidroksifenil) BPA'nın toksik etkilerinin ortaya çıkmasıyla kullanıma alternatif olması için üretilmiş bir bileşiktir. $C_3H_{12}O_2$ fromülü olan ve iki fenol halkasının bir metilen ile birleştiirlmesi sonucunda ortaya çıkan BPF, BPA ile epoksi reçineler ve kaplamalar gibi benzer kullanım alanlarına sahiptir. Kullanımında en önemli durum BPA'nın toksik özelliklerinin bilincinin endüstirde artması ile birlikte diğer türevleri ile birlikte yerine geçmesi olarak söylenebilir (Fromme ve ark., 2002; Rochester, 2013).



Şekil 2.4. Bisfenol F'nin Kimyasal Yapısı

BPF toksisitesinin değerlendirildiği çalışmalar sayıca azdır. BPS, BPAF, BPZ gibi diğer türevler için de benzer bir durum geçerlidir. Ancak yine bir bisfenol madde olmasına bakılarak BPA ile benzer bir etki potansiyeli olduğu söylenebilir. Özellikle

östrojen hormonuna yapısal olarak benzemeleri yönünden BPF'nin de östojenik ve hormonal bir aktivite gösterdiği düşünülebilmektedir (Yang ve ark., 2014).

2.3.6. Bisfenol F'nin Biyotransformasyonu

BPA'ya kıyasla BPF'nın metabolizması ve biyotransformasyonu kimyasal yapılarının belirli bir kısmının farklı olmasına bağlı olarak değişiklik gösterebilir. Sitokrom P450 ile oksidasyona uğrayabildiği gibi fenol halkalar ile hikdroksilasyon da gerçekleşebilir. Sülfat ve glukuronid konjugatlarına dönüşebilir (Zhou ve ark., 2014). Glukuronidasyonun bağırsakta intestinal UGT (UGT1A10) enzimi ile en fazla gerçekleştiği çalışmalar sonucunda görülmüştür (Durcik ve ark., 2022).

2.3.7. Bisfenol F'nin İnsan Sağlığına Olan Etkileri

BPF çalışmaları yapısal benzerlik dolayısıyla BPA ile benzer bir etki aralığına sahip olduğunu göstermektedir (Rocha ve ark., 2016). ER'ye bağlanma potansiyeli araştırılmış olup, belirgin bir derecede afinite gösterdiği çalışmalar bulunmaktadır (Yamasaki, 2004). Bu araştırmalar sonucunda yine BPA'ya benzer şekilde BPF'nin de ROS oluşumu ile hücrelerde proliferasyonu tetiklediği ve çeşitli sinyal yolaklarını üzerinden lipit metabolizmasını etkileyebildiği görülmektedir. Aynı zamanda hücrelerde steriodogenezi etkilediğini belirten çalışmalar da mevcuttur (Rosenmai ve ark., 2014). Buna ek olarak, BPF'nin nörotoksistesinin zebra balıklarında değerlendirildiği bir çalışma bu maddenin nörotoksik potansiyelini göstermektedir (Gu ve ark., 2022). Yapılan çeşitli kanser araştırmaları BPF'nin de diğer EDC'ler gibi kanser gelişiminde bir rol alabileceğini ortaya koymaktadır (Edaes & de Souza, 2022).

Dişi üreme sistemi açısında BPF'de türevi olduğu BPA gibi östrojen reseptörleri ve hormonlara bağlı bir etki gösterir. Genel olarak bisfenollerin östrojenik etkileri çeşitli çalışmalarda ele alınmış olup, dişi üreme sistemi özelinde en çok kısırlık, doğum kusurları ve üreme sisteminde görülen çeşitli hastalık ve sorunlar ile ilişkilendirilmektedir (Drakaki ve ark., 2024; Głód, Smoleniec, ve ark., 2025). İnsan araştırmaları, idrar örneklerinde yüksek bisfenol türevlerine rastlanan kadınlarda yumurtalık fonksiyonlarında sorunlar ve erken doğum ile doğrusal bir ilişki olabileceğini düşündürtmektedir (Liang ve ark., 2021; N. Zhang ve ark., 2024).

Zebra balıklarında üreme özelliklerini değerlendiren bir çalışmada ise dişi üreme sisteminde çeşitli fonksiyonel ve gelişimsel hasarlara neden olduğu, prenatal maruziyetin ise tümör ve kanser gelişiminde etkili bir risk faktörü olabileceğini göstermektedir (Mu ve ark., 2022).

Memeli hücrelerinde uygulanan çalışmalarda bu sonuçları kanıtlar niteliktedir. Bir araştırma, dişi farelerden alınan yumurtaların BPF maruziyetine bırakılması sonucunda yumurtaların gelişimini bozabildiğini, oral uygulamada ise yumurtalıklarda gelişim bozukluklarına yol açtığı ve oksidatif stres ile birlikte DNA hasarına neden olduğu görülmektedir (Ding ve ark., 2022). Sıçanların kullanıldığı *in vivo* modellerde, yine prenatal BPF maruziyetinin ovulasyonda azalmaya neden olduğu görülür. Antral folikül hücrelerinde belirgin bir azalmanın gerçekleşmesi de yine başka bir çalışmada BPF uygulamasına bağlı olarak oluşmaktadır (Ijaz ve ark., 2020).Aynı zamanda hamile sıçanlarda yüksek miktarda oral BPF uygulamasının da düşük ve ölü doğum oranını arttırması, BPF'nin üreme sistemi sağlığına olan etkilerini gösterir niteliktedir (Kaimal ve ark., 2021).

Yine benzer şekilde sığır oositlerinin kullanıldığı bir başka çalışma, BPF maruziyeti sonucunda hücrelerde oksidatif stres mekanizmalarının tetiklediği belirtilmektedir (Nguyen ve ark., 2022). Aynı zamanda başka çalışmalar, sığır granüloza hücrelerinde BPA ve BPF'nin çeşitli yolaklar üzerinde apoptozu tetikleyebildiğini ve apoptozda yer alan proteinlerin ekspresyonunu arttırabileceğini göstermektedir (Kourmaeva ve ark., 2022). Bisfenol türevlerinin foliküler sıvıda tespit edildiğini gösteren çalışmalar bu hücrelere olan geçiş miktarlarını kanıtlar niteliktedir (Hoffmann-Dishon ve ark., 2024).

İnsan granüloza hücrelerine çeşitli bisfenol türevlerinin uygulandığı bir araştırmada ise, BPF ve diğer türevlerin progesteron ve östrodiol salınımını azalttığı ve hücre proliferasyonunu etkilediği görülmektedir (Lebachelier De La Riviere ve ark., 2023). İnsan yumurtalık tümör hücreleri olan KGN hücre hattında kullanılan BPF'nin, metabolik yolaklara olan etkileri incelenmiş olup granüloza hücrelerinde gerçekleşebilecek potansiyel fonksiyon bozukluklarında etkileri görülmektedir (Cheng ve ark., 2024). İnsan granüloza hücrelerinde oksidatif stres ve apoptoz tetiklenmesi ise yine BPF maruziyetine bağlı olarak gelişebilir. Ayrıca hücrelerde steroidogenezin de etkilenmesi, bu durumun bisfenol ve türevlerinin östrojen benzeri

etkilerine bağlı olarak değerlendirilmektedir (Głód, Marynowicz, ve ark., 2025; Iskandarani ve ark., 2025). Ancak BPF'nin toksisite potansiyelini tüm yönleriyle ele alan çalışmaların sayısı BPA'ya kıyasla yetersizdir. Bu nedenle daha ayrıntılı çalışmaların yapılması büyük önem taşır.

2.4. Oksidatif Stres

Hücreler enerji üretim süreçlerinde birçok reaksiyon gerçekleştirir. Hayatta kalmak için oksijene ihtiyacı olan aerobik canlılarda ise hücresel solunum ile enerji sağlanır. Oksidasyon reaksiyonları sayesinde hücre içerisine alınan besinden alınan elektronlar, yakalayıcı oksijen (O_2) ile tepkimeye girerek elektron taşıyıcı NAD ve FAD tarafından tutulurlar. Oluşan NADH ve FADH2 molekülleri yine O_2 tarafından redoks tepkimesine uğrar. Serbestleşen elektronlar, protonları mitokondri dışına pompalamak için kullanılır ve elektriksel yük farkı oluşur. Elde edilen enerji ile de ATP sentetaz tarafından ADP ve bir fosfat grubunu bağlanarak ATP üretimi sağlanmış olur (Agrawal & Mabalirajan, 2016; Halliwell & Gutteridge, 2015).

$$NADH+NADP+ \rightleftharpoons NADPH+NAD+$$

2.4.1. Reaktif Oksijen Türevleri ve Serbest Radikaller

Süreç işleyişinde bazen elektronların dengesiz özellik göstermeleri nedeniyle oksijneler ile eşleşememelerine ve yoğun bir aktivite gösterme yeteneğine sahip süperoksit anyonu (O_{2-}) moleküllerinin oluşumuna yol açar. O_{2-} molekülü sonrasında yine aynı derece yüksek aktiviteli diğer moleküllerin oluşumuna sebep olabilir. O_{2-} mitokondri içerisinde süperoksit dismutaz tarafından hidrojen peroksit (H_2O_2)'ye ayrıştırılır. H_2O_2 devamında redüksiyon tepkimesiyle hidroksi radikaline (OH-) veya katalaz enzimiyle suya dönüştürülür (Liochev & Fridovich, 1999). Bu tür oksijen türevi moleküller topluca reaktif oksijen türleri (ROS) olarak bilinir. Endojen ROS üretimi hücre içerisinde sıklıkla mitokondri ve endoplazmik retikulum gerçekleşir (Moldovan & Moldovan, 2004).

ROS tanımı oksijen radikallerini içerebileceği gibi ve HOCl, HOBr ve H_2O_2 benzeri radikal olmayan ancak radikal oluşumunda rol oynayan moleküller için de kullanılabilir (Halliwell & Whiteman, 2004). ROS dışında ayrıca reaktif nitrojen

bileşikleri denilen türevler de nitrik oksit (NO) molekülünün reaksiyonlarında köken almaktadır. Reaktif nitrit türevleri (RNS) terimi de NO, HNO_2 ve N2O4 gibi moleküleri içerir (Souza ve ark., 2001).

NO• +O• 2 → ONOO–(perooksinitrit)

Serbest radikaller, içerisinde bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron bulunan molekülerdir. Karasız bir yapıya sahip olup, tepkimelere çok yoğun afinite gösterirler. Eşleşmemiş elektronların bulunması serbest radikallerin paramanyetik olmasına yani bir manyetik alana çekilerek reaktif halde bulunmalarına yol açar. Kimyasal bağların yükseltgenme ve indirgenmesi ile kırılması sonucunda gerçekleşen oksidasyon, redüksiyon ve redoks reaksiyonları ile oluşurlar (Halliwell & Gutteridge, 2015).

X–e–→X•+(radikal katyon)
Y+e–→Y•–(rakidal anyon)

Aynı zamanda bir radikal molekülü yine reaksiyonlara maruz kalarak farklı diğer radikallere de dönüşebilir. Aşırı reaktif olmaları nedeniyle hücrede reaksiyonlara katılma eğilimleri yüksektir. Serbest radikaller arasında OH, O_2 ve H_2O_2 molekülleri gibi ROS'lar sayılabilir. Moleküllerde serbest bir radikalin radikal olmayan bir başkasıyla reaksiyona girmesi ile etki görülür. Gerçekleşen zincir tepkimesi, yeni bir radikalin oluşumuna yol açabilir. Bu durum sonucunda reaktif molekül sayısı artmış olur (Dröge, 2002).

X• +Y→X++Y•
X• +Y→[X–Y]•

2.4.2. Oksidatif Stresin Gelişimi

Oksidatif stres, ROS ve serbest radikaller ile gelişen oksidanlar ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik ile hücrede hasara yol açılması olarak tanımlanır (Sies, 1985). Bu hasar birçok nedenden dolayı gelişebilir. Ancak genel olarak bu durum ROS

bileşiklerinin detoksifikasyon mekanizmaları tarafından hasar verici etkilerinin engellenememesi dolayısıyla gelişir. ROS'ların fazla üretimi, antioksidanların azlığı ve mekanizmaların diğer nedenlere bağlı olarak bozulması, protein, lipit ve DNA gibi hücrenin yapıtaşlarında hasara neden olur. Oksidatif stres birçok fiziksel faktöre bağlı olarak gelişebilir. Kardiovasküler ve nörodejeneratif hastalıklar sebebi olabileceği gibi, hücresel dengeyi bozucu oluşumların tetiklenmesi de oksidatif stres gelişiminde rol oynayabilir (Steven ve ark., 2019; Teleanu ve ark., 2022).

2.4.3. Oksidatif Stresin Hücresel Etkileri

2.4.3.1. DNA Hasarı

Radikallerin hücre üzerine olan etkileri çeşitli fonksiyonların bozulması ile belli olur. Bunlardan biri de DNA hasarının gelişmesi ile görülen durumlardır. DNA hasarı, ROS haricinde birçok başka nedene bağlı olarak gelişebilir. Ancak serbest radikaller ve reaktif türler ile gelişen türüne oksidatif DNA hasarı adı verilmektedir (Breen & Murphy, 1995).

Reaktif moleküllerin DNA'ya ana hasarı genellikle bazlar ve deoksiriboz şekeri üzerinden görülür. Pürin ve pirimidin bazlarının modifikasyona uğraması veya bağların kırılması sonucunda DNA'nın yapısı bozulur (Dizdaroglu, 1992). Aynı zamanda bazların yanlış eşleşmesi, parçalanması, sıralarının bozulması gibi durumlarda gerçekleşebilir. Oksidasyona en çok maruz kalan baz ise guanindir. OH molekülünün guanine eklenmesi ile en bilinen baz hasarı 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG) görülür. En fazla oksidasyona uğrayan bazlardan olması nedeniyle özellikle idrar öçümleri ile DNA hasarının belirlenmesinde 8-OHdG seviyelerinden yararlanılır (Valavanidis ve ark., 2009).

DNA hasarı ise çeşitli mekanizmalar ile görülür. Genelde hasar gören DNA'nın replikasyonu kontrol mekanizmaları tarafından engellense de bazen gözden kaçabilir. Bu durumlarda hücreler hatalı olarak çoğalarak vücutta sorunlara neden olur. Mutasyonlara neden olan bu durumlar ROS'lardan özellikle OH ve O_2'nin bazlar üzerinden etki göstermesi ile oluşur. Mutasyonlar ise ne sık bazların yanlış eşleşmesi, nükleotidlerin yanlış çoğalması ve kırılmaların gerçekleşerek yanlış tamir edilmesi ile görülmektedir (Cooke ve ark., 2003).

Mitokondrial DNA'nın hasar görmesi birçok hastalığın çıkış noktası olarak belirtilebilir. Hücrede DNA hasarı ile tümör süpresör genler inaktive olabilir. Bu nedenle hatalı hücreler kontrol süreçleri tarafından belirlenemz ve apoptoza uğratılamaz. Benzer şekilde onkogenlerin aktivasyonu da gerçekleşerek bu süreçlerin hızlanmasına ve durdurulamamasına neden olur. Çeşitli kanser gelişimi gibi süreçler genellikle DNA'da meydana gelen hasar dolayısıyla gelişir (Jelic ve ark., 2021). Aynı zamanda diyabet, yaşlanma ve Alzeheimer gibi hastalıklar da DNA hasarı dolaylı görülebilmektedir (Darenskaya ve ark., 2021; Federico ve ark., 2012).

2.4.3.2. Lipit Peroksidasyonu

Lipitler hücrede ana yapıtaşı ve enerji kaynakları olarak rol alırlar. Hücre membranı içerisinde bulunana lipitler, bir bariyer oluşturarak hücreye seçici geçirgenlik ve polarite sağlar. Membran lipitlerinin yapısal bütünlüğünün korunması hücrenin fonksiyonel olarak işlevini devam ettirebilmesi nedeniyle önem taşımaktadır. Lipitler aynı zamanda enzimler tarafından sinyaller için aracı moleküller olarak da kullanılmaktadır. Bunlardan en bilinenleri sitokrom p-450 bulunur(Vance & Vance, 2008).

Oksidatif stres hasarı kendisini membran lipitlerini etkileyerek gösterir. ROS bileşikleri, lipidlerde reaksiyona girerek okside olmasına lipit peroksidasyonu denir. Oksidan moleküler özellikle çoklu doymamış yağ asitleri (PUFA) üzerinden elektron koparark membran fosfolipitlerinin bütünlüğünü bozar. Gerçekleşen zincir reaksiyon sonucunda radikaller lipit hidroperoksit (LOOH) oluşturur (Dmitriev, 2001).

Oluşan LOOH reaksiyonu sonlandırıcı metal iyonlarının yokluğunda daha fazla radikal üretimine yol açar. Lipit peroksidasyonu sonucunda membran yapısal bütünlüğü bozulabilir. Membran potansiyelinin düşmesi, proton iyonlarının geçirgenliğinin artması ve hücre organel ve lizozomal enzimlerin dışarı kaçması hücrenin sürdürülebilirliğini tehlikeye sokar. Çoğu kez apoptoz ile hatalı hücrenin devamlılığı sonlandırılır (Fang ve ark., 2002).

Lipit peroksidasyonu sırasında oluşan reaksiyon ürünleri önemlidir. Lipit hidroperoksitlerin yıkımı sonucunda oluşan aldehit türevleri, oldukça reaktif özellik taşır. Aralarından en çok 4-Hidroksi-2-nonenal (HNE) ve malondialdehit (MDA)

bilinmekted olup, ayrışmaları sitotoksik ve hepatotoksik özellikliklidir (Esterbauer ve ark., 1991). Özellikle lipit peroksidasyonu sonucu en fazla üretilen MDA, hücresel düzeyde birçok soruna neden olabilen bir aldehit olarak geçmektedir. Hücre membranlarında iyon geçirgenliğinin bozulması ile birlikte enzim aktivitesin etkilenmesi ve devamında gelişen DNA hasarı MDA seviyelerinin artışı ile görülür. Tiyobarbitürik asit (TBA) kullanılarak MDA seviyelerin belirlenmesi lipit peroksidasyon düzeylerinin ölçülmesinde kullanılan en yaygın analizlerden biri olarak geçmektedir (Halliwell & Chirico, 1993).

2.4.4. Antioksidan Savunma Sistemi

Hücrelerde reaktif moleküllerin ve serbest radikallerin etkilerini önlemek veya azaltmak ile görevli mekanizmalar bulunur. Bu mekanizmalar ya DNA tamirinde olduğu gibi bozulan fonksiyonları düzelterek ya da reaktif molekülleri bağlayarak etkilerini önleyerek işlev gösterirler. Antioksidanlar da bu işle görevli, oksidasyonu geciktiren ya da inhibe eden moleküllerdir. Reaktif molekülleri katalize edebilir, oluşumlarını protein formasyonlarını bozarak engelleyebilir, kendilerine bağlayarak başka molekül ve yapılarla reaksiyon vermelerini önleyebilirler (Sies, 1997).

Vücutta sentezlenerek üretilen endojen antioksidanlar olduğu gibi dışarıdan farklı yollarla alınan ekzojen antioksidanlar da bulunmaktadır. Endojen antioksidanlar, yapılarına göre sınıflandırılabilir.

İki sınıfa ayrılan endojen antioksidanlar ilki enzimatik antioksidanlardır. Enzimatik antioksidanlar ROS ve serbest radikaller gibi moleküllerle reaksiyona girerek diğer molekülere bağlanmalarını, parçalanarak diğer formlara dönüşmelerini ve yeni radikaller oluşturmalarını engellerler (Karihtala & Soini, 2007; Sies, 1997). Böylelikle DNA, lipit ve protein gibi yapılara olan hasarı önleyerek fonksiyonlardaki bozulmaların önüne geçmiş olurlar. Enzimatik antioksidanlar arasında katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon peroksidaz (GPx) gibi çeşitli enzimler sayılabilir. Diğer sınıf olan enzimatik olmayan/non enzimatik antioksidanlar arasında ise askorbik asit (C vitamini), α tokoferol (E vitamini), GSH gibi koenzimler, karotenoidler ve flavonoidler sayılabilir. Non enzimatik olan antioksidanlar ise radikalleri bağlayarak ve yakalayarak reaksiyonları engellemek şeklinde görevlerini gerçekleştirir (Jones, 2006).

2.4.4.1. Süperoksit Dismuztaz

Süperoksit dismutaz, süperoksit radikalinin (O_{2}-) H_2O_2 ve moleküler oksijene ayrışmasını katalizleyen bir antioksidan enzimdir. SOD insanlarda, sırasıyla ekstraselüler, sitozolik ve mitokondriyel olarak bulunan süperoksit dismutaz (ECSOD), bakır çinko süperoksit dismutaz (CuZnSOD) ve mangan süperoksit dismutaz (MnSOD) olarak üç ayrı formda görülür (Landis & Tower, 2005). Metal iyonları aktif bölgelere bağlı olarak bulunur. İnsan hücrelerinde ise içlerinden en çok CuZnSOD bulunduğu bilinmektedir ECSOD ekstraselüler düzeyde O_{2}-'leri etkileyebilmesi nedeniyle oldukça önemlidir (Ku ve ark., 1993). SOD'lar ile radikallerden oluşturulan H_2O_2 molekülü bir başka antioksidan olan katalaz ve glutatyon peroksidaz ile suya indirgenerek etki gösterir. CuZnSOD'un kromozom bölgesinde görülmesi nedeniyle seviyelerindeki artış, Down sendromunda belirteç olarak kullanılabilir (Kurobe ve ark., 1990).

2.4.4.2. Glutatyon Peroksidaz

Glutatyon peroksidaz (GPx), H_2O_2 ve lipit peroksiti hücrelerde su ve lipit alkole indirgeyen antioksidan enzimdir. Aynı zamanda GPx, hemoglobin oksidasyonu ve hemolizde rol oynayan bir enzim olarak da rol alır (Maddipati & Marnett, 1987). Aktif bölgesinde kovalan bağlı selenosistein içeren bu enzim hidroperoksit ve H_2O_2'e karşı yıkımı GSH oksidasyonu ile gerçekleştirir. GSH ile birlikte reaksiyon gerçekleştirerek GSH okside eder ve glutatyon disülfit (GSSG) oluşumu ile hücre içi redoks düzenler (Handy ve ark., 2009).

2.4.4.3. Katalaz

Katalaz (CAT), özellikle aerobik hücrelerde bulunan önemli bir enzimdir (Imlay, 2003). Başlıca karaciğer, eritrosit ve böbrekte bulunur. Elektron donörü olarak kullanıldığı H_2O_2'in H_2O ve O_2'e yıkımını katalizleyen CAT, hücre içerisinde en sık peroksizomlarda görülür. Özellikle eritrositlerin oksidatif hasarının engellenmesinde rol alır. Ayrıca aktif bölgesinde dört adet ferrihem (Fe3+) olan bir hemoproteindir (Mueller ve ark., 1997). İçerisinde Hem grubu bulunan katalazlar dışında Mn bulunduran katalazlar ve katalaz peroksidazlar olarak farklı gruplara da ayrılabilirler (Sharma ve ark., 1989). Peroksidaz katalazlar hidrojen veren moleküller ile

reaksiyona girerek işlev gösterir. Genellikle düşük H_2O_2 seviyelerinde peroksidaz özellikleri görülür. Mn katalazlar ise daha az bulunur. Ayrıca vücutta CAT enzimi eksikliği ile Japonya ve İsviçre bölgelerinde daha sık görülen akatalazya adlı otozomal resesif bir hastalık bulunmaktadır (Nandi ve ark., 2019).

$2\ H_2O_2 \rightarrow 2\ H_2O + O_2$

2.4.4.4. Glutatyon

Glutatyon (L-gama-glutamil-L-sisteinil-glisin) (GSH) birçok canlıda bulunan ve önem taşıyan bir peptid molekülüdür. Bir tripeptid olan glutatyon, L-glutamik asit, L-sistein ve glisinden oluşur. Yapısındaki γ-glutamik asit sayesinde peptidazlar tarafından parçalanması zorlaşır. İnsan vücudunda 1-10 mM arasında bulunur. Başlıca karaciğer hücrelerinde bulunur ve aktivite gösterir. Sağlıklı hücrelerede tiyollerin %90'ından fazlasını GSH oluşturur (Lu, 2013).

Serbest radikaller ile reaksiyona giren Glutatyon, oksidatif hasar karşısında hücreleri korur. Redoks mekanizması ile sisteinin tiyol grubu ROS moleküllerini redükler. Redüksiyon sonucunda iki reaktif GSH birleşir ve glutatyon disülfit (GSSG) oluşur. GSSG sonrasında glutatyon redüktaz ile (GR) tekrar redüklenerek GHS'a dönüşebilir (Iwata ve ark., 1997). Oksidatif stresin aşırı artması durumunda hücrelerde GSSG'yi GSH'a indirgeme özelliği azalır. Bu durumda akümüle olan GSSG ile birlikte GSH seviyeleri ölüçülerek hücredeki oksidatif stresin boyutu değerlendirilebilir. Bu nedenle GSH/GSSG oranı önemli bir oksidatif stres göstergesidir (Forman & Dickinson, 2003).

Aynı zamanda GSH, GPx ve glutatyon s-transferaz (GST) gibi enzimlerin kofaktörü oalrak da görev alır. GSH, GPx ile H_2O_2 ve lipit peroksit detoksifikasyonunda rol alarak, elektron vererek H_2O_2'nin H_2O ve O_2 dönüşünü gerçekleştirir. Oluşan GSSG ise NAD(P)H kullanılarak tekrardan indirgenir ve oluşan GSH ile lipit membranı korunur (Masella ve ark., 2005). Ayrıca protein sülfhidrilini (-SH) redükleyerek oksidasyona karşı korur. Buna ek olarak vitamin C ve E gibi nonenzimatik antioksidanları aktifleştirebilir ve sinyal yolakları üzerinden hücreleri apoptozdan korur (Smirnoff, 2000).

Vücuttaki GSH oranları dış faktörlerden etkilenebilir. Yaşlanma, sigara ve alkol tüketimi, radyasyon maruziyeti, stres, beslenme sorunları ve çevresel kimyasal maddeler gibi etkenler GHS seviyelerinin azalmasına neden olur. Bunun sonucunda ise insan bağışıklık yetmezlikleri, akciğer sorunları, nörodejeneratif hastalıklar ve kanser gibi birçok hastalık görülebilir (Wu ve ark., 2004).

2.5. Kersetin

Bitkisel ürünlerin içeriğinde doğal olarak bulunan birçok kimyasal madde vardır. Bu bileşiklerin etkileri yapılarına, bitkide bulundukları bölgeye ve çevresel etkenlere bağlı olarak değişkenlik gösterebilir. Bitkilerin içerisinde bulunan bu kimyasal maddelerden en bilinenlerinden biri de polifenollerdir. Genellikle antioksidan özellikli oldukları bilinen polifenollerin kimyasal yapıları aromatik halkalara bağlanan OH grupları şeklinde görülür. Bu fenollere bağlı diğer gruplara bakılarak 4 alt sınıfa ayrılabilirler. Flavonoidler, lignanlar, stilbenler ve fenolik asitler olarak sınıflandırılan polifenoller özellikle sebze ve meyvelerin içeriğinde yoğun olarak bulunur ve diyet ile insan vücuduna alınır (Pandey & Rizvi, 2009).

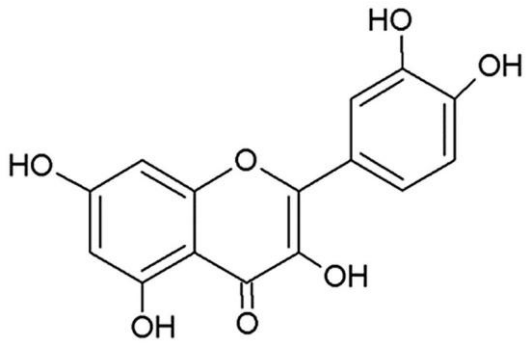
Polifenol bileşikler bitkiler tarafından çeşitli görevler için üretilirler. Ancak günlük olarak tükettiğimiz gıdaların içerisinde yoğun bulunmalarından ötürü insan vücudunda benzer bir etki potansiyeli gösterdikleri bilinmektedir (X. Han ve ark., 2007). En fazla bilinen antioksidan özellikleri haricinde diyet polifenollerinin insan vücudunda antiinflamatuar, lipit profili etkileyici, metabolizma düzenleyici etkileri olduğu yıllar içerisinde gerçekleştirilen çeşitli çalışmalar sonucunda görülmüştür. Çalışmalarda polifenol içerikli bitkilerin kullanımının ağırlıklı olduğu Akdeniz bölgesi yemeklerinin tüketimin metabolik rahatsızlıklar ve kardiovasküler hastalıklar gibi sorunların gelişimini azalttığı görülmektedir (Cory ve ark., 2018). Bu hastalıklar haricinde polifenollerin antioksidan mekanizmalarını etkilemesine bağlı olarak kanser gelişimini azalttığı yönünde yapılan çalışmalar da oldukça büyük öneme sahiptir. Özellikle tümör gelişimi açısından olan etkileri hakkında birçok çalışma yapılmıştır ve halen yapılmaktadır (Di Lorenzo ve ark., 2021; Leri ve ark., 2020).

Polifenollerin alt grubu olan flavonoidler de benzer bir etki potansiyeli sahiptir. Kimyasal yapıları iki fenil halkası ve 15 karbondan oluşan flavanoidler bitkilerde renk için pigment oluşumunda, UV ışınlardan korunmada ve hücresel

mekanizmaların kontrolünde görev alır. İnsan vücuduna olan etkileri bol bulundukları meyve, sebze, çay gibi gıdaların tüketilmesi ile alınan diyet flavonidler ile gerçekleşir (Havsteen, 2002). İzoflavonoidler, flavonlar, kalkonlar, flavanonlar ve flavanollar gibi alt grupları bulunur. Farklı gıdalarda farklı yoğunluklarda bulunan flavanoid türlerinde flavanollar genellikle çay ve soğan gibi bitkilerde bulunurken, flavanonlar turunçgiller içerisinde daha çok bulunabilmektedir. Bu durum her türe ait etkilerin derecelerinin de farklı olmasını beraberinde getirir. Günümüzde flavanoidler birçok takviye gıda ürünü, kozmetik ürün ve farmasötik ürün içerisinde bulunabilmektedir. Özellikle antioksidan ve antiinflamatuar etkileri nedeniyle hücresel fonksiyonları düzenledikleri gibi siklooksijenaz (COX) gibi enzimleri inhibe etmeleri yönünden oldukça faydalı bulundukları çalışmalar sonucunda görülmüştür (Gadhwal ve ark., 2011).

2.5.1. Kersetinin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Kersetin (3, 3', 4', 5, 7-pentahidroksiflavanon), flavonidlerin keton içeren flavanol grubuna ait bir bileşiktir. Kimyasal yapısında üç benzen halkası ve beş hidroksil grubu içeren kersetin soğan, lahana, domates, çay gibi meyve ve sebzelerde bol miktarlarda bulunur ve antioksidan özellikleri yönünden oldukça zengindir. Günlük tüketilen yiyecek miktarına bağlı olarak günlük alımı 50- 800 mg arasında olarak belirlenmiştir (Y. Li ve ark., 2016). Suda çözünürlüğü az olan kersetin acı bir tada sahip sarı bir maddedir. Metabolizması bağırsak ve karaciğer de gerçekleşme birlikte en fazla bağırsaktan emilerek vücut içerisinde etki gösterir (Batiha ve ark., 2020).



Şekil 2.5. Kersetinin Kimyasal Yapısı

Yapısında karbonhidrat içermemesinde dolayı aglikon olarak adlandırılır. Kersetinin en bilinen özelliği hücre içerisinde çeşitli nedenler sonucunda oluşan ve yapısal hasarı tetikleyebilen serbest radikalleri engelleyebilmesidir. Özellikle diğer antioksidan yeteneğine sahip flavanoid bileşikleri ile birlikte kullanıldığında kersetinin hidroksil, süperoksit ve hidrojen peroksit radikallerinin olumsuz etkilerini engellemekte oldukça iyi olduğu görülmektedir (Priyanga K & K, 2017).

Aynı zamanda alerjik reaksiyonların inhibisyonunda, diyebetik ve kardiyovasküler rahatsızlıkların giderilmesinde ve en önemlisi kanser gelişiminin azaltılmasında da rol almaktadır (Delgado ve ark., 2014). Kersetin tedavisin etkinliğinin değerlendirildiği kanser araştırmaları arasında meme, akciğer, prostat ve karaciğer kanserleri bulunmaktadır. Özellikle çeşitli sinyal yolakları, hücre reseptörleri ve oksidatif stres mekanizmaları üzerinden proliferasyonu engellediği ve apoptozu tetiklediği yönünde çalışmalar mevcuttur (Mirza-Aghazadeh-Attari ve ark., 2020). Akciğer kanseri hücreleri çalışmalarında kersetinin uygulaması sonucunda kanser gelişimi yavaşladığı bilinmektedir (Klimaszewska-Wiśniewska ve ark., 2017). Bunların haricinde özellikle erkek sıçanlarda gerçekleştiren araştırmalarda anti östrojenik aktivite gösterdiği ve testosteron miktarında artışa neden olduğu görülmüştür (Jahan ve ark., 2016).

Genel olarak tedavisinin etkisinin araştırıldığı hastalıklarda kersetinin olumlu sonuç verdiği görülür. Nörodejeneratif gelişim gösteren Alzheimer gibi hastalıklarda da kersetin ve benzeri bileşiklerin kullanımın hastalığın ilerlemesini engellediği yönünde hipotezler ortaya sunulmuştur. İnsan nöral SH-SY5Y hücrelerinin kullanıldığı bir çalışmada kersetinin H_2O_2 kaynaklı sitotoksisteyi azalttığı görülmüştür (Suematsu ve ark., 2011). Oksidatif stres çalışmalarında ise lipit peroksidasyonunun önüne geçerek serbest radikallerinin etkilerini azalmasına neden olduğu belirtilmektedir (Shi ve ark., 2019). Fare makrofaj hücre modellinde yapılan bir çalışmaya göre de COX ve prostaglandin E2 (PGE2) aktivitesini baskılayarak antiinflamatuar etkiyi inhibe edebilmektedir. (Hou ve ark., 2007).

2.5.2. Kersetin ve Bisfenol A Çalışmaları

Kersetin özelinde yapılan çalışmalardan biri de BPA'nın neden olduğu hasar üzerinedir. Antioksidan özellikleri ile BPA'nın canlı hücrelerinde sebep olabileceği

oksidatif streste etkisini araştıran birçok çalışma mevcuttur (Sirasanagandla ve ark., 2022). Sağlıklı bireylerden kan örnekleri toplanarak insan eritrositlerinin kullanıldığı bir araştırmada, BPA'nın lipit peroksidasyonu gerçekleştirdiği ve SOD, CAT, GPx, aktivitesi gibi parametrelerin değerlerini azalttığı görülmektedir. BPA ile birlikte kersetin uygulandığında ise antioksidan etkileri sayesinde değerlerde iyileşme görülmektedir (Sangai ve ark., 2018). HT-29 kolon kanseri hücrelerinin kullanıldığı bir çalışmada ise, antioksidan etkileri ile proliferasyonu azaltan bir etki gösteren kersetinin aynı zamanda östrojenik etkileriyle kanser hücrelerini tetikleyen BPA varlığında da kanser hücrelerinde inhibitör bir etki gerçekleştirmektedir (García-Gutiérrez ve ark., 2023).

Çalışmalardan *in vivo* olanlarda ise BPA ile çeşitli hücrelerde hasarların tetiklenmesi gerçekleştirilmiştir. Araştırmalar, deneylerde kullanılan sıçanlarda hepatotoksisite ve nefrotoksisiteyi değerlendirmiş olup, oksidatif strese bağlı gelişen bir mitokondrial hasar göstermektedir. Hücrelerde artan oksidatif stres parametreleri, hücrelerde morfolojik ve fonksiyonel bozulmaya neden olmakla birlikte, BPA'ya ek olarak kersetin uygulanan gruplarda koruyucu bir etki göstermektedir (Mahdavinia ve ark., 2019; Sangai ve ark., 2014). Benzer şekilde böbrek mitokondriyel hasarının değerlendiren çalışmalar koruyucu olarak verilen ön kersetin uygulaması ROS seviyelerini azaltıcı ve GSH seviyelerini arttırıcı etki göstermektedir. Ayrıca buna bağlı olarak diğer oksidatif stres belirteçlerinin azalarak daha az hasara neden olmasına olanak da sağlamaktadır (Shirani ve ark., 2019). BPF ile gerçekleştirilen araştırmalar, BPA'ya kıyasla azdır. Ancak BPF'nin etkilerini düzeltmek amacıyla koruyucu olarak kersetinin ele alındığı bazı çalışmalarda da benzer bir etki prolifili görülebilir. İnstestinal toksisitenin zebra balıklarında araştırıldığı bir çalışmada, BPF sonucunda oluşan toksisitenin, düşük doz kersetin uygulanmış gruplarda daha az görüldüğü ve bisfenol gruplarındaki davranışsal anormalliklere sahip olmadıkları görülmektedir (Jain ve ark., 2024).

BPA'nın özellikle üreme sistemlerine olan etkisi ile bilinen bir madde olması dolayısıyla bu alanda da kersetin uygulamalarının iyileştirici etkisi araştırılmıştır. Erkek sıçanlarda testis özelliklerinin değerlendirildiği çalışmalarda BPA ve kersetin uygulanmış deneklerde serum testosteron seviyeleri daha yüksektir ve sadece BPA uygulanmış sıçanlara göre daha az hasar görülmektedir (Jahan ve ark., 2016; Samova

ve ark., 2018). Dişi sıçanlarda ise genellikle yumurtalık ve rahim özellikleri değerlendirilmektedir. Bu yönden yapılan çalışmalarda, BPA oksidatif hasarına bağlı olarak bozulan değerlerin, etkili miktarlarda kersetin verilen gruplarda düzeldiği ve kersetinin iyileştirici bir özelliğe sahip olduğu belirtilmektedir (Fadlalla, 2022; Koçak, 2023)

2.5.3. Kersetin ve Yumurtalık Üzerine Olan Etkileri

Kersetin anti inflamatuar, anti kanser ve antioksidan özellikleriyle dişi üreme sistemi üzerinde oluşan sorunları düzeltici etkiler gerçekleştirebilir (Jian ve ark., 2024). Yumurtalıklardaki etkisi ise bu bölgede sık görülen rahatsızlıklarda iyileştirici potansiyeli ile belli olmaktadır (Naseer ve ark., 2017). Endometriozis kronik inflamasyonla gelişen bir hastalık olması dolayısıyla kersetinin bu durum üzerine olan etkileri anti inflamatuar özellikleri göz önüne alındığında belirgin bir şekilde görülebilir. Yapılan bir çalışma, endometriozis gelişimi tetiklenmiş olan sıçanlarda kersetin ve metformin uygulamasının östrodiol seviyelerini azalttığı ve anti inflamatuar bir etkinlik oluşturarak hastalığın gidişatını iyileştirdiğini göstermektedir (Jamali ve ark., 2021). Bir diğer çalışma ise FSH ve LH seviyelerini düşürerek endometrial tabaka gelişimini azaltması yönünden etkinliğini savunmaktadır (Cao ve ark., 2014). Kersetinin endometrial hücrelerde özellikle AKT ve ERK1/2 yolakları ile etkinliklerini gerçekleştirdikleri çalışmalar sonucunda düşünülmektedir (Delenko ve ark., 2024).

PCOS, yumurtalıklarda kistlerin gelişmesi ile tanımlana bir hastalıktır. Kersetinin çeşitli çalışmalarda yumurtalık hücrelerinin gelişimini östrojenik aktivitesi sayesinde etkileyebileceği görülmektedir. Kersetinin PCOS hastalarına olan etkisi farklı çalışma gruplarında ele alınmıştır (Ma ve ark., 2022). İn vitro çalışmalarda kullanılan granüloza hücrelerinde oksidatif özellikleri düzelttiği ve toksik maddelerin varlığında sağlıklı hücrelerin apoptozunu engellediği görülmektedir. Bir çalışmada hidrojen peroksit uygulamasına maruz bırakılmış insan granüloza hücrelerinde oksidatif stres mekanizmalarını engellediği ve ROS'un etkilerinden koruyucu bir rol üstlenebileceği görülmektedir (Rashidi ve ark., 2019).

Hayvan modellerinde *in vivo* olarak PCOS hastalığına sahip hayvanlar kullanılmış ve kersetinin hastalığın iyileşmesi veya hormon dengesinin düzenlenmesindeki etkileri

ölçülmüştür. Araştırmalardaki sıçan modellerine uygulanan kersetinin, ovulasyon ve yumurta gelişim süreçlerinde iyileştirici bir etkisinin görüldüğünü ve bu nedenler hormonal ve metabolik denge için kullanılabileceğini görülmektedir (Jafari Khorchani ve ark., 2020; Zheng ve ark., 2022). Fare modellerinde de benzer bir şekilde progesteron, FSH ve LH seviyelerini etkileyerek mitokondrial oksidatif stresi azalttığı görülür (Y. Chen ve ark., 2022). Özellikle PCOS'un neden olduğu kısırlığı olumlu yönde etkileyici bir sonuç gösterdiği ve yumurtalık hücrelerinde morfolojik olarak iyileşmeler görülmesinde etkili olduğu da söylenebilmektedir (Shah ve ark., 2023). İnsan araştırmalarında ise, 40 gün boyunca kersetin kullanan kadınların serum hormon seviyeleri ölçülmüş olup sıçan modellerine benzer şekilde düşük FHS ve LH seviyeleri olduğu görülmekte ve aynı zamanda, yumurta kalitesinde de kersetin kullanımına bağlı olarak bir artış olduğu düşünülmektedir (Vaez ve ark., 2023). Kersetinin hücreler üzerindeki olumlu etkilerine ek olarak uygulamasının PCOS'ta sıklıkla görülen hiperandrojenik özellikleri azalttığı ve kist oluşumunu engellediğini gösteren hayvan çalışmaları da bulunmaktadır (Mahmoud ve ark., 2022). Özellikle gelişim sürecinde etkili olan ve semptom olarak da görülen insülin direncini antioksidan mekanizmaların düzenlemesi açısından da kersetinin tedavi edici yönü hakkında bir sonuca varılabilir (Khorshidi ve ark., 2018).

Çeşitli mekanizmalar üzerinden gelişimi tetiklenen yumurtalık kanseri tedavisinde de kersetin kullanımı araştırılmıştır (Salehi ve ark., 2020). Antioksidan özelliklerinin kanser mekanizmalarını düzenleyici olduğu bilinen kersetin bu duruma bağlı olarak gelişen DNA hasarı, lipit dengesizliği ve apoptoz süreçlerinde düzenleyici bir rol oynayabilir (Shafabakhsh & Asemi, 2019). Farelerde gerçekleştirilen çalışmalarda kersetinin yumurtalık kanseri hücrelerinde p-STAT3/Bcl-2 ekseni üzerinden ER stresi oluşturarak mitokontridyal apoptozu tetiklediği görülmektedir. Ayrıca ROS üretimi ve membran potansiyelinin azalması mekanizmalarında da rol alan kersetin, kanser hücrelerinde otofajiyi de indükleyerek kanser sürecinde koruyucu bir rol üstlenebilir (Liu ve ark., 2017).

Başka araştırmalar da bu kanıyı savunur niteliktedir. Özellikle Bcl-2 ve Bcl-xl gibi anti apoptoz işlevi olan genlerin ekspresyonunu kanserli hücrelerde azaltırken, kaspaz-3 ve kaspaz-9 gibi apoptozun oluşumunu gerçekleştiren proteinlerin ekspresyonunu indükler (Teekaraman ve ark., 2019). Bunlara ek olarak kersetinin,

antioksidan özellikleri dahilinde antioksidan enzimleri ve PI3K/Akt/mTOR sinyal yolaklarını etkileyerek kanser hücrelerinin büyümesini inhibe ettiği de görülmektedir (Dhanaraj ve ark., 2021). Bazı çalışmalar ise kersetinin hücre döngüsü üzerine olan etkilerini araştırmış olup, hücre döngüsünde G1/S fazlarında siklin D1 ekspresyonunu azalttığını göstermektedir. Özellikle tümör nekroz faktörü ile ilişkili apoptoz indükleyen ligand (TRAIL) indükleyerek, apoptoza yol açtığı ve kanser hücrelerinin gelişimlerini etkilediği ve hatta durduğu yönünde çalışmalar bulunmaktadır (Yi ve ark., 2014). Aynı zamanda yumurtalık kanseri tedavisinde kullanılan ilaçlara karşı oluşan direncin giderilmesi için de kersetin uygulamalarında yararlanılabilir. Apoptozu tetikleyici mekanizmalara olan etkisi sayesinde ilaç etkilerini olumlu yönde arttırıcı özellik gösterdiği görülmektedir (Gong ve ark., 2017).

Yumurtalık hücre hattı modellerinde kersetinin etkileri araştırılmış olup, benzer etkinlikler görülmektedir. Bu hatlardan biri olan PA-1 hücrelerinde gerçekleştirilen çalışmalarda, kersetinin, PI3k/Akt ve epidermal büyüme faktörü reseptörü (EGFR) ekspresyonlarını etkileyerek olumlu etkilere sebep olduğu görülmektedir. Ayrıca bu hücrelerde doza bağlı olarak hücre canlılığını azalttığı ve apoptoz mekanizmalarını tetiklediği yine çalışmalarda gösterilmiştir (Dhanaraj ve ark., 2021; Teekaraman ve ark., 2019). Bir başka yumurtalık hücresi hattı olan SKOV-3 hücrelerinde ise yine doza bağlı olarak proliferasyonu etkilediği ve hücre döngüsünün durmasını tetikleyerek kanserli hücrelerde gelişimini azalttığı görülebilir (Ren ve ark., 2015).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Kullanılan Araç ve Gereçler

Bilgisayar	Dell
Buzdolabı	Arçelik
İnkübatör (CO_2'li)	Phcbi Mco-170aıcuv
Çok Kanallı Mikropipet (20-200 µl)	Labmate Pro Lmp8-300
Derin dondurucu (-20°C)	Arçelik
Derin dondurucu (-80°C)	DF 490 Nuve
Hassas terazi	Radwag Wagi Elektroniczne As 220.R2
Distile su cihazı	Mdö Water Purifier Systems Md1160107(M)-4
Epondorf tüpü(1,5 ve 2 ml Kapaklı)	Greiner
Hücre kültür flaskları (75 cm2)	Greiner Cellstar
Thoma Hücre Sayım lamı	Marienfeld
Homojenizatör	IKA ULTRA Turrax T18
Kuyucuklu mikroplak	Greiner Bio-One
Kryo tüp	Greiner Bio-One
Laboratuvar Tipi Kırık Buz Yapma Cihazı	Gentek
Thoma Hücre Sayım Lamı	Marienfeld
Mikrobiyolojik Güvenlik Kabini	Nuve MN120
Mikropipet uçları (10,100, 200,1000 µl)	GBO Sapphire Pipette
Mikropipet (0,5-10 µl, 2-20 µl, 10-100 µl, 100-1000 µl)	Greiner Bio-One
Mikroplak Okuyucu	Biotek Gen5 Synergy
Mikrosantrifüj cihazı (Soğutmalı santrifüj)	NF 800R Nüve
Mikroskop	Leica MC170 HD
Otomatik pipet ucu (200 ml)	Boen
Steril serolojik Pipet (10, 20 ml)	ABT Laboratory Industry
Pipet controller	Ht Lab Sollutions
Santrifüj tüpü (15ml-50 ml)	Greiner

Su banyosu	Nükleon Instruments
Vorteks	D Lab Mx-S
Yatay (Orbital) çalkalayıcı	Finepcr BAE07-H300

3.2. Kullanılan Kimyasal Maddeler

3-(4,5-dimetiltiyazol- 2- il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT)	Biotium
Fetal Sığır Serumu (FBS)	Capricorn
Dimetil sülfoksit (DMSO)	Merck
Bisfenol A (BPA)	Sigma-Aldrich
Bisfenol F (BPF)	Sigma-Aldrich
Kersetin	Sigma-Aldrich
Dulbecco's Modified Eagle Medium F-12 (DMEM F-12)	Capricorn
Dulbecco’s Fosfat Tamponlu Salin Çözeltisi (D-PBS)	Biowest
Etanol	Isolab
Penisilin- Streptomisin	Capricorn
Tripsin EDTA çözeltisi	Capricorn
Florometrik Hücre İçi Reaktif Oksijen Türleri (ROS) Kiti	Sigma-Aldrich
Protein Miktar Tayini (BCA) Kiti	Cayman Chemical
Hücre Lizis Reaktifi (ProtinEx^{TM})	GeneAll
Glutatyon Kiti	Elabscience
Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri (TBARS) Kiti	Elabscience

3.3. Çalışmada Kullanılan Hücre Hattı

Bu çalışmada Çin hamster yumurtalık hücresi (CHO) kullanılmıştır. CHO hücre hattı Yeditepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Farmasötik Toksikoloji laboratuvarı tarafından laboratuvarımıza hediye edilmiştir. Hücreler, 1957’de dişi bir Çin hamsterinden elde edilmiş olan adherent yapıda yumurtalık epitelyal hücreleridir. CHO hücreleri, genetik olarak stabil genetik olarak stabil, kolay kültüre edilebilen ve insan benzeri protein üretimi yapabilen bir memeli hücresi modeldir. Kimyasal

maddelerin hücre canlılığı üzerindeki etkilerini değerlendirmek için uygun olamsı nedeniyle sitotoksisite ve toksikoloji çalışmalarında yaygın olarak kullanılmaktadır. Aynı zamanda hayvan deneylerine etik açıdan bir alternatif oluşturması yönüyle de ön tarama modeli olarak bilimsel araştırmalarda önemli bir yer tutmaktadır.

3.4. Hücre Kültürü İçin Kullanılan Besiyeri ve Hazırlanması

Çalışmada kullanılan hücre kültürü için besiyeri olarak Dulbecco's Modified Eagle Medium F-12 (DMEM F-12) kullanılmıştır. Bu ortam, 500 ml DMEM F-12 içerisinde 50 ml %10'luk fetal sığır serumu (FBS) ve 5 ml %1'lik penisilin/streptomisin eklenerek hazırlanmıştır. Hazırlanan besiyeri, +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.5. Deneylerde Kullanılan Çözeltilerin Hazırlanması

3.5.1. Bisfenol A Stok Çözeltisi

Hassas terazide 22,8 mg BPA tartılarak 1 ml DMSO içerisinde ana stok hazırlanmıştır. Çözelti, besiyeri ile seyreltilerek son konsantrasyon %0,1 DMSO olacak şekilde ara stoklar hazırlanarak kullanılmıştır. BPA için hücrelere uygulanacak konsantrasyonlar 5, 10, 25, 50, 75, 150, 300, 500 µM'dır.

3.5.2. Bisfenol F Stok Çözeltisi

Hassas terazide 20 mg BPF tartılarak 1 ml DMSO içerisinde ana stok hazırlanmıştır. Çözelti, besiyeri ile seyreltilerek son konsantrasyon %0,1 DMSO olacak şekilde ara stoklar hazırlanarak kullanılmıştır. BPF için hücrelere uygulanacak konsantrasyonlar 5, 10, 25, 50, 75, 150, 300, 500 µM'dır.

3.5.3. Kersetin Stok Çözeltisi

Hassas terazide 6 mg kersetin tartılarak 1 ml DMSO içerisinde ana stok hazırlanmıştır. Çözelti, besiyeri ile seyreltilerek son konsantrasyon %0,1 DMSO olacak şekilde ara stoklar hazırlanarak kullanılmıştır. Kersetin için hücrelere uygulanacak konsantrasyonlar 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 800 µM''dır.

3.5.4. MTT Yöntemi ile Sitotoksisite Belirlenmesinde Kullanılan Çözeltiler

Dimetil Sülfoksit (DMSO)

Madde, 1,1 g/ml yoğunluğa sahip uçucu bir sıvıdır. Oda sıcaklığında amber renkli cam şişelerde saklanabilir.

3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür (MTT) Çözeltisi

Hassas terazide 12,5 mg 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür tartılmıştır. Madde, 2,5 ml D-PBS içerisinde çözülmüş ve 22,5 ml DMEM/F-12 eklenerek 0,5 mg/ml konsantrasyonunda MTT çözeltisi hazırlanmıştır. Çözelti ışıktan korunarak saklandığı taktirde 24 saat stabildir.

3.5.5. ROS Tayininde Kullanılan Çözeltiler

ROS Tayin Reaktifi

Bir vial turuncu ROS tayin reaktifi 40 µl DMSO ile dilue edilerek stok tayin reaktifi çözeltisi elde edilmiştir. Çözelti -20°C'de saklandığında 1 ay stabildir.

Dimetil Sülfoksit (DMSO)

0,1 ml DMSO kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır.

Deney Tamponu

20 ml deney tamponu kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır. Çözelti -20°C'de saklandığı taktirde 1 ay stabildir.

Master Reaksiyon Karışımı

20 µl ROS tayin reaktifi stoğu ve 10 ml deney tamponu kullanılarak hazırlanmıştır. Çözelti -20°C'de saklandığı taktirde 1 ay stabildir.

3.5.6. Hücre Lizisinde Kullanılan Çözeltiler

Liziz Tampon Çözeltisi

GeneAll ProtinEx^{TM} Animal cell/tissue total protein ekstraksyon çözeltisi kullanılmıştır. Çözelti, 150 mM KCl, 25 mM Tris bazı, %1 NP40 ve %10 gliserol içermektedir. +4°C'de muhafaza edilmiştir.

3.5.7. Protein Tayininde Kullanılan Çözeltiler

BCA Reaktifi 1

0,1 M sodyum hidroksit çözeltisi içerisinde BCA, sodyum bikarbonat, sodyum karbonat ve sodyum tartarattan oluşan 100 ml'lik çözeltidir. Kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır.

BCA Reaktifi 2

%4 bakır sülfat içeren 5 ml'lik çözeltidir. Kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır.

Protein Stok ve Standart Çözeltileri

Protein tayini BSA standartı, %0,9 tuzlu su içerisinde 200 µl 10 mg/ml BSA ve koruyucu olarak %0,05 sodyum azid içeren çözelti şeklinde bulunur. 2 mg/ml BSA standart çözeltisi, 120 µl protein tayini BSA standardını, seyreltici olarak kullanılan 480 µl distile su ile karıştırarak hazırlanır. Stok çözeltisi distile su ile seyreltilerek 0 µg/ml, 2,5 µg/ml, 12,5 µg/ml, 25 µg/ml, 50 µg/ml, 100 µg/ml, 150 µg/ml ve 200 µg/ml konsantrasyonlarında protein standart çözeltileri hazırlanmıştır.

3.5.8. Glutatyon Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

Asit Reaktifi Çözeltisi

45 ml asit reaktifi çözeltisi kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır. Işıktan korunarak 2-8°C'de saklandığında 12 ay stabildir.

DTNB Çözeltisi

15 ml çözelti olarak 5,5'-diti bis-(2-nitrobenzoik) asit (DTNB) kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır.

Fosfat Uygulama Çözeltisi

Bir vial 75 mL distile su ile çözülerek hazırlanmıştır. 4°C'de saklandığında 6 ay stabildir.

Tuz Reaktifi Uygulama Çözeltisi

Bir vial 10 mL distile su ile çözülerek hazırlanmıştır. Işıktan korunarak 4°C'de saklandığında 1 ay stabildir.

GSH Standart Stok Uygulama Çözeltisi

6 ml GSH standart stok diluenti kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır. 100 µl GSH standart stok diluenti, 900 µl distile su ile dilue edilerek 1 ml çözelti anlık hazırlanır.

1 mmol/L GSH Standart Çözeltisi

Bir vial GSH standartı 10 mL GSH standart stok uygulama çözeltisi ile karıştırılarak anlık hazırlanmıştır. 20°C'de saklandığında 1 ay stabildir.

20 µmol/L GSH Standart Çözeltisi

1 mL'si için 20 µl 1 mmol/L GSH standart çözeltisi ve 980 µl GSH standart stok uygulama çözeltisi karıştırılarak anlık hazırlanmıştır.

3.5.9. Lipit Peroksidasyonu Ölçümünde Kullanılan Çözeltiler

Sodyum Dodesil Sülfat Çözeltisi

Sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisi kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır.

Asit Reaktifi Uygulama Çözeltisi

Bir vial 6 ml asit reaktifi kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır. 1,2 ml asit ve 34 ml distile su kullanılarak anlık hazırlanmıştır.

Tiyobarbitürik Asit Çözeltisi

Bir vial 2 g tiyobarbitürik asit reaktifi (TBA) 60 ml disitle su (90-100°C) ile çözülmüştür. Devamında 60 ml glasiyel asetik asit ile karıştırılarak TBA çözeltisi elde edilmiştir. Çözelti, ışıktan koruyarak 2-8°C'de saklandığında 1 ay stabildir.

Renk Reaktifi

Kullanılacak her tüp için 1 ml TBA çözeltisi ve 3 ml asit reaktifi uygulama çözeltisi karıştırılarak anlık hazırlanmıştır.

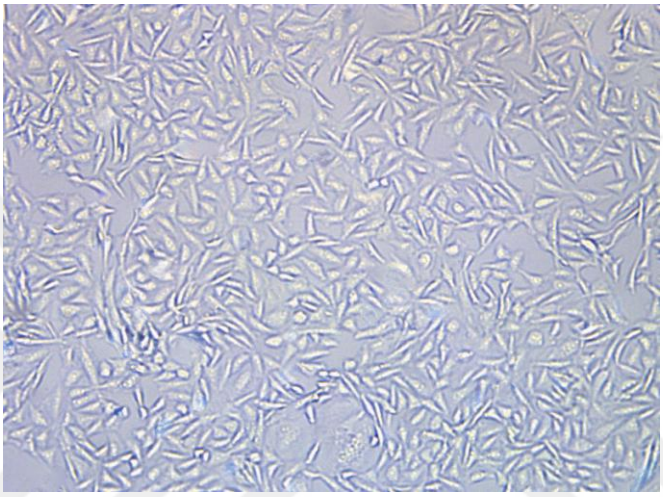
Malondialdehit Stok ve Standart Çözeltileri

200 µmol/L standard malondialdehit (MDA) stok çözeltisi kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır. Çözelti distile su ile seyreltilerek 0, 5, 10, 20, 40, 60, 80 ve 100 µM konsantrasyonlarında standartlar hazırlanmıştır.

3.6. Yöntemler

3.6.1. Hücre Kültürü

Çalışmada Çin hamster yumurtalık hücreleri (CHO) kullanılmıştır. Hücreler, DMEM/F-12 (%10 FBS ve %1 penisilin/streptomisin ile hazırlanan) besiyeri kullanılarak T75 flasklarda 37°C ve %5 CO_2'li inkübatörde çoğaltılmıştır. Uygun aralıklarla besiyerleri değiştirilmiş ve yeterli yoğunluğa ulaştıklarında pasajlanarak hücreler çoğaltılmıştır.



Şekil 3.1. CHO Hücrelerinin Mikroskop Altındaki Görüntüsü

3.6.2. Çalışma Grupları

1. **Kontrol grubu**: Uygulama yapılmamış hücreler
2. **BPA grubu:** BPA için sitotoksisite deneyleri sonucunda inhibatör konsantrasyon 30 (IC30) dozu olarak bulunan 50 µM BPA uygulanan hücreler
3. **BPF grubu:** BPF için sitotoksisite deneyleri sonucunda IC30 dozu 85 µM BPF uygulanan hücreler
4. **Kersetin grubu:** Kersetin için sitotoksisite deneyleri sonucunda IC30 dozu 110 µM kersetin uygulanan hücreler
5. **BPA + Kersetin grubu:** Sitotoksisite deneylerinin sonucunda BPA ve kersetinin IC30 dozu uygulanan hücreler
6. **BPF + Kersetin grubu:** Sitotoksisite deneylerinin sonucunda BPF ve kersetinin IC30 dozu uygulanan hücreler

3.6.3. Hücrelerin Çözülmesi

1. Su banyosu açılarak sıcaklığı 37˚C'ye kadar ısıtılmıştır.
2. -80°C'den kryo tüpü içerisinde bulunan hücreler çıkarılmıştır.
3. Kryo tüpü su banyosu içine koyulmuş ve çözülmüştür.
4. Hücreler 15ml'lik santrifüj tüpü içerisine alınmıştır.
5. Santifrüj tüpüne 9 ml besiyeri eklenmiş ve pipetaj yapılarak hücreler resüspanse edilmiştir.
6. Hücreler 1250 devirde 5 dk santrifüjlenmiştir.
7. Tüpteki süpernatan pipet ile alınarak atılmıştır. Kalan pellet üzerine besiyeri eklenmiştir.
8. Hücreler pipetaj ile resüspanse edilmiş ve karışım pipet ile çekilerek T75 flaska ekilmiştir.
9. Flasktaki hücreler ışık mikroskobu altında kontrol edilmiş ve incelenmiştir.
10. Devamında flasklar alınarak 37°C ve %5 CO_2'li inkübatöre kaldırılmıştır.

3.6.4. Hücrelerin Pasajlanması ve Çoğaltılması

1. Düzenli kontrol edilen hücreler yeterli yoğunluğa ulaşmaları durumunda pasajlanmıştır.
2. Hazırlık için flask içerisindeki besiyeri pipet ile çekilmiştir.
3. Hücreler 3 ml D-PBS eklenerek ve çektirilerek yıkanmıştır.
4. 4 ml tripsin-EDTA eklenen flasklar hücrelerin yüzeyden kalkmaları için 3-4 dakika inkübatöre konulmuştur.
5. Işık mikroskobunda hücrelerin kalktığı görüldükten sonra sonra tripsinin etkisini durdurmak için 5 ml besiyeri eklenmiştir
6. Karışım 15 ml'lik santrifüj tüpüne alınmış ve 1250 devirde 5 dk santrifüjlenmiştir.
7. Süpernatant atılarak pellet yeterli miktarda besiyeri ile süspande edilmiştir.
8. Hücreler flasklara ekilmiş ve 37°C ve %5 CO_2'li inkübatöre konulmuştur.
9. Fazla hücreler -80 °C'e kaldırılmıştır.

3.6.5. Hücrelerin -80°C'e Kaldırılması

1. Flasklar alınarak besiyerleri çekilmiştir.
2. Hücreler D-PBS ile yıkanmıştır.
3. Tripsin-EDTA eklenmiş ve 3-4 dakika inkübatörde bekletilmiştir.
4. Tutunduğu yerden kalkan hücreler üzerine 5 ml besiyeri eklenmiştir.
5. Karışım 15 ml'lik santrifüj tüpüne alınmış ve 1250 devirde 5 dk santrifüjlenmiştir.
6. Süpernatant atılmış ve kalan pellet hazırlanan dondurma çözeltisi içerisinde pipetaj ile dağıtılmıştır. Dondurma çözeltisi, vial sayısına göre oranları %70 DMEM, %20 FBS ve %10 DMSO olacak şekilde hazırlanmıştır.
7. Karışım, her kryo vialde 1,5 ml olacak şekilde konulmuştur.
8. Vialler -20 ˚C'de 1 saat bekletilmiştir.
9. -20˚C'den alınan vialler son olarak -80˚C'e kaldırılmıştır.

3.6.6. Hücre Sayımı

1. Flasklardaki besiyerleri çekilmiştir.
2. Tripsin-EDTA eklenerek ve 3-4 dakika inkübatörde bekletilmiştir.
3. Tutunduğu yerden kalkan hücreler üzerine 5 ml besiyeri eklenmiştir.
4. Karışım 15 ml'lik santrifüj tüpüne alınmış ve 1250 devirde 5 dk santrifüjlenmiştir.
5. Süpernatant atılarak pellet 10 ml besiyeri ile süspande edilmiştir.
6. Süspansiyondan 50 µl alınmış ve bir ependorf tüpüne konulmuştur.
7. 10 µl hücre süspansiyonu üzerine 10 µl %0,4 tripan mavisi çözeltisi ile süspande edilmiştir.
8. Thoma hücre sayım lamının alt ve üst kısmına 10 µl süspansiyon eklenerek lam ile kapatılmış ve ışık mikroskobu altında incelenmiştir. Kenar çizgilerine denk gelen hücreler ele alınmamıştır. 16 karede sayılan hücrelerin ortalamaları alınmıştır. Mililitredeki hücre sayısı için aşağıdaki formül kullanılmıştır.

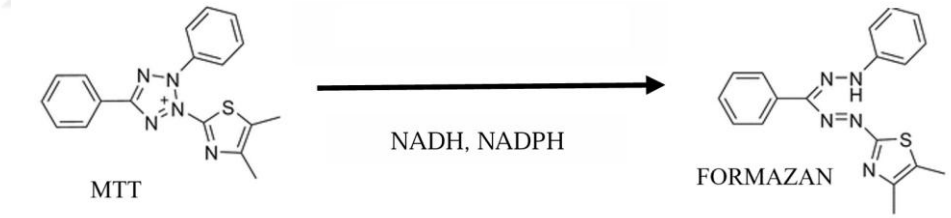
   Toplam hücre sayısı (ml) = Sayılan toplam hücre sayısı x seyreltme faktörü x 10000

9. Hücre süspansiyonu her kuyucukta 10.000-15.0000 hücre/200 µl olacak şekilde besiyeri ile seyreltilmiş ve hücreler 96 kuyucuklu plağa ekilmiştir.
10. Hücreler tutunmaları ve çoğalmaları için 24 saat boyunca inkübe edilmiştir.

3.6.7. MTT Yöntemi ile Sitotoksisitenin Belirlenmesi

Yöntemin Esası:

Yöntem, 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür kullanılarak hücre canlılığının belirlenmesi ve sitotoksisitenin ölçülmesi amacıyla uygulanan kolorimetrik bir testtir. Suda çözünen sarı renkli tetrazolyum tuzunun (MTT) hücre membranından geçerek mitokondriye girmesi ve hücre içerisinde NADPH ve enzimler ile indirgenerek koyu mor renkteki formazan kristallerine dönüşmesine esasına dayanır. Canlı hücrelerde reaksiyon gerçekleşerek mor renkli formazan kristalleri oluşurken ölü hücrelerde renk değişimi görülmez. Formazan kristalleri DMSO'da çözülerek oluşan rengin absorbansı spektrofotometre ile 570 nm'de ölçülmektedir.



Şekil 3.2. MTT'nin Formazan Tuzuna Dönüşüm Metabolizması

Yöntemin Uygulanışı:

1. Hassas terazide 12,5 mg 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolyum bromür tartılarak 2,5 ml D-PBS'te çözülmüştür. Üzerine 22,5 ml besiyeri eklenerek 0,5 mg/ml konsantrasyonunda MTT çözeltisi hazırlanmıştır.
2. Kuyucuklardaki besiyeri çektirildikten sonra daha önceden belirlenen konsantrasyonlarda BPA (5, 10, 25, 50, 75, 150, 300, 500 µM), BPF (5, 10, 25, 50, 75, 150, 300, 500 µM) ve kersetin (5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 800 µM) kuycuklara uygulanmıştır.

3. Kontrol olarak herhangi bir uygulama yapılmamış hücrelere sadece besiyeri konulmuştur.
4. Hücreler 24 saat inkübe edilmiştir.
5. İnkübasyon sonrasında kuyucuklardaki çözeltiler atılmış ve MTT çözeltisinden her kuyucuğa 200 µl olacak şekilde konulmuştur. Hücreler 3 saat inkübe edilmiştir.
6. İnkübasyon sonrasında MTT çözeltisi çekilmiştir. Oluşan formazan kristalleri her kuyucuğa 200 µl olacak şekilde DMSO konularak çözülmüştür.
7. Absorbans değerleri 570 nm'de ölçülmüş ve kontrollerin absorbansı %100 kabul edilerek her madde için IC_{50} ve IC_{30} değerleri hesaplanmıştır.
8. Test üç kez tekrarlanarak sonuçların ortalamaları alınmıştır.

Hücre Canlılığının Hesaplanması:

Hücrelerin canlılığı %100 kabul edilen kontrole oranla % olarak hesaplanmıştır.

3.6.8. Hücre İçi Reaktif Oksijen Bileşiklerinin (ROS) Belirlenmesi

Yöntemin Esası:

Yöntem, canlı hücrelerin floresan özellik göstermeyen 5- ve 6- klorometil-2′,7′ diklorodihidrofloresein diasetat (CM-H_2DCFDA)'ı yeşil floresans veren 2′,7′ diklorofloresein (CM-DCF) 'e dönüştürmesi esasına dayanır. Oluşan hücre içi ROS (süperoksit ve hidroksil radikalleri) hücre içerisindeki sensör ile birlikte reaksiyona girerek varolan ROS miktarı ile orantılı olarak florometrik bir ürün oluşturur. Floresans derecesi λex=540 nm, λem=570 nm'de ölçülmektedir.

Yöntemin Uygulanışı:

1. Tüm reaktifler oda sıcaklığına getirilmiştir.
2. ROS tayin reaktifi 40 µl DMSO karıştırılarak ROS tayin reaktif çözeltisi hazırlanmıştır.
3. Hücreler alınarak 96 kuyucuklu siyah hücre kültür plağına her kuyucuk başına 90 µl olacak şekilde ekilmiştir.
4. BPA, BPF ve kersetin dozları IC30 konsantrasyonlarının 10 katı olarak hazırlanarak BPA, BPF, kersetin, BPA+kersetin ve BPF+kersetin şeklinde

kuyucuklara 10 µl miktarında eklenmiştir. Kontrol için 10 µl besiyeri kullanılmıştır. Kersetin dozları koruyucu etki ölçümü için diğer dozların uygulanmasından 3 saat önce eklenmiştir.

5. Hücreler 30 dakika boyunca 37°C'de inkübatörde bekletilmiştir.
6. Master reaksiyon karışımı 20 µl ROS tayin reaktifi ve 10 ml deney tamponu ile hazırlanmış ve her kuyucuğa 100 µl olacak şekilde eklenmiştir.
7. Hücreler 30 dakika - 1 saat aralığında 37°C'de inkübe edilmiştir.
8. Floresans λex=540 nm, λem=570 nm'de ölçülmüştür.

ROS Düzeylerinin Hesaplanması:

ROS üretimi kontrol için %100 kabul edilmiştir ve diğer gruplardaki hücre ROS üretimi kontrole oranla % olarak hesaplanmıştır.

3.6.9. Hücre Lizisi ve Fraksiyonlanması

1. Konfluent haldeki flasklara belirlenmiş IC30 dozlarında maddeler uygulanmış ve hücreler 24 saat inkübe edilmiştir. Kersetin dozları koruyucu etki ölçümü için diğer dozların uygulanmasından 3 saat önce eklenmiştir. Kontrol olarak belirlenen flasklara sadece besiyeri eklenmiştir.
2. 24 saat sonunda tripsin-EDTA eklenerek kaldırılmış ve üzerlerine besiyeri eklenmiştir.
3. Karışım 15 ml'lik santrifüj tüpüne alınmış ve 1250 devirde 5 dk santrifüjlenmiştir.
4. Süpernatant atılarak pellet soğuk D-PBS ile resüspande edilmiş ve 2000 devirde 5 dakika santifrüjlenerek oluşan süpernatant tekrar atılmıştır. Bu işlem 2 kez tekrarlanmıştır. Kalan pelletler lize etme işleminde kullanılmıştır.
5. Liziz işlemi süresince buz üzerinde çalışılmıştır. Kullanılan hücre liziz tampon çözeltisi kitin içerisinde kullanıma hazır halde bulunmaktadır. Çözelti +4°C'de muhafaza edilmiştir.
6. Her hücre pelleti üzerine 1 ml oalcak şekilde liziz tamponu çözeltisi eklenmiştir.
7. Pelletler 4000 devirde 20 dakika santrifüjlenmiştir. Devamında elde edilen süpernatantlar toplanarak yapılacak deneyler için -80˚C'de saklanmıştır.

3.6.10. Protein Miktarının Belirlenmesi

Yöntemin Esası:

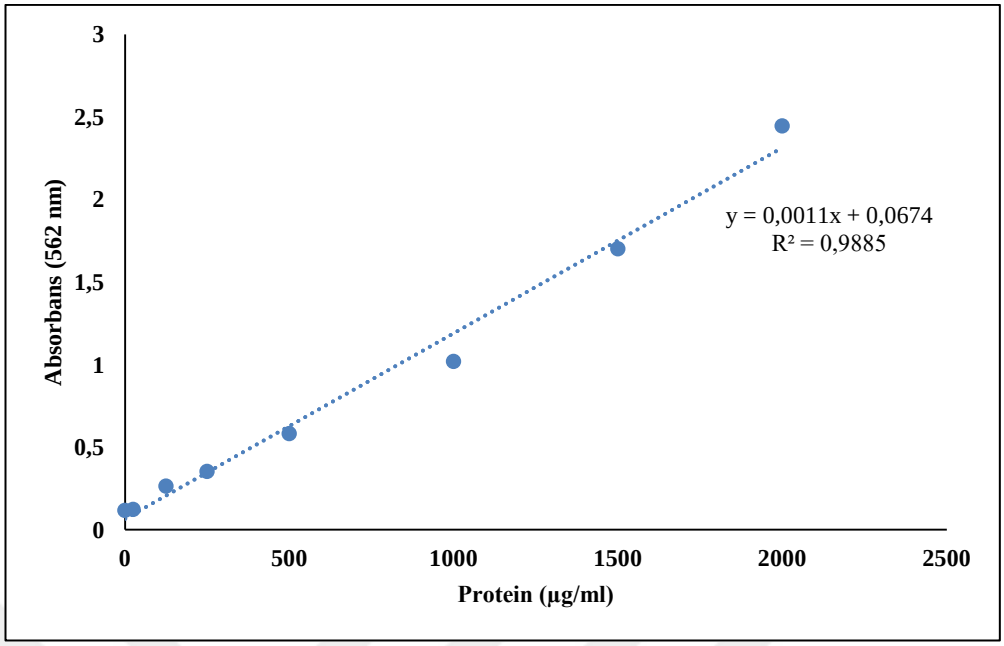
Yöntem, alkali ortamda Cu+2 protein kompleksi oluşmasına ve kompleksin Cu+1'e indirgenmesine dayanır. Sistein, sistin, tirozin, triptofan ve peptid bağları Cu+2'yi Cu+1'e indirgeyebilir. İndirgenme miktarı mevcut protein ile orantılıdır. Deneyde kullanılan bişinkoninik asit (BCA) ile Cu+1 oluşturduğu mavi-mor renkli kompleksin absorbansı 562 nm'de spektrofotmetrik olarak ölçülmektedir.

Yöntemin Uygulanışı:

1. Elde edilen hücre lizatları 1/25, 1/50 ve 1/100 oranlarında seyreltilmiştir.
2. Hazırlanan BCA standartları, kontrol hücrelerinin lizatları, BPA, BPF, kersetin, BPA+kersetin ve BPF+kersetine maruz bırakılmış hücre lizatlarından 25 µl alınarak hücre kültür plağı kuyucuklarına eklenmiştir.
3. 50:1 oranında BCA reaktifi 1 çözeltisi ve BCA reaktifi 2 çözeltisi içeren çalışma çözeltisi hazırlanarak ve 200 µl olacak şekilde kuyucuklara uygulanmıştır.
4. Plağın üstü kapatılarak çalkalayıcıda 30 saniye karıştırılmış ve 37°C'de 30 dakika inkübe edilmiştir.
5. Absorbans değerleri 562 nm'de ölçülmüştür.

Protein Miktarının Hesaplanması:

Protein standartları konsantrasyonları ve elde edilen absorbans değerleri esas alınarak protein standart eğrisi oluşturulmuştur. Hesaplanan protein miktarları dilüsyon faktörü ile çarpılmış ve örneklerde bulunan protein miktarları belirlenmiştir.

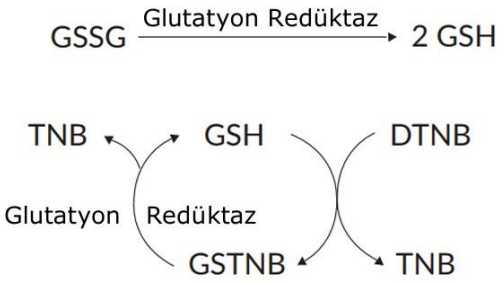


Şekil 3.3. Protein Standart Eğrisi

3.6.11. Total Glutatyon Düzeylerinin Belirlenmesi

Yöntemin Esası:

Yöntem, GSH ile reaksiyona giren 5,5'-diti-bis-(2-nitrobenzoik) asit (DTNB)'nin sarı renkli 5-tiyo-2 nitrobenzoik asit (TNB) oluşturması esasına dayanır. Reaksiyon sonucunda oluşan GSTNB, GR tarafından GSH ve TNB'ye parçalanır. Geri dönüşüm reaksiyonuna bağlı olarak oluşan TNB, GSH konsantrasyonu ile orantılıdır. Oluşan TNB'nin absorbansı 420 nm ölçülmektedir.



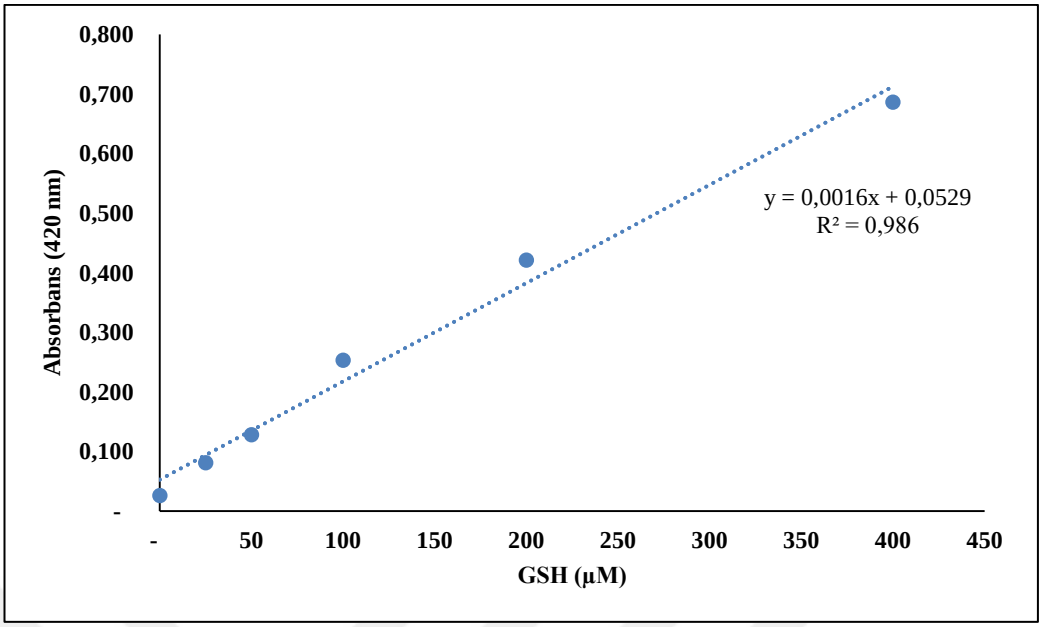
Şekil 3.4. Glutatyon Döngüsü

Yöntemin Uygulanışı:

1. Hücre lizatlarında 500 µl ependorf tülerine alınarak üzerlerine 500 µl asit reaktifi eklenmiştir.
2. Çözeltiler 5000 devirde 2 dakika santifrüj edilerek süpertantları toplanmıştır.
3. Hücre kültür plağı kuyucuklarına hazırlanan 20µmol/L GSH standart çözeltisinden 50 µl olacak şekilde eklenmiştir
4. Diğer kuyucuklara kontrol, BPA, BPF ve kersetin uygulanmış hücre lizatlarının toplanan süpertantlarından 50 µl eklenmiştir.
5. Çalışma çözeltisi 1,25 mL fosfat uygulama çözeltisi, 0,25 mL DTNB ve 0.05 mL tuz reaktifi uygulama çözeltisi oranlarında hazırlanmıştır.
6. Çalışma çözeltisi kuyucuklara 150 µl olacak şekilde uygulanmıştır.
7. Hücre kültür plağı ışıktan korunarak 15 dakika oda sıcaklığında inkübe edilmiştir.
8. Absorbans değerleri 420 nm'de ölçülmüştür.

Total Glutatyon Düzeylerinin Hesaplanması:

GSH standartlarının absorbans değerleri esas alınarak GSH standart eğrisi oluşturulmuştur. Standart eğrisi kullanılarak total GSH konsantrasyonları hesaplanmıştır. Elde edilen sonuçlar nmol/mg protein olarak verilmiştir.

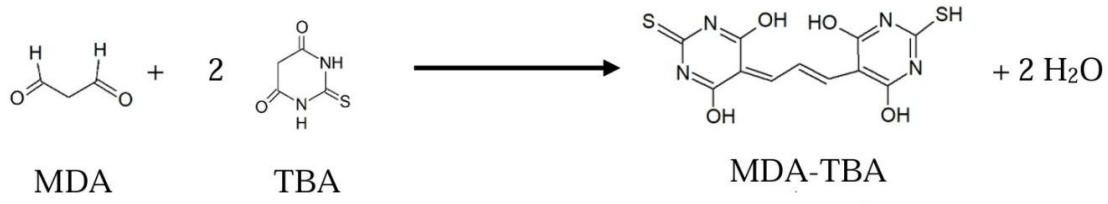


Şekil 3.5. GSH Standart Eğrisi

3.6.12. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Yöntemin Esası:

Yöntem, lipid peroksidasyonu sonucunda oluşan malondialdehitin (MDA), tiyobarbitürik asit (TBA) ile reaksiyona girerek oluşturduğu MDA-TBA kompleksinin oluşması esasına dayanan kolorimetrik bir testtir. Yüksek sıcaklık ve asit ortamında oluşan TBARS ve TBA, reaksiyona girerek pembe bir bileşik oluşturur. Bu bileşik miktarı TBARS konsantrasyonuyla orantılıdır. Oluşan bileşiğin absorbansı 532 nm ölçülmektedir.



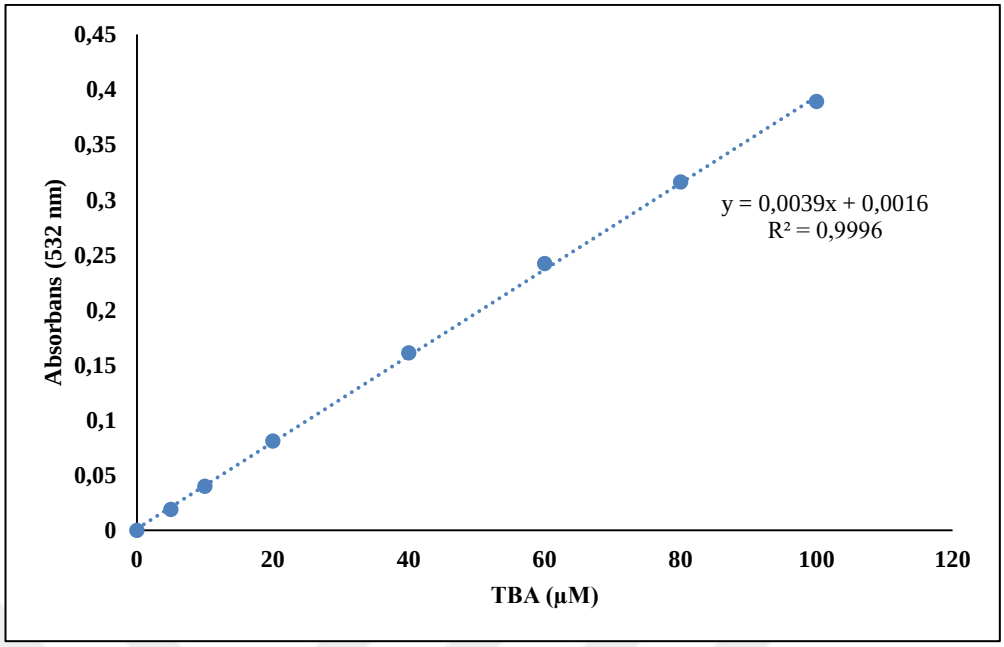
Şekil 3.6. MDA-TBA Kompleksinin Oluşumu

Yöntemin Uygulanışı:

1. Hazırlanan TBARS standart çözeltileri ve hücre lizatları 100 µl olacak şekilde 10 ml'lik cam tüplere konulmuştur. Devamında tüplere 100 µl sodyum dodesil sülfat (SDS) çözeltisi eklenmiştir.
2. Tüplere 4 ml renk reaktifi uygulanmıştır.
3. Tüplerin ağızları parafilm ile kapatılarak çözeltiler karıştırılmış ve filmlerde küçük bir delik açılarak 100°C'de su banyosunda bir saat inkübe edilmiştir.
4. Sürenin sonunda tüpler su banyosundan alınmış ve 10 dakika buz içerisinde bekletilmiştir.
5. Çözeltiler 15ml'lik santifrüj tüplerine alınarak 3500 devirde 10 dakika santrifüjlenmiştir.
6. Örnek ve standartlardan 250 µl alınarak hücre kültür plağına konulmuştur.
7. Absorbans değerleri 532 nm'de ölçülmüştür.

Tiyobarbitürik Asit Reaktif Maddeleri Düzeylerinin Hesaplanması:

TBA standartlarının konsantrasyon ve absorbans değerleri esas alınarak TBA standart eğrisi oluşturulmuştur. Standart eğrisi kullanılarak TBARS düzeyleri µM olarak hesaplanmış, elde edilen sonuçlar nmol/mg protein cinsinden verilmiştir.



Şekil 3.7. TBA Standart Eğrisi

3.6.13. İstatistiksel Değerlendirme

Verilerin analizinde SPSS (ver.22.) kullanılmıştır. Kontrol hücrelerinin canlılığı %100 kabul edilmiş ve diğer çalışma gruplarının hücre canlılığı kontrole kıyasla yüzde değer (%) olarak hesaplanmıştır. Tüm gruplar normal dağılıma sahip olduğu ve parametrik test varsayımları yerine getirildiği için analizlerde Tukey HSD çoklu karşılaştırma analizi ve tek yönlü varyans analizi kullanılmıştır. Sonuçlar ortalama ± standart sapma olarak verilmiş, $p<0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Hücrelerde Sitotoksisitenin Belirlenmesi

Hücreler BPA, BPF ve kersetin (Q) test maddelerine belirli konsantrasyonlarda maruz bırakılmışlardır. BPA için 5-500 µM, BPF için 5-500 µM ve kersetin için 5-800 µM konsantrasyon aralıkları belirlenmiştir. Maddelere 24 saat maruz bırakılan CHO hücrelerinin canlılığı MTT yöntemi kullanılarak değerlendirilmiştir. Deney üç tekrar ile gerçekleştirilerek elde edilen verilerin ortalamaları alınmıştır. Hücre canlılığı, uygulama yapılmamış olan kontrol hücrelerinin % canlılık oranları esas alınarak değerlendirilmiştir. Elde edilen sonuçlar kullanılarak medyan inhibitör konsantrasyon (IC_{50}) ve %30 inhibisyon gerçekleşen konstantrasyon (IC_{30}) değerleri hesaplanmıştır. Sonraki deneylerde gerçekleştirilen uygulamalar için IC_{30} değerleri esas alınarak kullanılmıştır.

Tablo 4.1. Uygulanan BPA Konsantrasyonları ve Hücrelerinin Canlılığı

Uygulanan BPA Konsantrasyonları (µM)	Hücre Canlılığı (%)
5 µM	99,31
10 µM	99,29
25 µM	76,94
50 µM	73,29
75 µM	59,38
150 µM	44,10
300 µM	41,35
500 µM	14,94

Verilen sonuçlar üç farklı zaman ve gün içi iki tekrarla yapılan çalışmaların ortalama değeridir. Üç farklı gündeki değerlerlerden elde edilen ortalama hücre canlılığı gösterilmiştir.

Tablo 4.2. Uygulanan BPF Konsantrasyonları ve Hücrelerinin Canlılığı

Uygulanan BPF Konsantrasyonları (µM)	Hücre Canlılığı (%)
5 µM	93,21
10 µM	89,07
25 µM	79,97
50 µM	74,65
75 µM	71,48
150 µM	62,03
300 µM	53,12
500 µM	21,68

Verilen sonuçlar üç farklı zaman ve gün içi iki tekrarla yapılan çalışmaların ortalama değeridir. Üç farklı gündeki değerlerlerden elde edilen ortalama hücre canlılığı gösterilmiştir.

Tablo 4.3. Uygulanan Kersetin Konsantrasyonları ve Hücrelerinin Canlılığı

Uygulanan Kersetin Konsantrasyonları (µM)	**Hücre Canlılığı (%)**
5 µM	92,17
10 µM	88,34
20 µM	82,63
50 µM	76,48
100 µM	71,75
200 µM	48,32
400 µM	32,15
800 µM	21,54

Verilen sonuçlar üç farklı zaman ve gün içi iki tekrarla yapılan çalışmaların ortalama değeridir. Üç farklı gündeki değerlerlerden elde edilen ortalama hücre canlılığı gösterilmiştir.

Tablo 4.4. BPA İçin Bulunan IC_{30} ve IC_{50} Değerleri

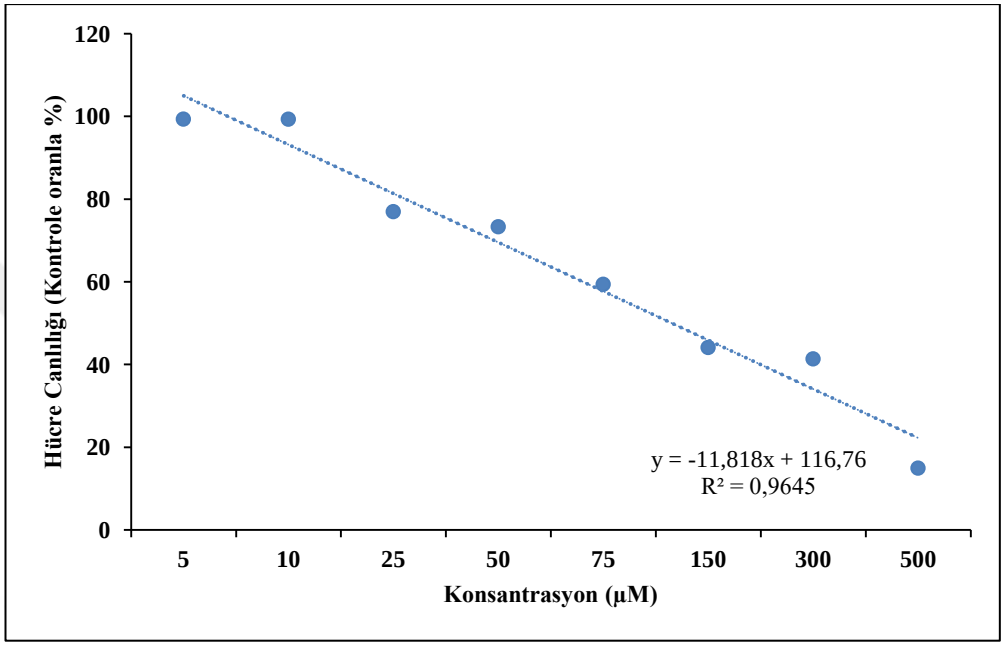
	BPA
IC_{30}	50 µM
IC_{50}	105 µM

Tablo 4.5. BPF İçin Bulunan IC_{30} ve IC_{50} Değerleri

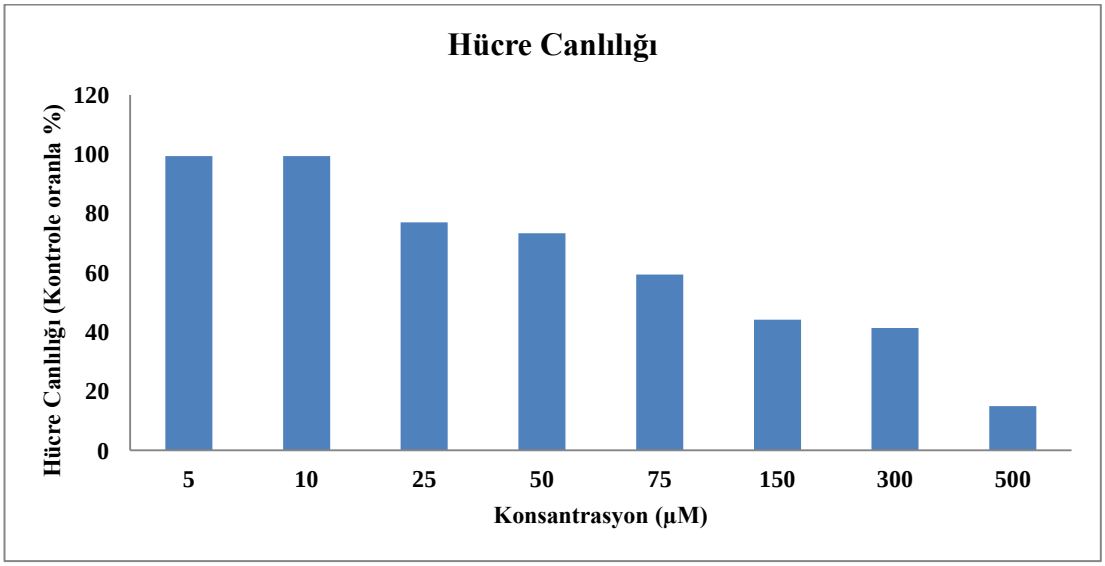
	BPF
IC_{30}	85 µM
IC_{50}	340 µM

Tablo 4.6. Kersetin İçin Bulunan IC_{30} ve IC_{50} Değerleri

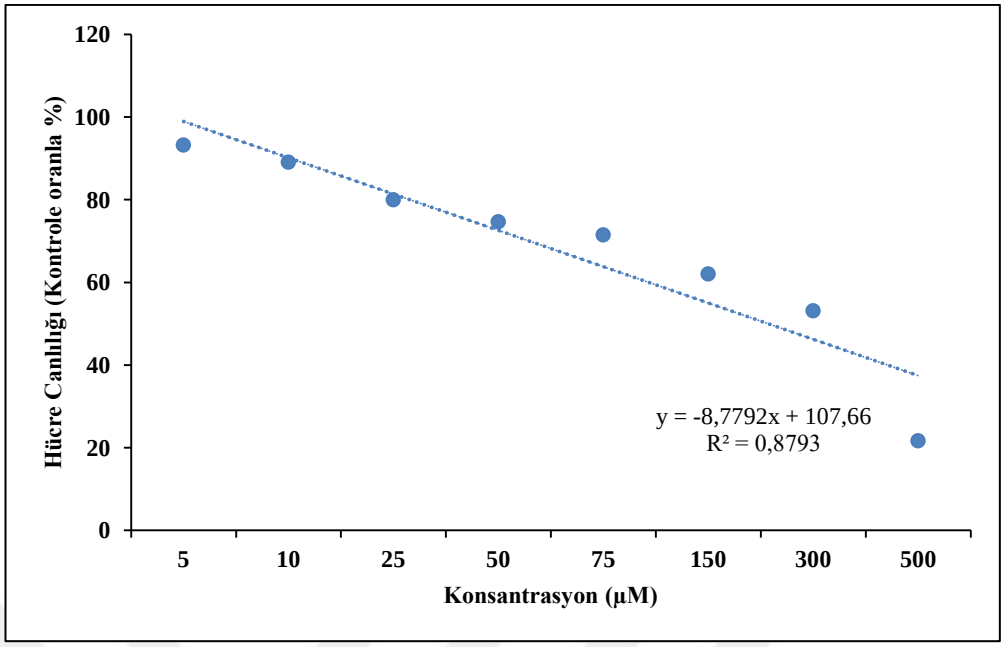
	Kersetin
IC_{30}	110 µM
IC_{50}	175 µM



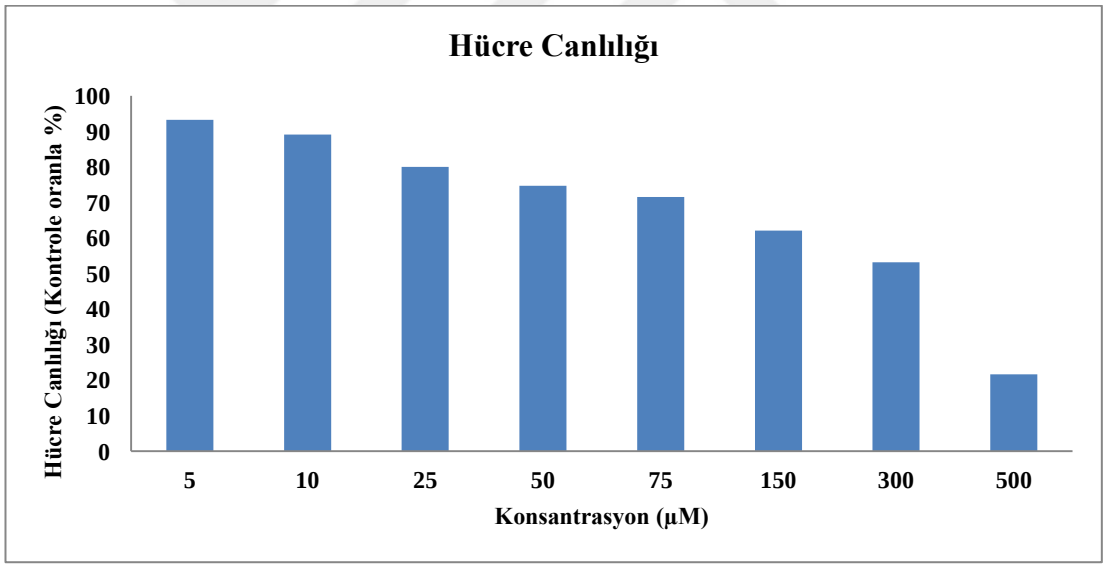
Şekil 4.1. Uygulanan BPA'nın (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi



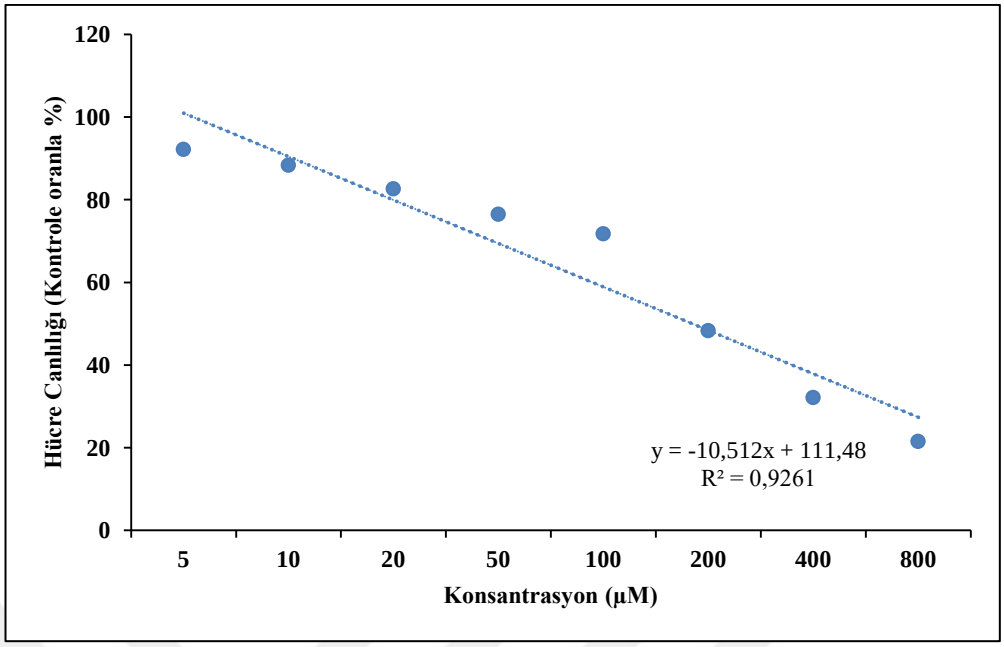
Şekil 4.2. Uygulanan BPA'nın (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi



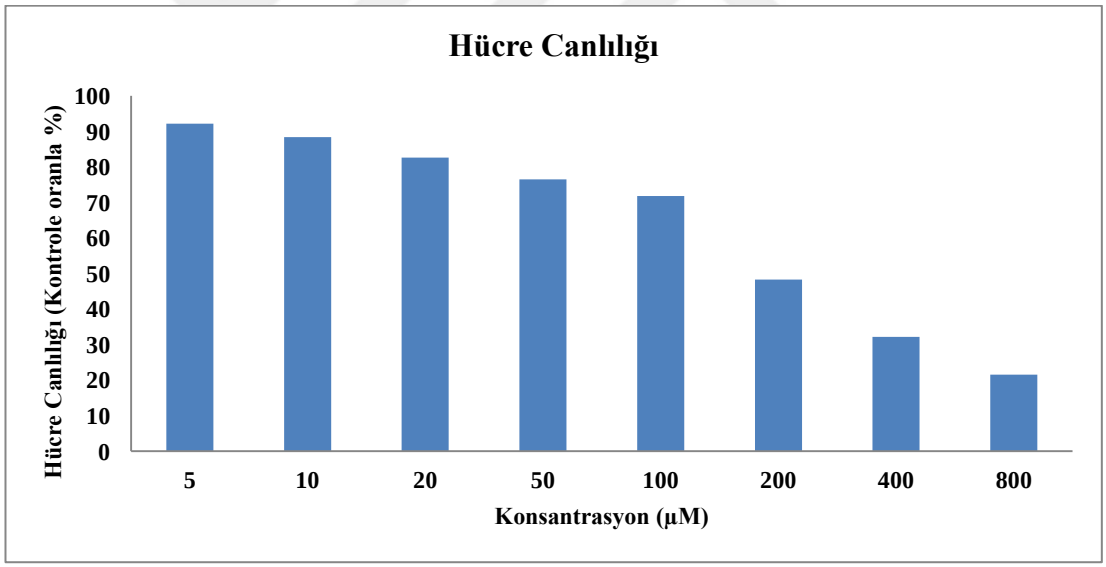
Şekil 4.3. Uygulanan BPF'nin (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi



Şekil 4.4. Uygulanan BPF'nin (5-500 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi



Şekil 4.5. Uygulanan Kersetinin (5-800 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi



Şekil 4.6. Uygulanan Kersetinin (5-800 µM) Hücre Canlılığı Üzerinde Etkisi

MTT yöntemi sonucunda belirlenen IC_{30} değerleri ile kombine maruziyet etkinliği değerlendirilmiştir. Hücreler BPA ve BPF dozlarının uygulanmasından 3 saat öncesinde kersetin IC_{30} dozu uygulanarak inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonrasında BPA ve BPF maddelerinin IC_{30} dozları uygulanmış ve 24 saat inkübe edilerek hücre canlılıkları incelenmiştir. Kersetinin koruyucu etkinliği BPA ve BPF üzerinde kombine maruziyet ile değerlendirilmiştir. Uygulama gerçekleştirilmeyen grup ile

birlikte sadece BPA, BPF veya kersetin (Q) uygulanmış kontrol gruplarına oranla canlılık hesaplanmıştır. BPA'nın IC_{30} dozu uygulanan gruplardaki hücre canlılığının kontrole oranla %34,05 olduğu görülmektedir. Değerlere bakılarak BPA dozunun belirgin düzeyde bir toksisiteye neden olduğu söylenebilir. Sadece kersetin IC_{30} dozu uygulanan hücrelerde ise canlılığın kontrole oranla %76,9 olduğu ve anlamlı bir fark oluşmadığı belirlenmiştir. BPA IC_{30}+QIC_{30} kombinasyonu uygulaması yapılan gruplarda ise hücre canlılığı %74,69 olarak ölçülmüştür. Bulgular, kombine uygulama sonucunda BPA'nın hücrelerde neden olduğu sitotoksik etkinin önemli ölçüde azaldığını göstermektedir. Kersetinin, BPA kaynaklı hücresel hasara karşı koruyucu bir rol üstelenerek toksisiteyi azaltabileceği düşünülebilir. Aynı zamanda elde edilen bu sonuçlar, flavonoid bileşiklerin çevresel toksinlere karşı hücre düzeyinde savunma mekanizmalarını destekleyici etkileri yönündeki literatürü de destekler niteliktedir.

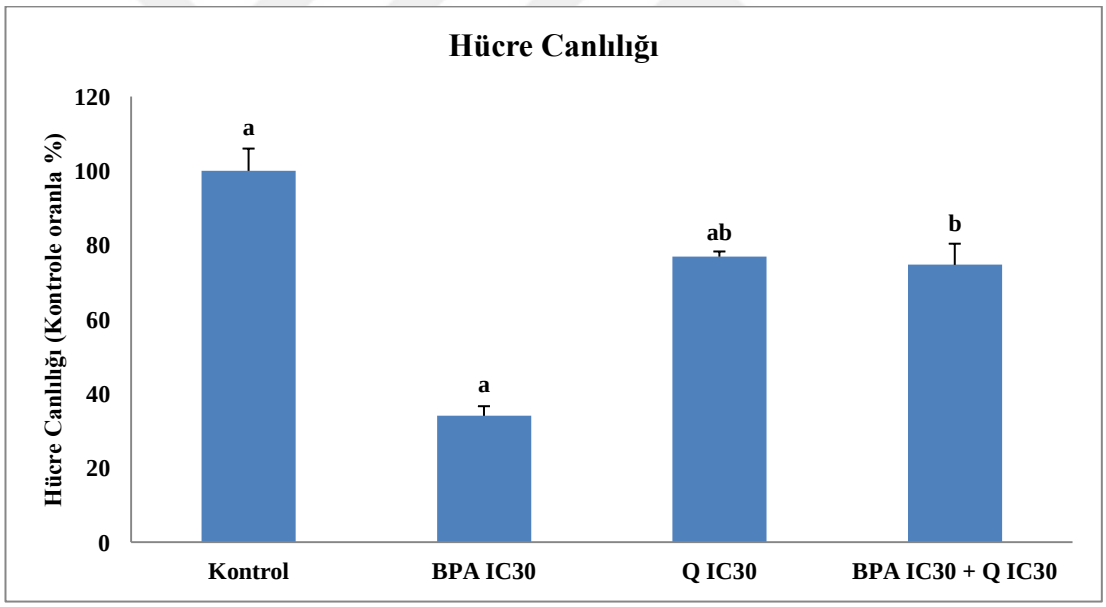
BPF'nin IC_{30} dozu uygulanan gruplarda ise hücre canlılığının kontrole oranla %49,73 azaldığı görülmektedir ($p<0,05$). Kersetin IC_{30} dozu tek olarak uygulanan hücrelerde ise canlılık kontrole kıyasla %76,9 oranındadır. Kombine uygulama gerçekleştirilen BPF IC_{30} + Q IC_{30} grubunda ise hücre canlılığı %71,6 olarak ölçülmüştür. Elde edilen veriler, kombine uygulama sonucunda kersetinin antioksidan etkileri sayesinde BPF kaynaklı hasarı azaltıcı bir etki oluşturduğunu göstermektedir. Sitoksisite sadece BPF uygulanan gruplara kıyasla anlamlı bir ölçüde azalırken, hücre canlılığının belirgin düzeyde arttığı görülmektedir. Bu sonuçlar, flavanoid bileşiklerinin çevresel toksinlere karşı hücresel savunmayı destekleyici bir potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Tablo 4.7. Kersetin + BPA'nın IC_{30} Dozlarının (110 µM ve 50 µM) Hücre Canlılığına Etkisi

Çalışma Grupları	Hücre Canlılığı (%)
Kontrol	100^{a}
BPA IC_{30}	$34,05^{a}$
Q IC_{30}	$76,9^{ab}$
BPA IC_{30} + Q IC_{30}	$74,69^{b}$

Verilen sonuçlar üç farklı zaman ve gün içi iki tekrarla yapılan çalışmaların ortalama değeridir. Üç farklı gündeki değerlerlerden elde edilen ortalama hücre canlılığı gösterilmiştir.

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. $^{a, b, ab}$ Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).



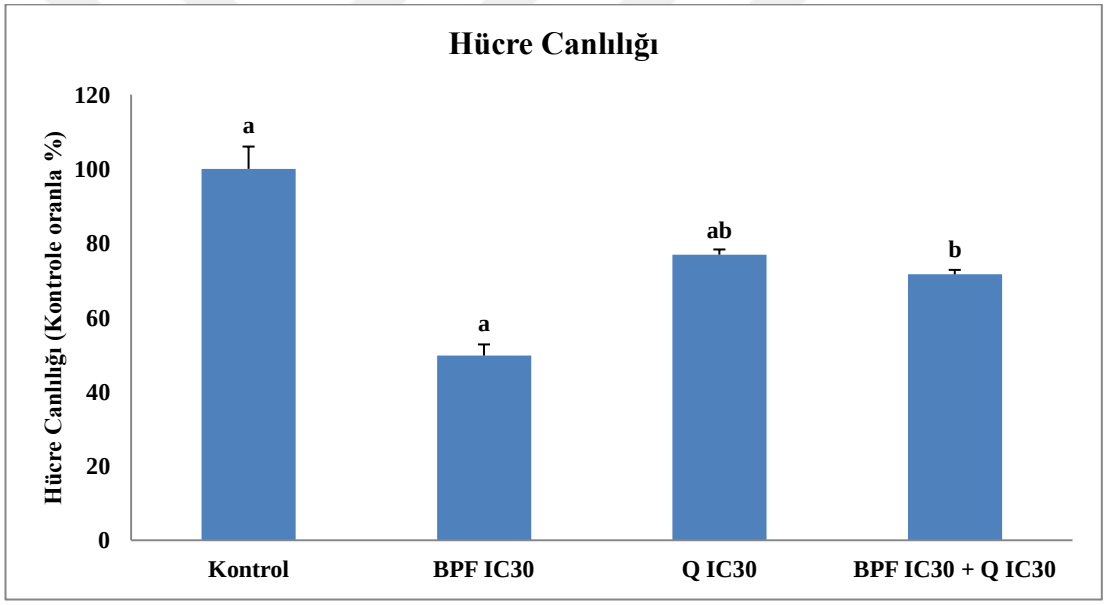
Şekil 4.7. Kersetin + BPA'nın IC_{30} Dozlarının (110 µM ve 50 µM) Hücre Canlılığına Etkisi

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. $^{a, b, ab}$ Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

Tablo 4.8. Kersetin+ BPF'nin IC_{30} Dozlarının (110 µM ve 85 µM) Hücre Canlılığına Etkisi.

Çalışma Grupları	Hücre Canlılığı (%)
Kontrol	100^{a}
BPF IC_{30}	$49{,}73^{a}$
Q IC_{30}	$76{,}9^{ab}$
BPF IC_{30} + Q IC_{30}	$71{,}6^{b}$

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. $^{a, b, ab}$ Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0{,}05$).



Şekil 4.8. Kersetin+ BPF'nin IC_{30} Dozlarının (110 µM ve 85 µM) Hücre Canlılığına Etkisi

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. $^{a, b, ab}$ Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0{,}05$).

4.2. Hücre İçi Reaktif Oksijen Bileşiklerinin Belirlenmesi

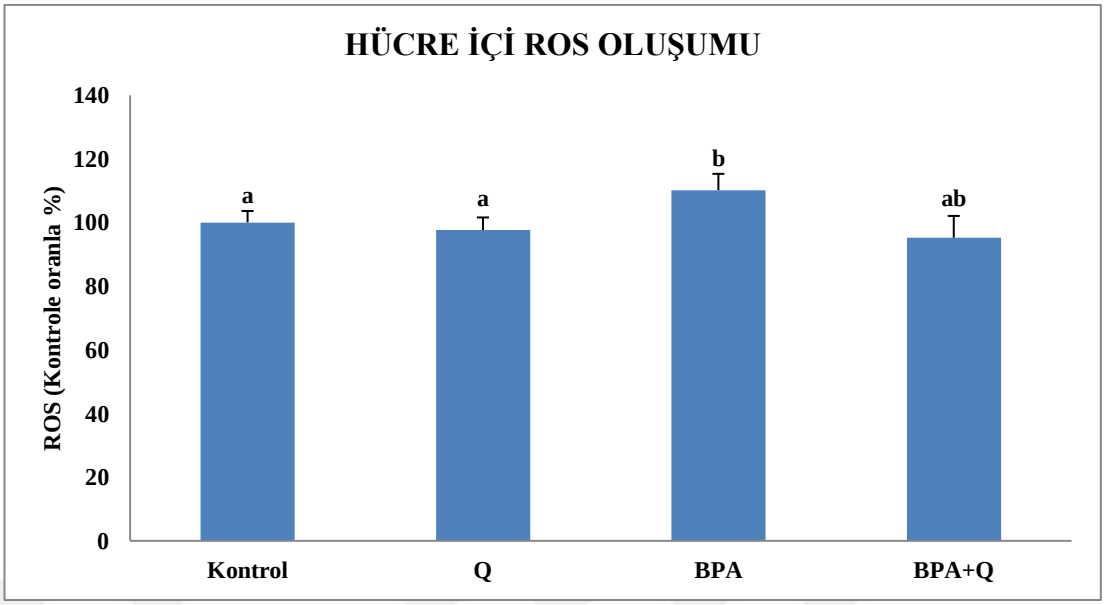
Çalışma sonucunda BPA, BPA+Q, BPF, BPF+Q, Q ve uygulama yapılmamış kontrol grupları için hücre içi ROS değerleri elde edilmiştir. BPA grubunda kontrol grubuna kıyasla %10 oranında ROS seviyelerindeki artış anlamlı görülmektedir ($p<0{,}001$). Bu fark, BPA'nın oksidatif stres üzerindeki etkisini gösterir niteliktedir. Kersetin (Q)

grubunda kontrol grubuna kıyasla %3 oranında bir ROS üretimi artışı görülmektedir (p>0,05). BPA+Q gruplarında ise kersetin uygulaması sonucunda ROS düzeylerinin %5 oranında azalarak düştüğü gözlenmektedir. Bu durum, kersetinin BPA'nin pro oksidan etkilerini baskılayarak etki göstermesi ile açıklanabilir. Ancak kombinasyon uygulaması kontrol grubuna kıyasla farkı istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır (p>0,05). Yapılan değerlendirmeler sonucunda kersetin uygulamasının BPA'nın oluşturduğu oksidatif etki ile ROS düzeylerinin artışı üzerinde koruyucu bir etki gösterebileceği ancak ROS düzeylerini tamamen normal seviyelere çekemediği görülmektedir.

Tablo 4.9. BPA ve BPA+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri

Çalışma Grupları	**ROS Oluşumu (kontrole göre %)**
Kontrol	$100,0 \pm 3,59^{a}$
Q	$97,6 \pm 3,96^{a}$
BPA	$110,1 \pm 5,16^{b}$
BPA+Q	$95,2 \pm 6,84^{ab}$

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. $^{a, b, ab}$ Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).



Şekil 4.9. BPA ve BPA+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri

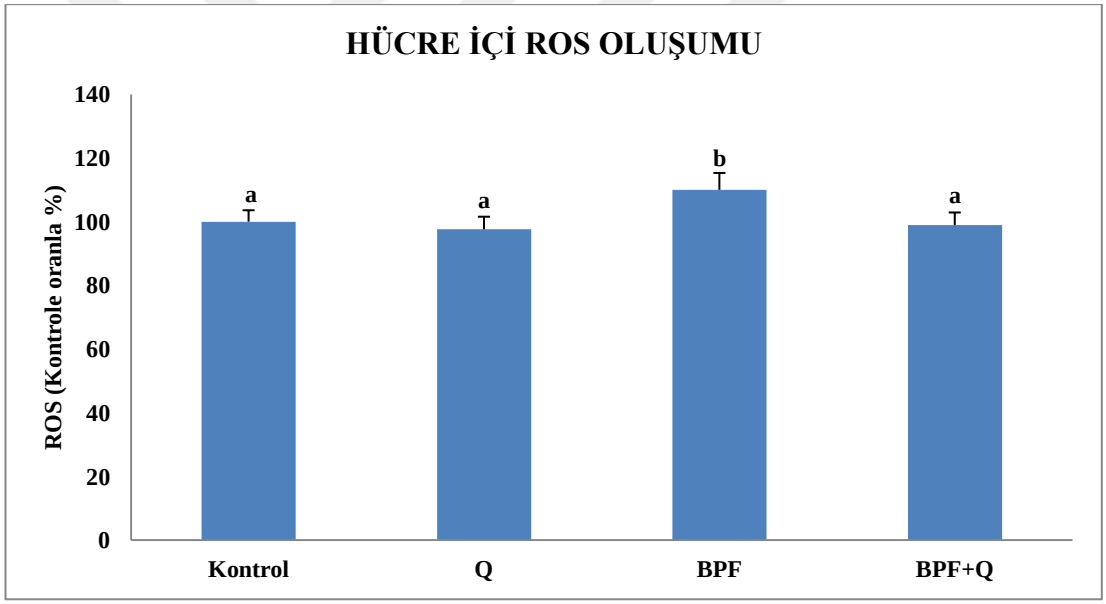
Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a, b, ab] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

BPF ve BPF+Q gruplarında yapılan değerlendirmeler sonucunda ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmektedir ($p<0,05$). BPF grubunda kontrol ve Q gruplarına kıyasla sırasıyla %10 ve %13,4 oranında belirgin derece bir ROS artışı gerçekleştiği gözlenmektedir ($p<0,001$). Ancak BPF+Q gruplarında kontrol ve Q gruplarına göre anlamlı bir istatistiksel fark görülememiştir ($p>0,05$). Sonuçlara bakıldığında, BPF'nin tek başına oksidatif strese neden olduğunu gösterirken, kersetin ile kombine uygulama sonucunda BPF'nin oluşturduğu toksik etkinin azaldığını ortaya koymaktadır. Kersetin bu durumda oksidatif stres üzerinde antioksidan bir role sahip olarak öne çıkmaktadır.

Tablo 4.10. BPF ve BPF+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri

Çalışma Grupları	ROS Oluşumu (kontrole göre %)
Kontrol	100,0 ± 3,59[a]
Q	97,6 ± 3,96[a]
BPF	110,0 ± 5,30[b]
BPF+Q	98,9 ± 3,98[a]

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a, b] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).



Şekil 4.10. BPF ve BPF+Q İçin Hücre İçi ROS Düzeyleri

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a, b] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).

4.3. Total Glutatyon Düzeylerinin Belirlenmesi

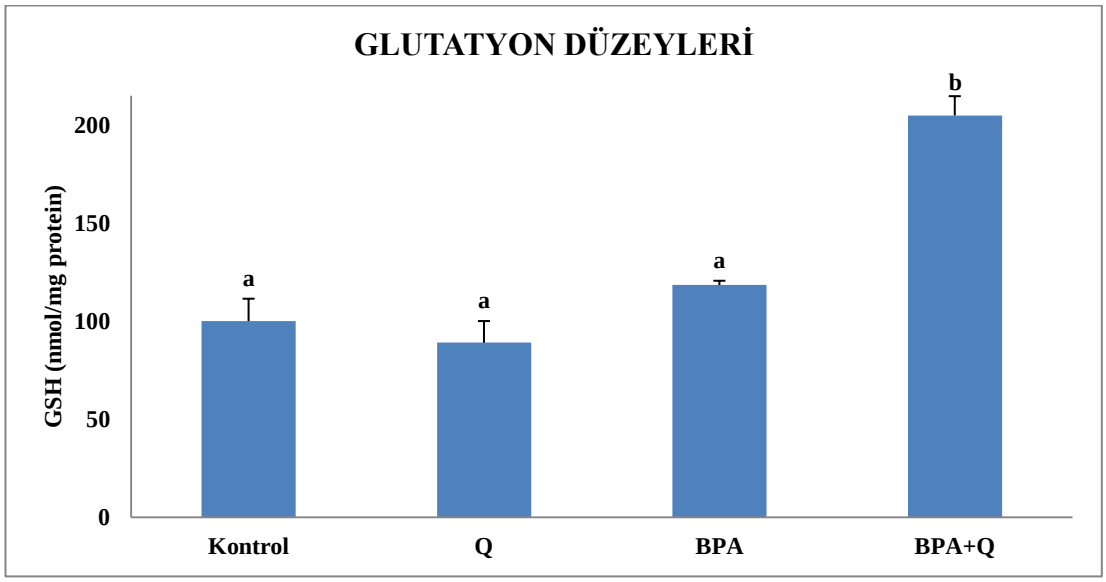
Çalışma grupları olarak BPA, BPA+Q, BPF, BPF+Q, Q ve kontrol kullanılmış, kersetin ile kombine uygulamanın GSH düzeylerine olan etkisi değerlendirilmiştir. Kontrol grubuna kıyasla BPA uygulamasının %18 oranında GSH seviyelerini arttırdığı görülmektedir. Bu durum BPA'nın neden olduğu oksidatif stres karşısında

hücrelerdeki antioksidan mekanizma yanıtı olarak GSH seviyelerinin artması şeklinde açıklanabilir. Kersetin grubunda GSH düzeyleri kontrol grubuna kıyasla %11 daha düşük bulunmuştur. Bu durumda, kersetinin antioksidan etkinliğinin oksidatif yükü azaltarak GSH tüketiminde düşüşe neden olduğu söylenebilir. BPA+Q grubunda ise GSH düzeylerinde belirgin bir artış gözlenmiş olmakla birlikte bu artışın BPA'nın etkilerini baskılamaya yönelik bir yanıt olduğu düşünülmektedir.

Tablo 4.11. BPA ve BPA+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri

Çalışma Grupları	Glutatyon Düzeyleri (nmol/mg protein)
Kontrol	100,0 ± 11,45[a]
Q	89,0 ± 11,05[a]
BPA	118,4 ± 2,20[a]
BPA+Q	204,9 ± 9,84[b]

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a, b] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).



Şekil 4.11. BPA ve BPA+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri

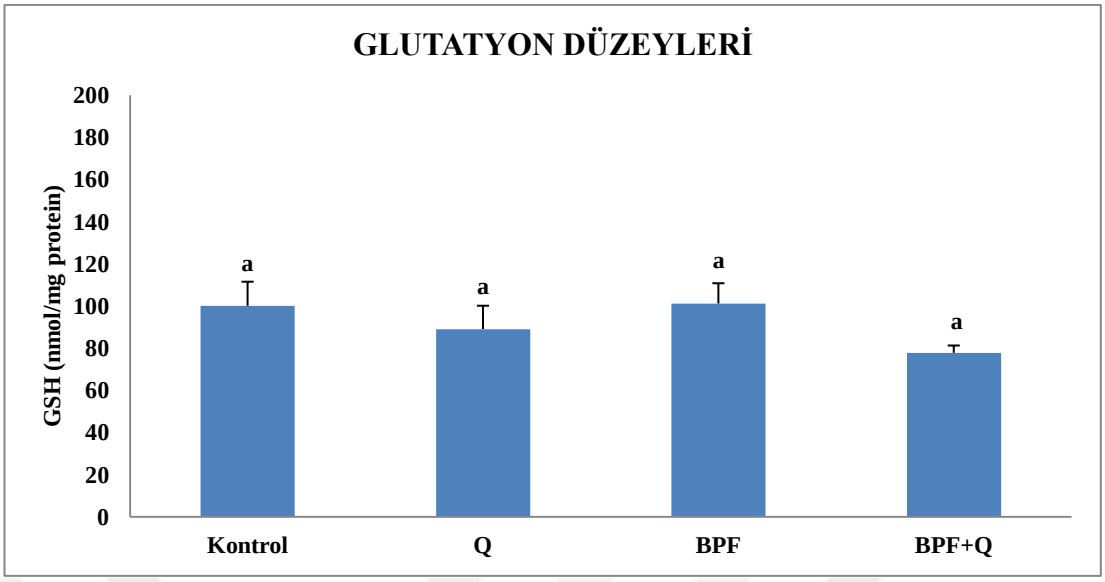
Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a, b] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).

Benzer şekilde BPF uygulaması sonucunda GSH düzeylerinin kontrol grubuna kıyasla hafif düzeyde arttığı görülmektedir. Ancak BPF+Q gruplarında GSH düzeylerinin %23 gibi bir oranla anlamlı bir düzeyde azaldığı gözlenmektedir. Bu azalmanın nedeni olarak kersetinin BPF'nin oluşturduğu oksidatif hasarı dengeleyerek Glutatyon mekanizmalarının yükünü azaltması olduğu söylenebilir. BPA ve BPF ile kombine uygulamaların her ikisinin sonuçları genel olarak ele alındığında, azalan GSH düzeyleri kersetinin hücre içi redoks dengesini koruyucu bir etkisi olduğu yönündeki söylemleri destekler niteliktedir.

Tablo 4.12. BPF ve BPF+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri

Çalışma Grupları	Glutatyon Düzeyleri (nmol/mg protein)
Kontrol	100,0 ± 11,45[a]
Q	89,0 ± 11,05[a]
BPF	101,1 ± 9,62[a]
BPF+Q	77,7 ± 3,48[a]

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).



Şekil 4.12. BPF ve BPF+Q İçin Total Glutatyon Düzeyleri

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur ($p>0,05$).

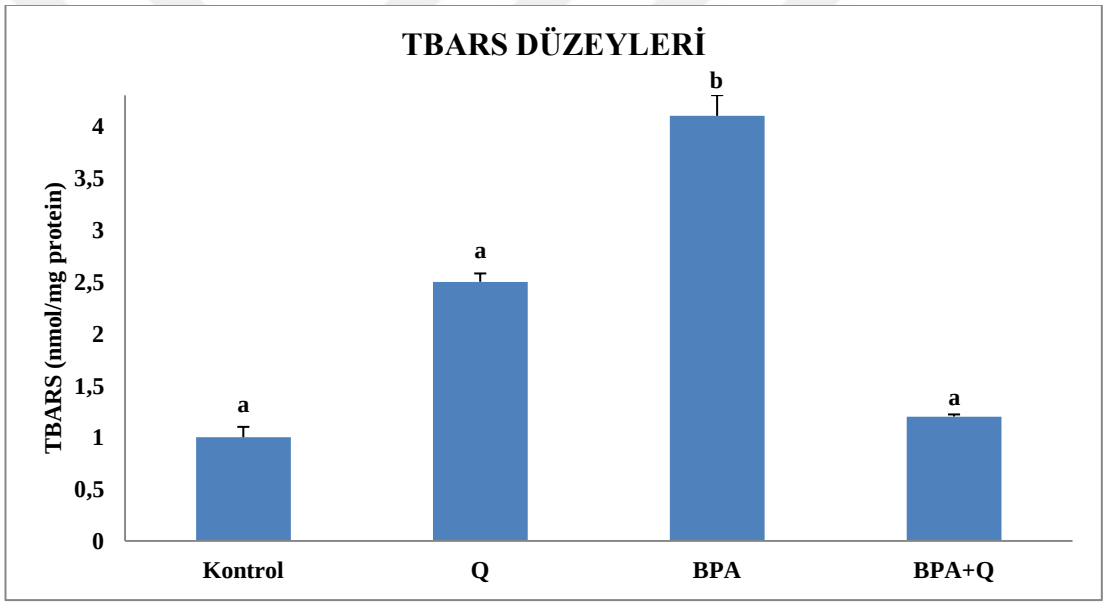
4.4. Lipit Peroksidasyonunun Belirlenmesi

Yapılan çalışmada BPA, BPA+Q, BPF, BPF+Q ve kontrol çalışma grupları üzerinde TBARS düzeyleri değerlendirilmiştir. BPA grubu kontrol grubu ile karşılaştırıldığında TBARS miktarların 4,1 kat olarak anlamlı bir artışı gözlenmektedir ($p<0,0001$). Bu durum BPA'nın oksidatif stres oluşturarak lipid peroksidasyonunu artıcı bir etkinliği olduğunu göstermektedir. Kersetin uygulanan grupta ise düzeylerde kontrol grubuna kıyasla anlamlı bir artış saptanamamıştır. Bu, kersetinin hücrelerde oksidatif hasara oluşturmayan bir profile sahip olduğunu düşündürmektedir. BPA+Q grubunda ise TBARS düzeylerinin BPA grubuna göre anlamlı bir şekilde azaldığı ve kontrol grubunun değerleri ile benzer oranlara sahip olduğu görülmektedir. Sonuçlar kersetin ile kombine uygulamanın hücrelerde BPA nedenli oksidatif stresi azaltan koruyucu bir etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

Tablo 4.13. BPA ve BPA+Q İçin TBARS Düzeyleri

Çalışma Grupları	TBARS Düzeyleri (nmol/mg protein)
Kontrol	1,0 ± 0,99[a]
Q	2,5 ± 0,70[a]
BPA	4,1 ± 1,81[b]
BPA+Q	1,2 ± 0,09[a]

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a,b] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).



Şekil 4.13. BPA ve BPA+Q İçin TBARS Düzeyleri

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a,b] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).

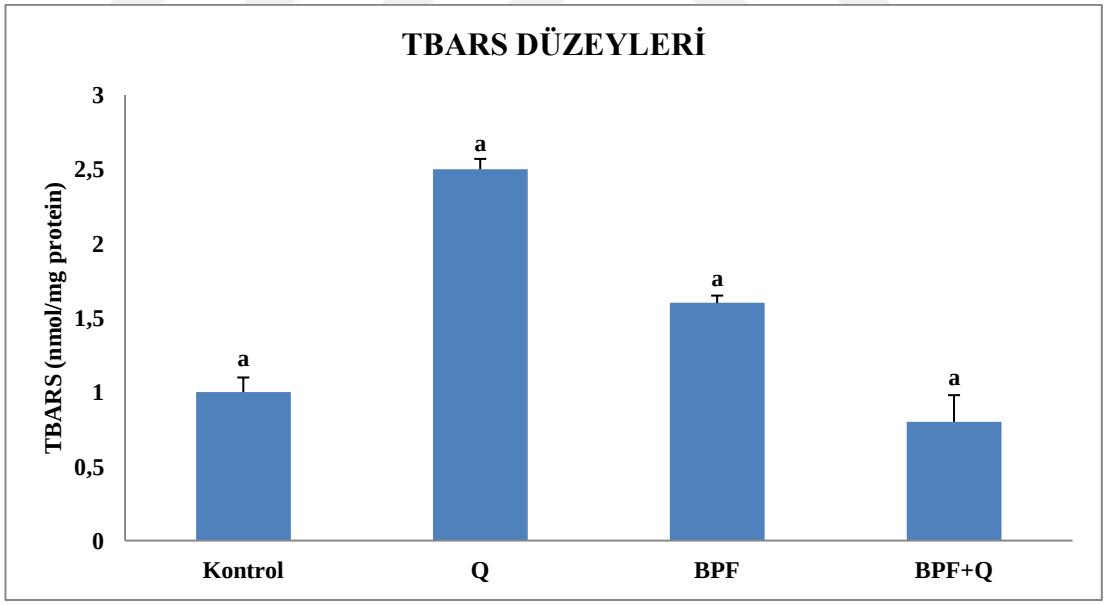
BPF gruplarında ise sonuçlar istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığını göstermektedir (p>0,05). Ancak grup ortalamaları ele alındığında BPF grubu için ölçülen TBARS değerlerinin kontrol grubuna kıyasla sınırlı bir artış gösterdiği görülmektedir. Kersetin ve BPF+Q gruplarında ise TBARS seviyelerinin kontrol grubuna benzer düzeylerde seyrettiği ve anlamlı bir artış gerçekleştirmediği görülmektedir. Bu sonuçlar, kersetinin BPF'nin oluşturduğu lipid peroksidasyonu

üzerinde yeterli bir etkinlik gösteremediği yönünde yorumlanabilir. Ancak BPF'nin BPA'ya kıyasla daha az oksidatif stres potansiyeli olduğu düşünüldüğünde, literatür de göz önüne alınarak BPF'nin BPA'dan daha az toksik bir etki göstermesi verilerle de örtüşmektedir.

Tablo 4.14. BPF ve BPF+Q İçin TBARS Düzeyleri

Çalışma Grupları	TBARS Düzeyleri (nmol/mg protein)
Kontrol	1,0 ± 0,99[a]
Q	2,5 ± 0,70[a]
BPF	1,6 ± 0,5[a]
BPF+Q	0,8 ± 1,48[a]

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).



Şekil 4.14. BPF ve BPF+Q İçin TBARS Düzeyleri

Tüm değerler ortalama ± standart sapma olarak verilmiştir. [a] Aynı harfi taşıyan gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı fark yoktur (p>0,05).

5. TARTIŞMA

Endokrin sistem, hormonlar aracılığı ile vücuttaki mekanizmaların işleyişinde görevlidir. Bu olaylarda görevli olan hormonların sentezlenmesinin, etki potansiyellerinin ve metabolizmalarının etkilenmesi durumunda çeşitli sorunlar ve hastalıkların görülebilmektedir (Zoeller ve ark., 2012). Günümüzde birçok alanda Bisfenol A gibi endokrin bozuculara maruz kalınabilmektedir. Polikarbonat plastiklerin ve epoksi reçinelerin üretiminde yer alan bir kimyasal madde olarak, günlük hayatta plastik malzemelerin kullanıldığı her alanda karşılaşılabilir Son yıllarda özellikle ambalaj kaplamalarında kullanımı dolayısıyla etkileri üzerinde durulmaktadır (Cimmino ve ark., 2020). Günlük hayatta maruziyet ayrıca küçük çocukların kullandıkları eşyalar açısından da önem taşır. Özellikle gelişim sürecinde olan ve dış etkenlerden daha yoğun ve çabuk etkilenebilen bebeklerin kullandıkları eşyaların içeriğinde bisfenol bulunmaması gerekmektedir (Jeon, 2022).

Çalışmalar oral, dermal ve inhalasyon ile gerçekleşen maruziyet ile vücutta yüksek BPA konsantrasyonlarına rastlanıldığını göstermektedir (Rolfo ve ark., 2020). Bu durum üreticileri alternatif madde arayışına yöneltmiştir. Ancak türevlerinin BPA ile olan yapısal benzerlikleri, etki potansiyelleri yönünden benzerliğe sahip olup olmadıkları yönünde çalışmalara neden olmaktadır (Rochester, 2013).

Bisfenoller östrojen hormonu ile kimyasal ve yapısal benzerlikleri nedeniyle insan vücudu üzerinde östrojenik bir aktiviteye neden olabilir. Çeşitli çalışmalarda ise oksidatif hasar gelişiminde rol aldığı ve oksidatif stres parametrelerini etkilediği bilinmektedir (İyigündoğdu ve ark., 2020). Yüksek konsantrasyonlarının görüldüğü durumlarda östrojenik aktivitelerine bağlı olarak erkek ve dişi üreme sistemlerinde görülen birçok hastalık ve soruna yol açabilirler (Tomza-Marciniak ve ark., 2018). Özellikle dişi üreme sistemi organları üzerinde hasara neden olabilir. Bunlar arasında oksidatif hasar gelişimi ile endometrial duvar kalınlığında artışa neden olduğu ve endometriozis hastalarında yüksek miktarlarda BPA seviyelerine rastlanıldığı bilinmektedir (Cobellis ve ark., 2009). Yumurtalıklarda görülen bir başka sorun olan PCOS'ta ise yumurtalıklarda kist gelişimini tetikleyebildiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yumurtalıkları etkilemeleri özellikle ilerleyen dönemlerdeki fetüs oluşumunu olumsuz yönde etkileyebilir. Fetüs oluşumu sürecinde ayrıca fetüsün

rahimde tutunmasında ve gelişiminde toksik etkileri nedeniyle görülebilecek sorunlar, yenidoğanda fiziksel deformitelere ve malformasyonlara neden olabilmektedir (Homburg, 2009).

Üreme sistemi haricinde diğer metabolik rahatsızların gelişimi be ilerlemesinde rol alabilir. Diyabet, obezite ve tiroide bağlı olarak görülebilecek gelişimsel sorunlarda artmış BPA miktarları ile doğru orantılı görülebilmektedir (Pérez-Bermejo ve ark., 2021). Bunlara ek olarak ileriki dönemlerde görülebilen davranış sorunlarının da BPA'nın nörogelişimsel mekanizmaları etkilemesi kaynaklı olduğuna dair araştırmalar mevcuttur (Braun, 2017).

BPF'nin yapısal benzerlikleri dolayısıyla BPA'ya benzer bir toksik etki listesine sahip olduğu düşünülmektedir. Ancak potansiyel bir alternatif olarak üretilmiş olması göz önüne alındığında, BPA'ya kıyasla daha düşük bir yan etki profili olduğu görülebilir (Rocha ve ark., 2016). Metabolik etkileri benzer olmakla birlikte zebra balıklarında yapılan bir çalışma nörotoksik potansiyelini de göstermektedir (Gu ve ark., 2022).

Flavanoidler günlük hayatta birçok farmasötik ürün içerisinde bulunabilmektedir. Özellikle antioksidan ve antiinflamatuar etkileri nedeniyle hücresel fonksiyonlarını düzenlemeleri yönünden kullanımları tercih edilmektedir (Gadhwal ve ark., 2011). Kersetin, soğan, lahana, çay gibi bitkilerin içeriğinde yoğun olarak bulunabilen bir bileşiktir. Günlük alımı 50- 800 mg arasında olarak belirtilmektedir. Gıda takviyesi olarak alınabilmesinin yanı sıra tedavi olarak da kullanılabileceği yönünde çalışmalar mevcuttur (Y. Li ve ark., 2016).

Özellikle diğer antioksidan flavanoid bileşikleri ile kullanıldığında oksidatif hasar gelişimini önlemekte iyi bir potansiyeli olduğu görülmektedir (Priyanga K & K, 2017). Bunlara ek olarak yine oksidatif hasar önlemesi yönünde proliferasyonu engellediği ve hasarlı hücrelerde apoptozu tetiklediğine yönelik çalışmalar bulunmaktadır (Mirza-Aghazadeh-Attari ve ark., 2020). Kersetinin BPA hasarı üzerindeki iyileştirici etkisini gösteren bazı çalışmalar bulunmaktadır. Bu çalışmalar sıklıkla kersetinin antioksidan kapasitesi üzerinde durmakla birlikte, hücre hasarını engellemesi veya bazı durumlarda kanser hücrelerinde proliferasyonu azaltıcı bir etki göstermesi de belirtilmektedir (García-Gutiérrez ve ark., 2023). *in vivo* araştırmalar çerçevesinde ise BPA maruziyeti sonucunda böbrek ve karaciğerlerde gerçekleşen

oksidatif hasarın kersetin uygulamaları sonucunda önlenebileceği gösterilmektedir (Mahdavinia ve ark., 2019; Sangai ve ark., 2014).

Bu tez çalışmasında BPA ve türevi BPF'nin CHO hücre hattı üzerinde görülebilecek olası toksik etkileri ve kersetinin antioksidan özellikleri üzerinden BPA ve BPF toksisitesinde görülebilecek koruyucu etkinliği kontrol grupları ile karşılaştırılmalı olarak incelenmiştir. CHO hücrelerine uygulanan kersetin, BPA ve BPF kimyasal maddelerinin farklı konsantrasyonlarda sitotoksik etkileri incelenmiş olup IC_{50} ve IC_{30} dozları belirlenerek IC_{30} dozları üzerinden oksidatif stres parametreleri bu dozlar ele alınarak değerlendirilmiştir. BPA'nın özellikle dişi ve erkek üreme sistemi üzerinde toksik etkilere sebep olduğu bilinmektedir. Dişi üreme sisteminde etkiye açık olan bir etki alanı da yumurtalıklardır. BPA ve BPF'nin hasar gerçekleştirme potansiyeli ele alındığında sunulan bu çalışmada sağlıklı yumurtalık hücreleri kullanılarak bir değerlendirme yapılmıştır.

BPA'nın *in vivo* ve *in vitro* çeşitli hayvan deneklerden veya insanlardan elde edilen hücrelerden yapılmış çalışmaları mevcuttur. CHO hücreleri ile yapılan çalışmalar ise sınırlıdır. Ancak çeşitli yumurtalık hücrelerinde yapılan çalışmalar sayesinde potansiyel bir etki konsantrasyonu hakkında değerlendirme yapılabilir. Bununla birlikte BPA ve türevlerinin bir arada kullanıldığı çalışmalar da yumurtalık hücreleri özelinde az sayıdadır.

Huang ve arkadaşlarının (Huang ve ark., 2020) gerçekleştirdiği bir çalışmada KGN insan granüloza hücreleri kullanılmış olup, BPA ve türevlerinde BPF, BPS ve BPAF'nin hücre canlılığına olan etkisi gösterilmektedir. CCK-8 metodu kullanılarak hücreler bisfenol türevlerine 0 - 0,1 -1 - 10 ve 100 µM dozlarında 24 saat süreyle maruz bırakılmıştır. Yüksek doz olarak çalışılan 100 µM konsantrasyonlarında özellikle BPA uygulanan gruplarda hücre canlılığında anlamlı bir düşüş görülmektedir ($p<0,05$). BPF' de ise bu azalma daha düşük bir seviyede olmuştur. Bu durum BPF'nin BPA' ya kıyasla daha güvenli bir alternatif olduğu bilgisiyle örtüşür. Bu tez kapsamında sunulan çalışmada ise hücre canlılığı BPF uygulana gruplarda BPA gruplarına kıyasla daha yüksek görülmüş olup bu kanıyı destekler niteliktedir.

Xu ve arkadaşlarının (2002) gerçekleştirildiği bir çalışmada ise BPA'nın yumurtalık granüloza hücreleri üzerinde hücre döngüsü basamakları ve apoptoz

üzerindeki etkileri gösterilmektedir. MTS testi kullanılarak hücre canlılığının belirlendiği bu çalışmada hücre canlılığı 24, 48 ve 72 saatlerde değerlendirilmiş olup, en anlamlı olarak 100 µM konsantrasyonunda zamana bağlı bir şekilde kontrole kıyasla %45 oranında düşüş gösterdiği görülmüştür ($p<0,05$). Bu değerler tez çalışmasında 24 saat maruziyet gerçekleştirilmiş BPA uygulanan hücrelerdeki canlılık oranlarının azalma konsantrasyonları ile benzerlik göstermektedir.

Sağlıklı epitelyel hücrelerde yapılan çalışmalar ise sınırlı olmakla birlikte daha çok genotoksiste potansiyelini değerlendirmektedir. Xin ve arkadaşlarının (2015) yaptığı bir çalışmada BPA'nın kullanılan CHO hücreleri üzerindeki sitotoksik etkileri genotoksik potansiyelleri de göz önüne alınarak değerlendirilmiştir. CHO hücre hattı üzerinde hücre canlılığı bu çalışmada MTT testi kullanılarak incelenmiştir. 12 ve 24 saatlik süreçlerdeki etkileri belirlenmiş olup, 40, 80, 100 ve 120 µM konsantrasyonları çalışılmıştır. 40 µM düşük doz olarak belirlenmiş konsantrasyonda hücre canlılığı %150 geçerek belirgin bir artış gösterirken 80-120 µM konsantrasyon aralıklarında anlamlı bir düşüş gözlenmektedir ($p<0,05$). Sunulan tez çalışmasında ise, CHO hücre hattında 24 saat BPA maruziyeti sonucunda IC_{50} konsantrasyonu olarak 105 µM belirlenmiş olup IC_{30} konsantrasyonu 50 µM olarak ele alınmıştır. Sonuçlar daha önceki çalışmada bulunmuş olan sonuçlar ile uyumlu olup, düşük konsantrasyonların hücre canlılığını artıcı bir etkisi olabileceği yönündedir.

Kersetinin yumurtalık hücrelerinde uygulanmasını değerlendiren çalışmalara sınırlı sayıdadır. Var olan çalışmalar incelendiğinde, Hashemzaei ve arkadaşları tarafından 2017'de yapılan bir çalışmada, çeşitli hücre hatlarında kersetinin antikanser ve apoptoz indükleyici etkileri incelenmiştir. Hücre canlılığı MTT testi ile değerlendirilmiş olup 10, 20, 40, 80 ve 120 µM konsantrasyonlarında 24, 48 ve 72 saatlik süreçlerde maruziyet gerçekleştirilmiştir. Çalışılan kanser hücre hatlarında 24 saat maruziyetin hücre canlılığını azaltıcı bir etki gösterirken CHO hücrelerinde en yüksek konsantrasyon olan 120 µM'nin hücre canlılığında belirgin bir azaltmaya neden olmadığı görülmektedir. Ancak tüm hücre hatlarında zamana bağlı olarak hücre canlılığından anlamlı bir düşüş görülmektedir. Sunulan tez çalışmasında IC_{50} değeri olarak bulunan 175 µM 24 saat süre maruziyet

uygulandığı göz önüne alındığında anlamlı bir değer olarak söylenebilir.

Yumurtalık kanser hücre hattı PA-1 de gerçekleştirilmiş bir başka çalışma da Teekaraman ve arkadaşları (2019), MTT testi ile 0, 0.1, 1, 5, 10, 25, 50, 75, 100, 125, 150, 200 µM konsantrasyonlarında kersetine 24 saat ve 48 saat maruz bırakarak hücre canlılıkları ölçülmüştür. IC_{50} değerleri 24 saat için 75 µM olarak belirlenmiştir. Sunulan tez çalışmasında bu değer 175 µM bulunmakla birlikte, çalışılan hücre hattının sağlıklı yumurtalık hücresi olması nedeniyle daha yüksek bir dayanıklılık sahip olduğu düşünülebilir.

Kersetinin sitotoksik kapasitesinin değerlendirildiği bir başka çalışma ise Metodiewa ve arkadaşları (1999) tarafından gerçekleştirmiştir. Bu çalışmada kersetinin CHO hücreleri üzerinde maruziyetinin neden olduğu hücre canlılığı tripan mavisi testi ile değerlendirilmiştir. 100, 200, 300, 400 ve 500 µM konsantrasyonları ele alınan bu çalışmada 200 µM 'nin üzerindeki konsantrasyonlarda kersetin, CHO hücrelerinin canlılığını önemli ölçüde etkilediği görülmektedir. Yapılan tez çalışmasında çeşitli konsantrasyonlar çalışılmış olup, 5, 10, 20, 50, 100, 200, 400, 800 µM konsantrasyonları çalışmış olmakla birlikte IC_{50} değeri olarak 175 µM değerinin belirlenmesi sonucunda Metodiewa ve arkadaşlarının çalıştığı konsantrasyon aralıkları örtüşmektedir. BPA veya BPF'nin kersetine kombine maruziyetlerin değerlendirilmesi çoğunlukla canlı dokularında ve *in vivo* olarak gerçekleştirilen çalışmalar ile sınırlıdır. Ancak genel kanı kersetinin gelişen hasarı iyileştirici yönde bir etkisi olduğunu yönündedir. García-Gutiérrez ve arkadaşlarının (2023) HT-29 kolon kanser hücrelerinde kersetinin BPA üzerine etkilerini değerlendiği bir çalışmada, hücre canlılığının BPA+Q gruplarında kersetine kıyasla benzer olduğu görülmektedir ($p<0,05$). Yapılan *in vivo* çalışmalar sonucunda elde edilen veriler ise kersetinin BPA ve BPF'nin canlı dokularında oluşturduğu hasarı iyileştirici yönde bir etkisi belirtir niteliktedir (Jain ve ark., 2024; Koçak, 2023).

Sunulan tez çalışmasında ise MTT yöntemiyle kersetin, BPA ve BPF ile 24 saat inkübasyon gerçekleştirilmiş hücrelerde, 3 saat öncesinde kersetin uygulanmış hücrelerdeki etkisi BPA ve BPF'nin hasarına yönelik koruyuculuğu ile değerlendirilmektedir. IC_{30} konsantrasyonda BPA ve BPF maruziyeti sonucunda kersetin ile preinkübe edilmiş bu hücrelerden elde edilen bulgular sonucunda,

BPA'nın kontrole oranla hücre canlılığında %34,05 azalma gösterdiği görülmektedir. Kersetin ile kombine uygulama sonucunda ise hücre canlılığı %74,69 olarak bulunmuş olup, CHO hücrelerinde BPA kaynaklı sitotoksisiteye karşı anlamlı düzeyde koruyucu etki gösterdiği söylenebilir. BPF maruziyeti ele alındığında ise hücre canlılığı sadece BPF uygulanan gruplarda %49,73 olarak bulunmuş olmakla birlikte BPF+Q uygulaması sonucunda bu oranın %71,6 olarak arttığı görülmektedir.

Bu durum, literatürde görülen BPA'nın toksisitesini azaltmaya yönelik üretilen türevlerinden olan BPF'nin daha az toskik etki göstermesi özelliği ile eşleşmektedir. BPA'nın BPF'ye kıyasla daha yoğun bir sitotoksik etki göstermesi kersetinin antioksidan ve sitoprotektif etkisinin BPA+Q uygulaması yapılan hücrelerde daha belirgin bir şekilde görülmesi ile belli olur. Ancak BPF'nin düşük toksik etkileri nedeniyle kersetinin BPF uygulanan hücrelerde etkisi istatistiksel olarak anlamlı olarak değerlendirilememektedir. Bu durum göz önüne alındığında kersetinin koruyucu özelliğinin ve sitoprotektif etkisinin doza bağımlı olduğu kadar maruziyeti için uygulanan toksik ajanın şiddetine ve hücresel yanıtın büyüklüğüne bağlı olduğu da söylenebilir. Bu çalışmadan elde edilen veriler, kersetinin endokrin bozucu kimyasal maddelerden BPA ve BPF maruziyetinde potansiyel bir sitoprotektif ajan olarak ele alınabileceğini göstermektedir. Ancak bu değerlendirmenin etkin bir şekilde yapılabilmesi için toksik maddelerin toksikolojik profilleri doğrultusunda daha ayrıntılı çalışmaların gerçekleştirilmesi gereklidir.

BPA ve türevlerinin çeşitli hücrelerde oksidatif strese neden olabildiği yapılan çalışmalar sonucunda bildirilmektedir (Ding ve ark., 2022; Nguyen ve ark., 2022; F. Xin ve ark., 2014). Bisfenollerin oksidatif hasar potansiyelinin ROS indüksiyonu gerçekleştirme yönünden değerlendirildiği çalışmalar çeşitlidir. Gerçekleştirilen çalışmalar ise birçok farklı hücre türünde DCFH-DA kullanılarak floresansın ölçülmesi ile yapılmıştır.

Piao ve arkadaşlarının (2019) çalışmasında BPA'nın L-02 hepatositlerindeki oksidatif stres üzerine etkisi değerlendirilmiştir. Bu çalışmada ROS düzeyleri 0,1 μM-100 μM dozlarında 6 saat boyunca BPA'ya maruz bırakılması sonucunda DCFH-DA probu ile ölçülmüştür. Doza bağlı ROS seviyesi de artışı

değerlendirilmiş olup, yüksek konsantrasyonlarda artmış ROS düzeyleri gözlemlendiği belirtilmektedir. Özellikle 100 μM dozunda, hepatositlerin ROS seviyelerinin kontrol gruplarına göre %185 yükseldiği görülmektedir ($p<0,01$). Bu sonuçlar, BPA'nın hepotositlerde oksidatif stres gelişimini tetikleyebileceğini gösterir.

Huang ve arkadaşlarının (Huang ve ark., 2020) yaptığı çalışmada insan granüloza kanser hücre hattı olan KGN hücrelerinde farklı konsantrasyonlarda BPA, BPS, BPF ve BPAF maruziyeti gerçekleştirilmiştir. Bu hücrelerde oluşan oksidatif stres ve hücre içerisindeki ROS üretim seviyelerindeki değişiklikleri belirlemek için DCFH-DA floresan probu kullanılmıştır. Elde edilen sonuçlar, bu hücrelerdeki ROS üretiminin uygulanan bisfenol konsantrasyonlarına bağlı olarak değiştiğini göstermektedir. 24 saat süresince hücreler farklı konsantrasyonlarda BPA, BPS, BPF ve BPAF'ye (0, 0,1, 1, 10 ve 100 μM) maruz bırakılmıştır. BPA grubunda kontrol grubuna kıyasla 100 μM miktarlarında belirgin bir ROS artışı görülürken BPF grubunda 100 μM miktarında bu artış göreceli olarak daha az miktardadır ($p<0,05$).

Biswas ve arkadaşlarının (2020) gerçekleştirdiği bir araştırmada ise *in vitro* hücre içi ROS oluşumu belirlenmesi için dişi zebra balıklarından elde edilen foliküler hücreler DCF-DA boyama ile floresansları ölçülerek kullanılmıştır. Yumurtalık folikülleri alınarak 24 saat artan BPA dozlarına (0,1, 1, 10 ve 100 μM) maruz bırakılmıştır. BPA maruziyetinin yumurtalık ROS sentezi ve oksidatif stres üzerindeki etkileri, foliküler hücrelerde ROS üretiminin kontrol gruplarına kıyasla belirgin bir şekilde artması ile görülmektedir. Ölçülen ROS miktarlarına bağlı floresans yoğunluğu, en düşük doz olan 0,1 μM uygulanması sonucunda bile kontrole göre artarken 100 μM konsantrasyonunda en yüksek değere ulaştığı görülmektedir ($p<0,05$). Fare fibroblastlarında 24 saat süresince 150 μM BPA uygulamasını ele alan bir çalışmadaysa ROS seviyelerinin floresansı BPA gruplarında belirgin olarak görülmektedir ($p=0,002$) (Gassman ve ark., 2015).

Kersetinin antioksidan bir etki profiline sahip olduğunu gösteren *in vitro* çalışmalar sınırlı olmakla birlikte canlı dokuların incelendiği çalışmalar, kersetinin yumurtalık hücrelerinde görülebilen çeşitli sorunlar varlığında ROS miktarlarını azaltıcı bir etki gösterdiğini belirtmektedir (Y. Chen ve ark., 2022; Duan ve ark.,

2024). Joo Sul ve arkadaşları (2021) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada ise A549 hücreleri kullanılmış olup, lipopolisakkarit ile indüklenmiş hücre hasarı değerlendirilmiştir. 10 μM dozunda uygulanan kersetinin antioksidan etkisi floresans olarak ölçülmüş olup, kersetin ile kombine uygulama gerçekleştirilen hücrelerde belirgin bir ROS azalması görülmektedir ($p<0,001$). Bu çalışmaların bazıları BPA ve türevlerinin oluşturdu hasarı iyileştirici yöndedir (Sangai ve ark., 2018). Ancak kersetinin antioksidan etkilerinin ölçülmesinde floresans ROS miktarını inceleyen ve yumurtalık hücreleri kullanılarak gerçekleştirilmiş az sayıda çalışma bulunmakla birlikte bu tür hücrelerde gerçekleştirilmiş *in vitro* bir çalışmaya rastlanılmamıştır (Y. Chen ve ark., 2022; Duan ve ark., 2024). Ancak bu tür çalışmalardaki genel kanı, kersetin ve bisfenollerin kombine etkisinin değerlendirildiği diğer tür çalışmalarda ise sonuçlar kersetinin koruyucu etkisini gösterir niteliktedir. Tüm çalışmalarda BPA uygulanan grupların ROS ölçümleri kontrole kıyasla belirgin derecede yüksek bulunurken BPA+Q uygulanan gruplarda ise bu oranın azaldığı gösterilmektedir (Mahdavinia ve ark., 2019; Shirani ve ark., 2019; Vanani ve ark., 2020).

Bu tez çalışmasında elde edilen değerler ise BPA grubunun kontrol grubuna kıyasla %10 oranında ROS düzeylerinde anlamlı bir artış olduğunu gösterir ($p<0,001$). BPA'nın oksidatif stres oluşturucu etkisi literatüre göre anlamlı olarak değerlendirilebilir. Kersetin grubunda ise %3 oranında bir ROS üretimi artışı görülmektedir ($p>0,05$). Kersetin ve BPA uygulamasında ise kersetinin antioksidan etkinliği ROS düzeylerinin %5 oranında azaltarak kendini gösterdiği ortalamalar ele alınarak söylenebilir. Ancak fark kontrol grubuna kıyasla istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$). BPF ve BPF+Q gruplarında yapılan değerlendirmelerde ise gruplar arasında istatistiksel olarak anlamlı farklılıklar gözlenmektedir ($p<0,05$). BPF için kontrol ve Q gruplarına göre sırasıyla %10 ve %13,4 oranlarında ROS artışı gözlenmektedir ($p<0,001$). BPF+Q gruplarında kontrol ve Q gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark görülmemekle birlikte ($p>0,05$) BPF'nin tek başına oksidatif stres oluşturabileceği, kersetinin ise antioksidan etkisi ile toksik etkinin azalttığı söylenebilir.

GSH, hücreleri oksidatif hasardan koruyucu mekanizma bileşiklerindedir. Glutatyon seviyelerinin azalması durumunda hücrelerdeki koruyucu

mekanizmaların çalışması etkilenerek hücreyi hasara açık bir hale getirmektedir. BPA'nın oksidatif stres süreçlerinde etkili olduğu bilinmekle birlikte GSH seviyelerini azaltabileceğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Yapılan bu çalışmalarda BPA, BPF ve kersetinin yumurtalık hücreleri üzerinde GSH seviyelerini olan etkilerini birlikte değerlendiren *in vitro* bir çalışma bulunamamış olmakla birlikte, çeşitli hücrelerden elde edilmiş sonuçlar ışığında genel bir kanıya varılabilir.

Xin ve arkadaşlarının (2014) yaptığı bit çalışmada kullanılan INS-1 hücreleri üzerinde BPA'nın etkileri incelenmiştir. 24 saat süresince BPA'ya çeşitli dozlarda maruz bırakılan hücreler (25, 50, 100 μM) GSH seviyeleri ölçülmüştür. Bu çalışmaya göre çalışılan tüm konsantrasyonlar için hücre içi GSH seviyelerinde belirgin bir derece azalma olduğu belirtilmektedir. ($p<0,05$ veya $p<0,01$). Sertoli hücrelerinin kullanıldığı bir araştırma ise GSH seviyelerinin kontrole kıyasla düşük doz BPA maruziyetinde artabileceği göstermektedir ($p<0,05$) (Gualtieri ve ark., 2011). HEK hücrelerinde gerçekleştirilen bir çalışma ise 100 μM BPA maruziyetine uğramış hücrelerdeki GSH/GSSG oranlarının kontrole kıyasla %30 arttırdığı görülmektedir ($p<0,05$) (Chepelev ve ark., 2013). Yine Huang ve arkadaşlarının (2020) KGN hücreleri üzerinde gerçekleştirdiği çalışmada, BPA uygulamasına GSH miktarlarının kontrole oranla azaldığı, ancak BPF'nin aynı konsantrasyonlarda BPA kadar belirgin bir düşüşe neden olmadığı görülmektedir ($p<0,05$).

Fan ve arkadaşlarının (2020) ot sazanı yumurtalık hücreleri ile gerçekleştirdiği bir çalışmada BPA maruziyetinin neden olabileceği oksidatif stres araştırılmıştır. 30 μM BPA konsantrasyonunda GSH seviyelerinde azalma ve GSSG seviyesinde belirgin derecede artış görülmektedir. ($p<0,05$). GSH/GSSG oranları ise düşük doz olarak kullanılan 0,3 μM'de artmış bulunurken ve 30 μM'de azaldığı görülmektedir ($p<0,05$).

Kersetin uygulamaları ele alındığında ise, insan nöral SH-SY5Y hücrelerinin kullanıldığı bir çalışmada kersetinin H_2O_2 kaynaklı sitotoksisteyi azalttığı görülmüştür. 100 μM H_2O_2 uygulanan hücrelerdeki GSH seviyelerinin kontrol gruplarına kıyasla %42'si kadar azaldığı görülmekle birlikte 100 μM kersetin ve H_2O_2 maruz bırakılan hücrelerde GSH seviyesinin sadece H_2O_2 uygulana gruplar

kıyasla 1,3 kat arttığı görülmüştür ($p<0,01$) (Suematsu ve ark., 2011).

Kersetin, BPA ve BPF'nin birlikte ele alındığı *in vitro* bir çalışmaya rastlanamamakla birlikte sıçan karaciğeri doku örneklerinin değerlendirildiği çalışmalarda kersetin uygulamasının BPA ile olan gruplarda GSH seviyesini arttırdığı görülmektedir ($p<0,001$) (Mahdavinia ve ark., 2019). Başka bir çalışma benzer şekilde izole edilmiş sıçan böbrek mitokondrilerine uygulama yapılmıştır. Sonuçlar kontrol grubuna kıyasla BPA+Q grubunun GSH seviyelerinin belirgin derecede arttığını göstermektedir ($p<0,05$) (Shirani ve ark., 2019).

Tez çalışmasında elde edilen sonuçlar literatür ile benzerlik gösterir. Kontrol grubuna kıyasla BPA uygulamasının %18 oranında GSH seviyeleri arttırması, gelişen oksidatif stres karşı hücre antioksidan mekanizmalarının GSH miktarlarını tetiklemesi olarak belirtilebilir. Kersetin grubunun değerleri ise kontrol grubuna kıyasla %11 daha düşük bulunmuştur. Bu düşüş, kersetinin oksidatif yükü azaltarak kendiside bir antioksidan olan GSH tüketimini azalttığı yönünde açıklanabilir. BPA+Q grubunda ise GSH düzeylerinde belirgin bir artış gözlenmiş olmakla birlikte bu artışın BPA'nın etkilerini baskılamaya yönelik olduğu söylenebilir. BPF ise GSH düzeylerinin BPA'ya göre daha az arttırmakla birlikte BPF+Q gruplarında kontrole kıyasla %23 gibi bir oranla anlamlı bir düzeyde azaldığı görülmektedir. BPA ve BPF ile kombine uygulama sonucunda azalan GSH düzeyleri, kersetinin antioksidan etkinliği ile GSH düzeylerini etkilediği yönünde yorumlanabilir.

Lipit peroksidasyonu oksidatif hasara bağlı olarak gelişen serbest radikallerin salınması ile gelişir. Deneylerde MDA seviyeleri ölçülerek elde edilen TBARS düzeyleri bu hasarın belirlenmesinde belirteç olarak kullanılabilmektedir. Literatürün incelenmesi sonucunda BPA, BPF ve kersetinin lipid peroksidasyonuna olan etkinliğini değerlendiren kombine bir *in vitro* çalışmaya rastlanılmamakla birlikte BPA, BPF ve kersetinin kendi başlarına lipid peroksidasyon potansiyellerini ele alan çalışmalar mevcuttur.

Eritrosit hücrelerinde gerçekleştirilmiş olan bir çalışmada Sangai ve arkadaşları (2018) kersetinin BPA'nın neden olduğu hasar üzerindeki etkisi incelenmektedir. 25-150 µg/mL miktarlarında BPA uygulanan hücrelerdeki lipid peroksidasyon seviyeleri kontrol grubuyla karşılaştırıldığında artan konsantrasyonlarla birlikte arttığı görülmektedir. Artış en yüksek seviyeye 150 µg/mL dozunda gelmektedir. Kersetin

uygulaması gerçekleştirilen gruplarda ise 10-50 µg/mL miktarları kullanılmış olup, TBARS seviyelerinde BPA+Q grubu için azalma gözükmektedir ($p<0,001$). Moon ve arkadaşları (2012) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada, HEPG2 hücreleri incelenmiştir. 100 nM BPA uygulaması sonucunda MDA seviyelerinde maruziyet süresine bağlı bir artış görülmektedir. İnsan mezenkimal kök hücrelerinin kullanıldığı bir çalışmada ise, 250 µM BPA uygulanan hücrelerdeki MDA seviyeleri belirgin derece yüksek olduğu görülmektedir ($p<0,01$). Huang ve arkadaşlarının (2020) gerçekleştirdiği çalışma incelendiğinde ise MDA seviyelerinin BPA ve türevleri için yüksek olduğu ancak BPA ve BPF arasında belirgin bir fark görülmemekle birlikte BPA için daha yüksek olduğu söylenebilir ($p<0,05$). Hücreler için gerçekleştirilen çalışmalar haricinde doku örneklerinin incelendiği çalışmalarda da benzer sonuçlara rastlanılmaktadır. Biswas ve arkadaşlarının (2020) zebra balıklarının yumurtalıklarındaki BPA maruziyetini incelemesi sonucunda, MDA seviyelerinin kontrole kıyasla arttığı görülmektedir ($p<0,01$).

Kersetin uygulaması yapılmış sıçanlardan alınan yumurtalık ve rahim dokuları incelendiğinde ise kadmiyum kaynaklı oksidatif hasara karşı kombine uygulama sonucunda MDA seviyelerinin düştüğü görülmektedir ($p<0,001$) (Nna ve ark., 2017). Yine kersetinin oluşan oksidatif strese karşı etkinliğinin fare granüloza hücrelerinde incelendiği bir çalışmada kersetin uygulamasının siklofosfamid ile oluşturulan oksidatif hasar karşısında MDA seviyelerini azaltıcı bir etkisi olduğu görülmektedir (Y. Chen ve ark., 2022). Ancak bazı çalışmalar kersetinin metabolizmaya uğrayarak oksidan ürün oluşturabileceğini ve lipid peroksidasyonunu etkileyebileceğini göstermektedir (Metodiewa ve ark., 1999; Z. Wang ve ark., 2021).

Kersetin ve BPA için yapılmış çalışmalar çoğunlukla karaciğer veya böbrek doku örneklerinin incelenmesi ile gerçekleşmiştir. Sonuçlar BPA gruplarında MDA seviyelerinin arttığını, kersetin ve BPA'nın birlikte uygulandığı gruplarda ise BPA gruplarına kıyasla görülür bir şekilde azaldığını göstermektedir (Mahdavinia ve ark., 2019; Sangai ve ark., 2014). Bir başka çalışma sıçan böbrek mitokondrilerinde BPA'nın kontrole kıyasla MDA seviyelerini arttırdığı, BPA+Q gruplarında ise MDA seviyelerini belirgin bir şekilde düştüğünü göstermektedir (Shirani ve ark., 2019).

Bu tez çalışmasında lipid peroksidasyon değerleri TBARS konsantrasyonları ele alınarak incelenmiştir. BPA'da, kontrol grubuna göre 4,1 kat anlamlı bir artış gözlenmektedir ($p<0,0001$). BPA'nın oksidatif stres oluşturması yönünden bu sonuç beklenmektedir. Sadece kersetin uygulanan gruplarda değerlerde görülen artışın, kersetinin hücrelerde metabolik bir aktivasyona uğrayarak oksidan özellikli alt ürünlerinin açığa çıkması sonucunda oluştuğu düşünülmektedir. BPA+Q grubunda TBARS düzeylerinin kontrol grubu ile benzer olduğu görülmektedir. Bu sonuç, BPA'ya kıyasla daha düşük TBARS seviyesine sahip olması yönüyle kersetinin hücrelerde BPA kaynaklı oksidatif stresi azaltıcı bir koruyucu etki gösterdiğini ortaya koymaktadır.

BPF gruplarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark gözlenmemekle birlikte ($p>0,05$) BPF grubu TBARS değerleri kontrol grubuna göre düşük artış göstermektedir. BPF+Q gruplarında ise TBARS seviyelerinin kontrol grubuna benzer düzeylerde seyretmesi, kersetinin BPF üzerinde yeterli bir etkinlik gösterememesi olarak düşünülebilir. Sonuçlar genel olarak ele alındığında ise TBARS konsantrasyonları BPA, BPF'ye kıyasla daha yüksek bir lipid peroksidasyonuna göstermesi yönüyle ortaya çıkmaktadır.

6. SONUÇ

Yapılan tez çalışması sonucunda bisfenol A (BPA) ve bisfenol F (BPF) maddelerinin CHO hücrelerinde neden olduğu sitotoksisite ve oksidatif hasar potansiyeli değerlendirilmiş ve maddelerin oksidatif strese oluşturabileceği ortaya konulmuştur. Aynı zamanda kersetinin BPA ve BPF maruziyetindeki koruyucu rolü de ele alınmış olup, antioksidan etki gösterebileceği görülmüştür. MTT yöntemi hücre canlılığının belirlenmesi için uygulanmış olup aynı zamanda IC_{30} ve IC_{50} dozlarının belirlenmesi ile sonraki deneyler için esas alınacak IC_{30} doz konsantrasyonu elde etmek için kullanılmıştır. Deney sonucunda elde edilen IC_{50} miktarları sırasıyla BPA, BPF ve kersetin için 105 µM, 340 µM ve 175 µM olarak bulunmuştur. IC_{30} değerleri ise BPA için 50 µM, BPF için 85 µM ve kersetin için 110 µM bulunarak düşük konsantrasyon maruziyetini belirlemek amacıyla takip eden deneylerde bu miktarlar çalışılmıştır. BPA grupları kontrole göre %34,05 azalma gösterirken BPA+Q gruplarında kontrole kıyasla %74,69 olarak anlamlı olarak belirlenmiştir. BPF gruplarında kontrole göre %49,73 azalış, BPF+Q grubu ise kontrole göre %71,6 oranında bir artış gözlenmektedir. ROS düzeylerini belirlemek için yapılan test sonucunda BPA grubunda anlamlı olarak görülen %10 oranında bir artış vardır ($p<0,001$). BPA+Q'de ROS oranı kontrole kıyasla %5 azalış ile görülür ancak istatistiksel olarak sonuç anlamlı değildir ($p>0,05$). BPF'de oran kontrole göre %10 artarken ($p<0,001$) BPF+Q için anlamlı fark bulunamamıştır ($p>0,05$). Glutatyon seviyelerine bakıldığında, BPA'nın GSH seviyelerinde kontrole göre %18 artışı görülür. Q grubunda ise düzeyler %11 düşük bulunmakla birlikte BPA+Q grubunda belirgin bir artış gözlenmektedir. BPF+Q için değerler kontrole kıyasla %23 azalmaktadır. TBARS konsantrasyonu seviyeleri içinse BPA 4,1 kat anlamlı bir artış göstermektedir ($p<0,0001$). BPA+Q ve BPF+Q gruplarının her ikisi için kontrole benzer değerlere sahip olduğu görülmektedir.

Elde edilen veriler yumurtalık hücrelerindeki bisfenol maruziyetinin sitoksisite ve oksidatif hasara neden olabileceğini göstermektedir. Bitkisel bir antioksidan olan kersetinin ise bu hücreler üzerindeki koruyuculuğu çeşitli oksidatif stres parametreleri ele alındığında bisfenol maruziyetine bağlı oksidatif stres gelişiminde koruyucu bir potansiyeli olabileceği söylenebilir. İki bisfenolün CHO hücrelerindeki

etkileri değerlendirildiğinde, BPA'nın BPF'ye kıyasla daha yüksek bir toksisiteye sahip olduğu, hücre canlılığını belirgin derecelerde azaltabileceği ve ROS ve TBARS düzeylerini artırdığı gözlenmektedir. BPF BPA'ya kıyasla daha az sitotoksisite göstermektedir. Kersetin uygulaması sonucunda ise her iki bisfenol türü kaynaklı hasarın anlamlı ölçüde azaldığı ve özellikle ROS üretimi yönünden düzeylerin düştüğü görülmektedir. Glutatyon miktarlarını dengeleyerek lipid peroksidasyonunu azaltmıştır. Sonuçlara bakılarak kersetinin hücre içi redoks dengesini koruyucu bir role sahip olduğu söylenebilir. Bu yönüyle kersetin, çevresel toksin kaynaklı oksidatif stresin baskılanmasında etkili bir doğal antioksidan olarak ön plana çıkmaktadır.

7. ÖNERİLER

Bu çalışma, BPA ve türevi olan BPF'nin CHO hücrelerindeki toksik etkilerini ölçmek ve kersetinin bu maruziyet üzerindeki koruyuculuk potansiyelini belirlemek amacıyla gerçekleştirilmiştir. Elde edilen sonuçlar göz önüne alındığında BPA'nın yumurtalık hücrelerinde çeşitli oksidatif hasar mekanizmalarını tetikleyebileceği görülmektedir. Daha güvenli bir türev olarak üretilmiş olmasına rağmen BPF çoğu parametre için hasar potansiyeli göstermektedir. Endokrin bozucular günümüzde her gün maruz kalınabilecek toksik etkenler olarak geçmektedir. Özellikle bisfenollerin dişi üreme sistemi özelinde neden olabileceği çeşitli rahatsızlık ve sorunlar göz önüne alındığı taktirde bu maruziyetin ciddiyeti anlaşılmaktadır.

Dişi üreme sisteminin önemli bir parçası olan yumurtalıklar, fetüs oluşumunun düzgün bir şekilde gerçekleşebilmesinde etkili olmakla birlikte bu bölgede gelişebilecek her türlü hasar birey için yaşam boyu sürecek sıkıntılara yol açabilir. Endometriozis, PCOS ve yumurtalık kanseri gibi hastalıklar yaşam kalitesini etkileyerek bireylerde başka rahatsızlıklara neden olabilmektedir. Endokrin bozucu kimyasal maddeler ve özellikle BPA'ya maruziyetin azaltılması bu nedenle büyük önem taşımaktadır. BPF gibi türevler her ne kadar toksik etkilerin önlenmesi amacıyla türetilmiş olsa da yapılan araştırma ve literatür değerlendirmesi BPF'nin de toksik bir potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Toplumsal olarak bu tür maddelere maruziyetin azaltılması yönünden çalışmalar gerçekleştirilse de kişisel olarak alınabilecek önlemler sayesinde farkındalık ve korunma sağlanabilir. Özellikle plastik ürünlerin içeriğinde bulunması nedeniyle bu tür ambalaj ve kapların gıda maddeleri için kullanılmaması ve içeriğinde bisfenol ve türevleri bulunabilen kozmetik ürünlerin tercih edilmemesi sağlanarak kişisel maruziyet azaltılabilir. Aynı zamanda maddelerin kullanımı için çeşitli faktörleri ele alan ayrıntılı toksisite analizlerinin yapılması yasal düzenlemelerin gerçekleştirilmesi ve üreticilerin bu düzenlemeleri takip etmesinin sağlanması da maruziyeti toplumsal boyutta azaltan basamaklardandır. Doğal antioksidanlardan olan kersetinin, yapılan çalışma ele alındığında oksidatif stres gelişiminden koruyucu bir etkinlik gösterdiği görülmektedir. Bisfenol maruziyeti karşısında seviyeleri normal değerlere yaklaştırması literatür ile birlikte ele alındığında etkin bir antioksidan özelliği işaret

etmektedir. Kullanımda antioksidan takviyesi olarak da bulunan kersetinin çevresel toksinlere karşı koruyucu etkisinin daha ayrıntılı *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar ile incelenmesi önerilebilir. Daha geniş parametreler ele alınarak klinik olarak değerlendirilmesi ise kersetinin işleyen bir sistem üzerindeki etkinliğini belirlemek için önem taşımaktadır. Bu çalışma sonucunda BPA ve BPF için ayrıntılı güvenlilik ve risk değerlendirmeleri araştırmalarının gerçekleştirilmesi ve bisfenollerin yerini tamamen alabilecek alternatif maddelerin geliştirilmesinin gerekliliği görülmektedir. Kersetin için ise antioksidan etkilerinin sistemlerde kapsamlı olarak değerlendirerek oksidatif hasara karşı koruyucu olarak kullanılması yönündeki araştırmalara daha çok ağırlık verilmesi günümüzde toksik etkili maddelerin artması yönünden önemlidir. Özellikle dişi üreme sistemi gibi yoğun etkilere sahip bir sistem için bu durum büyük önem taşımaktadır.

8. KAYNAKÇA

Agrawal, A., & Mabalirajan, U. (2016). Rejuvenating cellular respiration for optimizing respiratory function: Targeting mitochondria. *American Journal of Physiology-Lung Cellular and Molecular Physiology*, *310*(2), L103-L113. https://doi.org/10.1152/ajplung.00320.2015

Akgül, S., Sur, Ü., Düzçeker, Y., Balcı, A., Kızılkan, M. P., Kanbur, N., Bozdağ, G., Erkekoğlu, P., Gümüş, E., Kocer-Gumusel, B., & Derman, O. (2019). Bisphenol A and phthalate levels in adolescents with polycystic ovary syndrome. *Gynecological Endocrinology*, *35*(12), 1084-1087. https://doi.org/10.1080/09513590.2019.1630608

Antoniou, A., Pharoah, P. D. P., Narod, S., Risch, H. A., Eyfjord, J. E., Hopper, J. L., Loman, N., Olsson, H., Johannsson, O., Borg, Å., Pasini, B., Radice, P., Manoukian, S., Eccles, D. M., Tang, N., Olah, E., Anton-Culver, H., Warner, E., Lubinski, J., … Easton, D. F. (2003). Average Risks of Breast and Ovarian Cancer Associated with BRCA1 or BRCA2 Mutations Detected in Case Series Unselected for Family History: A Combined Analysis of 22 Studies. *The American Journal of Human Genetics*, *72*(5), 1117-1130. https://doi.org/10.1086/375033

Basak, S., Das, M. K., & Duttaroy, A. K. (2020). Plastics derived endocrine-disrupting compounds and their effects on early development. *Birth Defects Research*, *112*(17), 1308-1325. https://doi.org/10.1002/bdr2.1741

Batiha, G. E.-S., Beshbishy, A. M., Ikram, M., Mulla, Z. S., El-Hack, M. E. A., Taha, A. E., Algammal, A. M., & Elewa, Y. H. A. (2020). The Pharmacological Activity, Biochemical Properties, and Pharmacokinetics of the Major Natural Polyphenolic Flavonoid: Quercetin. *Foods*, *9*(3), 374-374. https://doi.org/10.3390/foods9030374

Beszterda, M., & Frański, R. (2018). Endocrine disruptor compounds in environment: As a danger for children health. *Pediatric Endocrinology Diabetes and Metabolism*, *24*(2), 88-95. https://doi.org/10.18544/PEDM-24.02.0107

Biemann, R., Blüher, M., & Isermann, B. (2021). Exposure to endocrine-disrupting compounds such as phthalates and bisphenol A is associated with an increased risk for obesity. *Best Practice & Research Clinical Endocrinology & Metabolism*, *35*(5), 101546-101546. https://doi.org/10.1016/j.beem.2021.101546

Biswas, S., Ghosh, S., Samanta, A., Das, S., Mukherjee, U., & Maitra, S. (2020). Bisphenol A impairs reproductive fitness in zebrafish ovary: Potential involvement of oxidative/nitrosative stress, inflammatory and apoptotic

mediators. *Environmental Pollution*, *267*, 115692. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2020.115692

Bonde, J. P., Flachs, E. M., Rimborg, S., Glazer, C. H., Giwercman, A., Ramlau-Hansen, C. H., Hougaard, K. S., Høyer, B. B., Hærvig, K. K., Petersen, S. B., Rylander, L., Specht, I. O., Toft, G., & Bräuner, E. V. (2016). The epidemiologic evidence linking prenatal and postnatal exposure to endocrine disrupting chemicals with male reproductive disorders: A systematic review and meta-analysis. *Human Reproduction Update*, *23*(1), 104-125. https://doi.org/10.1093/humupd/dmw036

Braun, J. M. (2017). Early-life exposure to EDCs: Role in childhood obesity and neurodevelopment. *Nature Reviews Endocrinology*, *13*(3), 161-173. https://doi.org/10.1038/nrendo.2016.186

Breen, A. P., & Murphy, J. A. (1995). Reactions of oxyl radicals with DNA. *Free Radical Biology and Medicine*, *18*(6), 1033-1077. https://doi.org/10.1016/0891-5849(94)00209-3

Brehm, E., & Flaws, J. A. (2019). Transgenerational Effects of Endocrine-Disrupting Chemicals on Male and Female Reproduction. *Endocrinology*, *160*(6), 1421-1435. https://doi.org/10.1210/en.2019-00034

Bulun, S. E., Yilmaz, B. D., Sison, C., Miyazaki, K., Bernardi, L., Liu, S., Kohlmeier, A., Yin, P., Milad, M., & Wei, J. (2019). Endometriosis. *Endocrine Reviews*, *40*(4), 1048-1079. https://doi.org/10.1210/er.2018-00242

Bushnik, T., Haines, D., Levallois, P., Levesque, J., Van Oostdam, J., & Viau, C. (2010). Lead and bisphenol A concentrations in the Canadian population. *Health reports*, *21*(3), 7-18 (Erişim tarihi 2 Mart 2025).

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

Cao, Y., Zhuang, M., Yang, Y., Xie, S., Cui, J., Cao, L., Zhang, T., & Zhu, Y. (2014). Preliminary Study of Quercetin Affecting the Hypothalamic-Pituitary-Gonadal Axis on Rat Endometriosis Model. *Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine*, *2014*(1), 781684. https://doi.org/10.1155/2014/781684

Carpenter, D. O. (Ed.). (2013). *Effects of Persistent and Bioactive Organic Pollutants on Human Health* (1. bs). Wiley. https://doi.org/10.1002/9781118679654

Caserta, D., Di Segni, N., Mallozzi, M., Giovanale, V., Mantovani, A., Marci, R., & Moscarini, M. (2014). Bisphenol a and the female reproductive tract: An overview of recent laboratory evidence and epidemiological studies.

Reproductive Biology and Endocrinology, *12*(1), 37. https://doi.org/10.1186/1477-7827-12-37

Castellini, C., Museli, M., Parisi, A., Totaro, M., Tienforti, D., Cordeschi, G., Giorgio Baroni, M., Maccarrone, M., Necozione, S., Francavilla, S., & Barbonetti, A. (2022). Association between urinary bisphenol A concentrations and semen quality: A meta-analytic study. *Biochemical Pharmacology*, *197*, 114896-114896. https://doi.org/10.1016/j.bcp.2021.114896

Chakraborty, P., Sampath, S., Mukhopadhyay, M., Selvaraj, S., Bharat, G. K., & Nizzetto, L. (2019). Baseline investigation on plasticizers, bisphenol A, polycyclic aromatic hydrocarbons and heavy metals in the surface soil of the informal electronic waste recycling workshops and nearby open dumpsites in Indian metropolitan cities. *Environmental Pollution*, *248*, 1036-1045. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2018.11.010

Chen, D., Kannan, K., Tan, H., Zheng, Z., Feng, Y.-L., Wu, Y., & Widelka, M. (2016). Bisphenol Analogues Other Than BPA: Environmental Occurrence, Human Exposure, and Toxicity—A Review. *Environmental Science & Technology*, *50*(11), 5438-5453. https://doi.org/10.1021/acs.est.5b05387

Chen, H.-F., Chang, Y.-H., Ko, M.-C., & Li, C.-Y. (2014). A large scale population-based cohort study on the risk of ovarian neoplasm in patients with type 2 diabetes mellitus. *Gynecologic Oncology*, *134*(3), 576-580. https://doi.org/10.1016/j.ygyno.2014.07.001

Chen, Y., Zhao, Y., Miao, C., Yang, L., Wang, R., Chen, B., & Zhang, Q. (2022). Quercetin alleviates cyclophosphamide-induced premature ovarian insufficiency in mice by reducing mitochondrial oxidative stress and pyroptosis in granulosa cells. *Journal of Ovarian Research*, *15*(1), 138. https://doi.org/10.1186/s13048-022-01080-3

Cheng, S., Huang, M., Liu, S., & Yang, M. (2024). Bisphenol F and bisphenol S induce metabolic perturbations in human ovarian granulosa cells. *Arabian Journal of Chemistry*, *17*(9), 105904. https://doi.org/10.1016/j.arabjc.2024.105904

Chepelev, N. L., Enikanolaiye, M. I., Chepelev, L. L., Almohaisen, A., Chen, Q., Scoggan, K. A., Coughlan, M. C., Cao, X.-L., Jin, X., & Willmore, W. G. (2013). Bisphenol A Activates the Nrf1/2-Antioxidant Response Element Pathway in HEK 293 Cells. *Chemical Research in Toxicology*, *26*(3), 498-506. https://doi.org/10.1021/tx400036v

Cimmino, I., Fiory, F., Perruolo, G., Miele, C., Beguinot, F., Formisano, P., & Oriente, F. (2020). Potential Mechanisms of Bisphenol A (BPA) Contributing to Human Disease. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(16), 5761. https://doi.org/10.3390/ijms21165761

Cimmino, I., Oriente, F., D'Esposito, V., Liguoro, D., Liguoro, P., Ambrosio, M. R., Cabaro, S., D'Andrea, F., Beguinot, F., Formisano, P., & Valentino, R. (2019). Low-dose Bisphenol-A regulates inflammatory cytokines through GPR30 in mammary adipose cells. *Journal of Molecular Endocrinology, 63*(4), 273-283. https://doi.org/10.1530/JME-18-0265

Cobellis, L., Colacurci, N., Trabucco, E., Carpentiero, C., & Grumetto, L. (2009). Measurement of bisphenol A and bisphenol B levels in human blood sera from healthy and endometriotic women. *Biomedical Chromatography, 23*(11), 1186-1190. https://doi.org/10.1002/bmc.1241

Cook, C. L., Siow, Y., Brenner, A. G., & Fallat, M. E. (2002). Relationship between serum müllerian-inhibiting substance and other reproductive hormones in untreated women with polycystic ovary syndrome and normal women. *Fertility and Sterility*, *77*(1), 141-146. https://doi.org/10.1016/S0015-0282(01)02944-2

Cooke, M. S., Evans, M. D., Dizdaroglu, M., & Lunec, J. (2003). Oxidative DNA damage: Mechanisms, mutation, and disease. *The FASEB Journal*, *17*(10), 1195-1214. https://doi.org/10.1096/fj.02-0752rev

Cory, H., Passarelli, S., Szeto, J., Tamez, M., & Mattei, J. (2018). The Role of Polyphenols in Human Health and Food Systems: A Mini-Review. *Frontiers in Nutrition, 5*. https://doi.org/10.3389/fnut.2018.00087

Craig, Z. R., Wang, W., & Flaws, J. A. (2011). Endocrine-disrupting chemicals in ovarian function: Effects on steroidogenesis, metabolism and nuclear receptor signaling. *Reproduction*, *142*(5), 633-646. https://doi.org/10.1530/REP-11-0136

Cramer, D. W. (2023). Incessant ovulation: A review of its importance in predicting cancer risk. *Frontiers in Oncology, 13*, 1240309. https://doi.org/10.3389/fonc.2023.1240309

Czubacka, E., Wielgomas, B., Klimowska, A., Radwan, M., Radwan, P., Karwacka, A., Kałużny, P., & Jurewicz, J. (2021). Urinary Bisphenol A Concentrations and Parameters of Ovarian Reserve among Women from a Fertility Clinic. *International Journal of Environmental Research and Public Health*, *18*(15), 8041. https://doi.org/10.3390/ijerph18158041

Darenskaya, M. A., Kolesnikova, L. I., & Kolesnikov, S. I. (2021). Oxidative Stress: Pathogenetic Role in Diabetes Mellitus and Its Complications and Therapeutic Approaches to Correction. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, *171*(2), 179-189. https://doi.org/10.1007/s10517-021-05191-7

Das, D., Lee, J.-F., & Cheng, S. (2004). Selective synthesis of Bisphenol-A over mesoporous MCM silica catalysts functionalized with sulfonic acid groups. *Journal of Catalysis*, *223*(1), 152-160. https://doi.org/10.1016/j.jcat.2004.01.025

Delenko, J., Xue, X., Chatterjee, P. K., Hyman, N., Shih, A. J., Adelson, R. P., Safaric Tepes, P., Gregersen, P. K., & Metz, C. N. (2024). Quercetin enhances decidualization through AKT-ERK-p53 signaling and supports a role for senescence in endometriosis. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *22*(1), 100. https://doi.org/10.1186/s12958-024-01265-z

Delgado, L., Fernandes, I., González-Manzano, S., de Freitas, V., Mateus, N., & Santos-Buelga, C. (2014). Anti-proliferative effects of quercetin and catechin metabolites. *Food & Function*, *5*(4), 797-797. https://doi.org/10.1039/c3fo60441a

Dhanaraj, T., Mohan, M., & Arunakaran, J. (2021). Quercetin attenuates metastatic ability of human metastatic ovarian cancer cells via modulating multiple signaling molecules involved in cell survival, proliferation, migration and adhesion. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *701*, 108795. https://doi.org/10.1016/j.abb.2021.108795

Di Lorenzo, C., Colombo, F., Biella, S., Stockley, C., & Restani, P. (2021). Polyphenols and Human Health: The Role of Bioavailability. *Nutrients*, *13*(1), 273-273. https://doi.org/10.3390/nu13010273

Ding, Z., Chen, Y., Ahmad, M. J., Wang, Y., Yang, S., Duan, Z., Liu, M., Yang, C., Liang, A., Hua, G., & Huo, L. (2022). Bisphenol F exposure affects mouse oocyte in vitro maturation through inducing oxidative stress and DNA damage. *Environmental Toxicology*, *37*(6), 1413-1422. https://doi.org/10.1002/tox.23494

Dizdaroglu, M. (1992). Oxidative damage to DNA in mammalian chromatin. *Mutation Research/DNAging*, *275*(3-6), 331-342. https://doi.org/10.1016/0921-8734(92)90036-O

Dmitriev, L. F. (2001). Activity of key enzymes in microsomal and mitochondrial membranes depends on the redox reactions involving lipid radicals. *Membrane & cell biology*, *14*(5), 649-662 (Erişim tarihi 2 Mart 2025).

Drakaki, E., Stavros, S., Dedousi, D., Potiris, A., Mavrogianni, D., Zikopoulos, A., Moustakli, E., Skentou, C., Thomakos, N., Rodolakis, A., Drakakis, P., & Domali, E. (2024). The Effect of Bisphenol and Its Cytotoxicity on Female Infertility and Pregnancy Outcomes: A Narrative Review. *Journal of Clinical Medicine*, *13*(24), 7568. https://doi.org/10.3390/jcm13247568

Dröge, W. (2002). Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiological Reviews*, *82*(1), 47-95. https://doi.org/10.1152/physrev.00018.2001

Duan, H., Wang, F., Wang, K., Yang, S., Zhang, R., Xue, C., Zhang, L., Ma, X., Du, X., Kang, J., Zhang, Y., Zhao, X., Hu, J., & Xiao, L. (2024). Quercetin ameliorates oxidative stress-induced apoptosis of granulosa cells in dairy cow follicular cysts by activating autophagy via the SIRT1/ROS/AMPK signaling

pathway. *Journal of Animal Science and Biotechnology, 15*(1), 119. https://doi.org/10.1186/s40104-024-01078-5

Dumitrascu, M., Mares, C., Petca, R.-C., Sandru, F., Popescu, R.-I., Mehedintu, C., & Petca, A. (2020). Carcinogenic effects of bisphenol A in breast and ovarian cancers (Review). *Oncology Letters, 20*(6), 1-1. https://doi.org/10.3892/ol.2020.12145

Durcik, M., Gramec Skledar, D., Tomašič, T., Trontelj, J., & Peterlin Mašič, L. (2022). Last piece in the puzzle of bisphenols BPA, BPS and BPF metabolism: Kinetics of the in vitro sulfation reaction. *Chemosphere, 303*, 135133-135133. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2022.135133

Edaes, F. S., & de Souza, C. B. (2022). BPS and BPF are as Carcinogenic as BPA and are Not Viable Alternatives for its Replacement. *Endocrine, Metabolic & Immune Disorders - Drug Targets, 22*(9), 927-934. https://doi.org/10.2174/1871530322666220316141032

EFSA. (2015a). *Bisphenol A | EFSA*. https://www.efsa.europa.eu/en/topics/topic/bisphenol (Erişim tarihi 2 Mart 2025)

EFSA. (2015b). Scientific Opinion on the risks to public health related to the presence of bisphenol A (BPA) in foodstuffs. *EFSA Journal, 13*(1), 3978-3978. https://doi.org/10.2903/j.efsa.2015.3978

Escobar-Morreale, H. F. (2018). Polycystic ovary syndrome: Definition, aetiology, diagnosis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology, 14*(5), 270-284. https://doi.org/10.1038/nrendo.2018.24

Esterbauer, H., Schaur, R. J., & Zollner, H. (1991). Chemistry and biochemistry of 4-hydroxynonenal, malonaldehyde and related aldehydes. *Free Radical Biology and Medicine, 11*(1), 81-128. https://doi.org/10.1016/0891-5849(91)90192-6

EU. (2011a). *Commisiıon Directive 2011/8/EU of 28 January 2011 amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles*. http://ec.europa.eu/food/fs/sc/scf/out128_en.pdf (Erişim tarihi 2 Mart 2025)

EU. (2011b). *Commission Implementing Regulation (EU) No 321/2011 of 1 April 2011 amending Regulation (EU) No 10/2011 as regards the restriction of use of Bisphenol A in plastic infant feeding bottles* (Erişim tarihi 2 Mart 2025).

Fadlalla, E. (2022). Effect of Quercetin and Melatonin on Bisphenol A–Induced Oxidative Stress in rats Ovarian and Uterine Tissues. *Bulletin of the National Nutrition Institute of the Arab Republic of Egypt, 60*(2), 154-179. https://doi.org/10.21608/bnni.2022.275588

Fan, X., Hou, T., Jia, J., Tang, K., Wei, X., & Wang, Z. (2020). Discrepant dose responses of bisphenol A on oxidative stress and DNA methylation in grass

carp ovary cells. *Chemosphere, 248,* 126110. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126110

Fang, Y.-Z., Yang, S., & Wu, G. (2002). Free radicals, antioxidants, and nutrition. *Nutrition, 18*(10), 872-879. https://doi.org/10.1016/S0899-9007(02)00916-4

FDA. (2014, Kasım). *Bisphenol A (BPA): Use in Food Contact Application | FDA*. Bisphenol A (BPA): Use in Food Contact Application. https://www.fda.gov/food/food-packaging-other-substances-come-contact-food-information-consumers/bisphenol-bpa-use-food-contact-application (Erişim tarihi 4 Mayıs 2025).

Federico, A., Cardaioli, E., Da Pozzo, P., Formichi, P., Gallus, G. N., & Radi, E. (2012). Mitochondria, oxidative stress and neurodegeneration. *Journal of the Neurological Sciences, 322*(1-2), 254-262. https://doi.org/10.1016/j.jns.2012.05.030

Fernández, M., Bourguignon, N., Lux-Lantos, V., & Libertun, C. (2010). Neonatal Exposure to Bisphenol A and Reproductive and Endocrine Alterations Resembling the Polycystic Ovarian Syndrome in Adult Rats. *Environmental Health Perspectives, 118*(9), 1217-1222. https://doi.org/10.1289/ehp.0901257

Folkman, J. (1995). Angiogenesis in cancer, vascular, rheumatoid and other disease. *Nature Medicine, 1*(1), 27-30. https://doi.org/10.1038/nm0195-27

Forman, H. J., & Dickinson, D. A. (2003). Oxidative signaling and glutathione synthesis. *BioFactors, 17*(1-4), 1-12. https://doi.org/10.1002/biof.5520170101

Fromme, H., Küchler, T., Otto, T., Pilz, K., Müller, J., & Wenzel, A. (2002). Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Research, 36*(6), 1429-1438. https://doi.org/10.1016/S0043-1354(01)00367-0

Gadhwal, M. K., Article, R., D'mello, P., Kumar Gadhwal, M., Joshi, U., & Shetgiri, P. (2011). *Modeling of COX-2 inhibotory activity of flavonoids* (Article in International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences). https://www.researchgate.net/publication/224054089 (Erişim tarihi 2 Mart 2025).

García-Gutiérrez, N., Luna-Bárcenas, G., Herrera-Hernández, G., Campos-Vega, R., Lozano-Herrera, S. J., Sánchez-Tusié, A. A., García-Solis, P., & Vergara-Castañeda, H. A. (2023). Quercetin and Its Fermented Extract as a Potential Inhibitor of Bisphenol A-Exposed HT-29 Colon Cancer Cells' Viability. *International Journal of Molecular Sciences, 24*(6), 5604. https://doi.org/10.3390/ijms24065604

Gassman, N. R., Coskun, E., Stefanick, D. F., Horton, J. K., Jaruga, P., Dizdaroglu, M., & Wilson, S. H. (2015). Bisphenol A Promotes Cell Survival Following Oxidative DNA Damage in Mouse Fibroblasts. *PLOS ONE, 10*(2), e0118819. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0118819

Gayther, S. A., & Pharoah, P. D. (2010). The inherited genetics of ovarian and endometrial cancer. *Current Opinion in Genetics & Development*, *20*(3), 231-238. https://doi.org/10.1016/j.gde.2010.03.001

Geens, T., Roosens, L., Neels, H., & Covaci, A. (2009). Assessment of human exposure to Bisphenol-A, Triclosan and Tetrabromobisphenol-A through indoor dust intake in Belgium. *Chemosphere*, *76*(6), 755-760. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2009.05.024

Głód, P., Marynowicz, W., Homa, J., Smoleniec, J., Maduzia, D., & Ptak, A. (2025). Low doses of bisphenol F and S affect human ovarian granulosa cells by reducing the number of active mitochondria and ATP synthesis. *Toxicology Letters*, *405*, 41-50. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2025.02.002

Głód, P., Smoleniec, J., Marynowicz, W., Gogola-Mruk, J., & Ptak, A. (2025). The Ovary as a Target Organ for New Generation Bisphenols Toxicity. *Toxics*, *13*(3), 164. https://doi.org/10.3390/toxics13030164

Gogola, J., Hoffmann, M., & Ptak, A. (2020). Persistent endocrine-disrupting chemicals found in human follicular fluid stimulate IGF1 secretion by adult ovarian granulosa cell tumor spheroids and thereby increase proliferation of non-cancer ovarian granulosa cells. *Toxicology in Vitro*, *65*, 104769. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2020.104769

Gong, C., Yang, Z., Zhang, L., Wang, Y., Gong, W., & Liu, Y. (2017). Quercetin suppresses DNA double-strand break repair and enhances the radiosensitivity of human ovarian cancer cells via p53-dependent endoplasmic reticulum stress pathway. *OncoTargets and Therapy*, *Volume 11*, 17-27. https://doi.org/10.2147/OTT.S147316

Goodson, A., Robin, H., Summerfield, W., & Cooper *, I. (2004). Migration of bisphenol A from can coatings—Effects of damage, storage conditions and heating. *Food Additives and Contaminants*, *21*(10), 1015-1026. https://doi.org/10.1080/02652030400011387

Gore, A. C., Chappell, V. A., Fenton, S. E., Flaws, J. A., Nadal, A., Prins, G. S., Toppari, J., & Zoeller, R. T. (2015). EDC-2: The Endocrine Society's Second Scientific Statement on Endocrine-Disrupting Chemicals. *Endocrine Reviews*, *36*(6), E1-E150. https://doi.org/10.1210/er.2015-1010

Gramec Skledar, D., & Peterlin Mašič, L. (2016). Bisphenol A and its analogs: Do their metabolites have endocrine activity? *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *47*, 182-199. https://doi.org/10.1016/j.etap.2016.09.014

Grasselli, F., Baratta, L., Baioni, L., Bussolati, S., Ramoni, R., Grolli, S., & Basini, G. (2010). Bisphenol A disrupts granulosa cell function. *Domestic Animal Endocrinology*, *39*(1), 34-39. https://doi.org/10.1016/j.domaniend.2010.01.004

Gu, J., Zhu, Y., Guo, M., Yin, X., Liang, M., Lou, X., Chen, J., Zhou, L., Fan, D., Shi, L., Hu, G., & Ji, G. (2022). The potential mechanism of BPF-induced neurotoxicity in adult zebrafish: Correlation between untargeted metabolomics and gut microbiota. *Science of The Total Environment*, *839*, 156221-156221. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2022.156221

Gualtieri, A. F., Iwachow, M. A., Venara, M., Rey, R. A., & Schteingart, H. F. (2011). Bisphenol A effect on glutathione synthesis and recycling in testicular Sertoli cells. *Journal of Endocrinological Investigation*, *34*(5), e102-e109. https://doi.org/10.1007/BF03347468

Halliwell, B., & Chirico, S. (1993). Lipid peroxidation: İts mechanism, measurement, and significance. *The American Journal of Clinical Nutrition*, *57*(5), 715S-725S. https://doi.org/10.1093/ajcn/57.5.715S

Halliwell, B., & Gutteridge, J. M. C. (2015). *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford University Press. https://doi.org/10.1093/acprof:oso/9780198717478.001.0001

Halliwell, B., & Whiteman, M. (2004). Measuring reactive species and oxidative damage in vivo and in cell culture: How should you do it and what do the results mean? *British Journal of Pharmacology*, *142*(2), 231-255. https://doi.org/10.1038/sj.bjp.0705776

Han, S. J., Jung, S. Y., Wu, S.-P., Hawkins, S. M., Park, M. J., Kyo, S., Qin, J., Lydon, J. P., Tsai, S. Y., Tsai, M.-J., DeMayo, F. J., & O'Malley, B. W. (2015). Estrogen Receptor β Modulates Apoptosis Complexes and the Inflammasome to Drive the Pathogenesis of Endometriosis. *Cell*, *163*(4), 960-974. https://doi.org/10.1016/j.cell.2015.10.034

Han, X., Shen, T., & Lou, H. (2007). Dietary Polyphenols and Their Biological Significance. *International Journal of Molecular Sciences*, *8*(9), 950-988. https://doi.org/10.3390/i8090950

Handy, D. E., Lubos, E., Yang, Y., Galbraith, J. D., Kelly, N., Zhang, Y.-Y., Leopold, J. A., & Loscalzo, J. (2009). Glutathione Peroxidase-1 Regulates Mitochondrial Function to Modulate Redox-dependent Cellular Responses. *Journal of Biological Chemistry*, *284*(18), 11913-11921. https://doi.org/10.1074/jbc.M900392200

Hanioka, N., Naito, T., & Narimatsu, S. (2008). Human UDP-glucuronosyltransferase isoforms involved in bisphenol A glucuronidation. *Chemosphere*, *74*(1), 33-36. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2008.09.053

Hart, R. J., Doherty, D. A., Keelan, J. A., Minaee, N. S., Thorstensen, E. B., Dickinson, J. E., Pennell, C. E., Newnham, J. P., McLachlan, R., Norman, R. J., & Handelsman, D. J. (2018). The impact of antenatal Bisphenol A exposure on male reproductive function at 20–22 years of age. *Reproductive*

BioMedicine Online, *36*(3), 340-347. https://doi.org/10.1016/j.rbmo.2017.11.009

Havsteen, B. H. (2002). The biochemistry and medical significance of the flavonoids. *Pharmacology & Therapeutics*, *96*(2-3), 67-202. https://doi.org/10.1016/S0163-7258(02)00298-X

Health Canada & Environment Canada. (2008). *Government of Canada Takes Action on Another Chemical of Concern: Bisphenol A - Canada.ca*. https://www.canada.ca/en/news/archive/2008/04/government-canada-takes-action-another-chemical-concern-bisphenol-a.html (Erişim tarihi 15 Mart 2025).

Hoffmann-Dishon, N., Barnett-Itzhaki, Z., Zalko, D., Hemi, R., Farzam, N., Hauser, R., Racowsky, C., Baccarelli, A. A., & Machtinger, R. (2024). Endocrine-disrupting chemical concentrations in follicular fluid and follicular reproductive hormone levels. *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *41*(6), 1637-1642. https://doi.org/10.1007/s10815-024-03101-0

Holesh, J. E., Bass, A. N., & Lord, M. (2025). Physiology, Ovulation. Içinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. Erişim adresi http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK441996/ (Erişim tarihi 18 Mayıs 2025).

Homburg, R. (2009). Pregnancy Complications in PCOS. İçinde N. R. Farid & E. Diamanti-Kandarakis (Ed.), *Diagnosis and Management of Polycystic Ovary Syndrome* (ss. 135-142). Springer US. https://doi.org/10.1007/978-0-387-09718-3_11

Hou, D.-X., Masuzaki, S., Hashimoto, F., Uto, T., Tanigawa, S., Fujii, M., & Sakata, Y. (2007). Green tea proanthocyanidins inhibit cyclooxygenase-2 expression in LPS-activated mouse macrophages: Molecular mechanisms and structure–activity relationship. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, *460*(1), 67-74. https://doi.org/10.1016/j.abb.2007.01.009

Hruby, A., & Hu, F. B. (2015). The Epidemiology of Obesity: A Big Picture. *PharmacoEconomics*, *33*(7), 673-689. https://doi.org/10.1007/s40273-014-0243-x

Huang, M., Liu, S., Fu, L., Jiang, X., & Yang, M. (2020). Bisphenol A and its analogues bisphenol S, bisphenol F and bisphenol AF induce oxidative stress and biomacromolecular damage in human granulosa KGN cells. *Chemosphere*, *253*, 126707-126707. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2020.126707

Huc, L., Lemarié, A., Guéraud, F., & Héliès-Toussaint, C. (2012). Low concentrations of bisphenol A induce lipid accumulation mediated by the production of reactive oxygen species in the mitochondria of HepG2 cells. *Toxicology in Vitro*, *26*(5), 709-717. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2012.03.017

Hui, L., Li, H., Lu, G., Chen, Z., Sun, W., Shi, Y., Fu, Z., Huang, B., Zhu, X., Lu, W., Xia, D., & Wu, Y. (2018). Low Dose of Bisphenol A Modulates Ovarian Cancer Gene Expression Profile and Promotes Epithelial to Mesenchymal Transition Via Canonical Wnt Pathway. *Toxicological Sciences*, *164*(2), 527-538. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfy107

Ijaz, S., Ullah, A., Shaheen, G., & Jahan, S. (2020). Exposure of BPA and its alternatives like BPB, BPF, and BPS impair subsequent reproductive potentials in adult female Sprague Dawley rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, *30*(1), 60-72. https://doi.org/10.1080/15376516.2019.1652873

Imlay, J. A. (2003). Pathways of Oxidative Damage. *Annual Review of Microbiology*, *57*(1), 395-418. https://doi.org/10.1146/annurev.micro.57.030502.090938

Iskandarani, L., Romanelli, S., Hales, B. F., & Robaire, B. (2025). The effects of bisphenol A and its analogs on steroidogenesis in MA-10 Leydig cells and KGN granulosa cells. *Biology of Reproduction*, *112*(2), 399-414. https://doi.org/10.1093/biolre/ioae165

Iwata, S., Hori, T., Sato, N., Hirota, K., Sasada, T., Mitsui, A., Hirakawa, T., & Yodoi, J. (1997). Adult T cell leukemia (ATL)-derived factor/human thioredoxin prevents apoptosis of lymphoid cells induced by L-cystine and glutathione depletion: Possible involvement of thiol-mediated redox regulation in apoptosis caused by pro-oxidant state. *Journal of immunology (Baltimore, Md. : 1950)*, *158*(7), 3108-3117. https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9120263

İyigündoğdu, İ., Üstündağ, A., & Duydu, Y. (2020). Toxicological Evaluation of Bisphenol A and Its Analogues. *Turkish Journal of Pharmaceutical Sciences*, *17*(4), 457-462. https://doi.org/10.4274/tjps.galenos.2019.58219

Jafari Khorchani, M., Zal, F., & Neisy, A. (2020). The phytoestrogen, quercetin, in serum, uterus and ovary as a potential treatment for dehydroepiandrosterone-induced polycystic ovary syndrome in the rat. *Reproduction, Fertility and Development*, *32*(3), 313. https://doi.org/10.1071/RD19072

Jahan, S., Ain, Q. U., & Ullah, H. (2016). Therapeutic effects of quercetin against bisphenol A induced testicular damage in male Sprague Dawley rats. *Systems Biology in Reproductive Medicine*, *62*(2), 114-124. https://doi.org/10.3109/19396368.2015.1115139

Jain, S., Jain, S., Gautam, V., Vaish, R., Jain, P., Gattani, A., & Jain, S. (2024). Evaluation of protective efficacy of quercetin on Bisphenol F induced intestinal toxicity in zebrafish (Danio rerio). *International Journal of Advanced Biochemistry Research*, *8*(7), 114-123. https://doi.org/10.33545/26174693.2024.v8.i7b.1457

Jamali, N., Zal, F., Mostafavi-Pour, Z., Samare-Najaf, M., Poordast, T., & Dehghanian, A. (2021). Ameliorative Effects of Quercetin and Metformin and

Their Combination Against Experimental Endometriosis in Rats. *Reproductive Sciences*, *28*(3), 683-692. https://doi.org/10.1007/s43032-020-00377-2

Jelic, M. D., Mandic, A. D., Maricic, S. M., & Srdjenovic, B. U. (2021). Oxidative stress and its role in cancer. *Journal of Cancer Research and Therapeutics*, *17*(1), 22-28. https://doi.org/10.4103/jcrt.JCRT_862_16

Jeon, G. W. (2022). Bisphenol A leaching from polycarbonate baby bottles into baby food causes potential health issues. *Clinical and Experimental Pediatrics*, *65*(9), 450-452. https://doi.org/10.3345/cep.2022.00661

Jian, X., Shi, C., Luo, W., Zhou, L., Jiang, L., & Liu, K. (2024). Therapeutic effects and molecular mechanisms of quercetin in gynecological disorders. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *173*, 116418. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2024.116418

Jones, D. P. (2006). Redefining Oxidative Stress. *Antioxidants & Redox Signaling*, *8*(9-10), 1865-1879. https://doi.org/10.1089/ars.2006.8.1865

Kaimal, A., Al Mansi, M. H., Dagher, J. B., Pope, C., Varghese, M. G., Rudi, T. B., Almond, A. E., Cagle, L. A., Beyene, H. K., Bradford, W. T., Whisnant, B. B., Bougouma, B. D. K., Rifai, K. J., Chuang, Y.-J., Campbell, E. J., Mandal, A., MohanKumar, P. S., & MohanKumar, S. M. J. (2021). Prenatal exposure to bisphenols affects pregnancy outcomes and offspring development in rats. *Chemosphere*, *276*, 130118. https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2021.130118

Kandaraki, E., Chatzigeorgiou, A., Livadas, S., Palioura, E., Economou, F., Koutsilieris, M., Palimeri, S., Panidis, D., & Diamanti-Kandarakis, E. (2011). Endocrine Disruptors and Polycystic Ovary Syndrome (PCOS): Elevated Serum Levels of Bisphenol A in Women with PCOS. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, *96*(3), E480-E484. https://doi.org/10.1210/jc.2010-1658

Karihtala, P., & Soini, Y. (2007). Reactive oxygen species and antioxidant mechanisms in human tissues and their relation to malignancies. *APMIS*, *115*(2), 81-103. https://doi.org/10.1111/j.1600-0463.2007.apm_514.x

Kechagias, K. S., Semertzidou, A., Athanasiou, A., Paraskevaidi, M., & Kyrgiou, M. (2020). Bisphenol-A and polycystic ovary syndrome: A review of the literature. *Reviews on Environmental Health*, *35*(4), 323-331. https://doi.org/10.1515/reveh-2020-0032

Khorshidi, M., Moini, A., Alipoor, E., Rezvan, N., Gorgani-Firuzjaee, S., Yaseri, M., & Hosseinzadeh-Attar, M. J. (2018). The effects of quercetin supplementation on metabolic and hormonal parameters as well as plasma concentration and gene expression of resistin in overweight or obese women with polycystic

ovary syndrome. *Phytotherapy Research*, *32*(11), 2282-2289. https://doi.org/10.1002/ptr.6166

Klimaszewska-Wiśniewska, A., Hałas-Wiśniewska, M., Izdebska, M., Gagat, M., Grzanka, A., & Grzanka, D. (2017). Antiproliferative and antimetastatic action of quercetin on A549 non-small cell lung cancer cells through its effect on the cytoskeleton. *Acta Histochemica*, *119*(2), 99-112. https://doi.org/10.1016/j.acthis.2016.11.003

Koçak, Y. (2023). *The Effect of Quercetin Against Oxidative Stress and Possible Histopathological Changes Caused by Bisphenol-A Exposure in Rat Ovary*. https://doi.org/10.5281/ZENODO.10019742

Konieczna, A., Rutkowska, A., & Rachoń, D. (2015). Health risk of exposure to Bisphenol A (BPA). *Roczniki Panstwowego Zakladu Higieny*, *66*(1), 5-11.

Kourmaeva, E., Sabry, R., & Favetta, L. A. (2022). Bisphenols A and F, but not S, induce apoptosis in bovine granulosa cells via the intrinsic mitochondrial pathway. *Frontiers in Endocrinology*, *13*, 1028438. https://doi.org/10.3389/fendo.2022.1028438

Kreso, A., & Dick, J. E. (2014). Evolution of the Cancer Stem Cell Model. *Cell Stem Cell*, *14*(3), 275-291. https://doi.org/10.1016/j.stem.2014.02.006

Krishnan, A. V., Stathis, P., Permuth, S. F., Tokes, L., & Feldman, D. (1993). Bisphenol-A: an estrogenic substance is released from polycarbonate flasks during autoclaving. *Endocrinology*, *132*(6), 2279-2286. https://doi.org/10.1210/endo.132.6.8504731

Krzastek, S. C., Farhi, J., Gray, M., & Smith, R. P. (2020). Impact of environmental toxin exposure on male fertility potential. *Translational Andrology and Urology*, *9*(6), 2797-2813. https://doi.org/10.21037/tau-20-685

Ku, H.-H., Brunk, U. T., & Sohal, R. S. (1993). Relationship between mitochondrial superoxide and hydrogen peroxide production and longevity of mammalian species. *Free Radical Biology and Medicine*, *15*(6), 621-627. https://doi.org/10.1016/0891-5849(93)90165-Q

Kurobe, N., Suzuki, F., Okajima, K., & Kato, K. (1990). Sensitive enzyme immunoassay for human Cu/Zn superoxide dismutase. *Clinica Chimica Acta*, *187*(1), 11-20. https://doi.org/10.1016/0009-8981(90)90257-S

Kvaskoff, M., Mu, F., Terry, K. L., Harris, H. R., Poole, E. M., Farland, L., & Missmer, S. A. (2015). Endometriosis: A high-risk population for major chronic diseases? *Human Reproduction Update*, *21*(4), 500-516. https://doi.org/10.1093/humupd/dmv013

Landis, G. N., & Tower, J. (2005). Superoxide dismutase evolution and life span regulation. *Mechanisms of Ageing and Development*, *126*(3), 365-379. https://doi.org/10.1016/j.mad.2004.08.012

Lawrie, T. A., Winter-Roach, B. A., Heus, P., & Kitchener, H. C. (2015). Adjuvant (post-surgery) chemotherapy for early stage epithelial ovarian cancer. *Cochrane Database of Systematic Reviews*, *2016*(9). https://doi.org/10.1002/14651858.CD004706.pub5

Lebachelier De La Riviere, M.-E., Wu, L., Gayet, M., Bousquet, M., Buron, C., Vignault, C., Téteau, O., Desmarchais, A., Maillard, V., Uzbekova, S., Guérif, F., Lacroix, M., Papillier, P., Jarrier-Gaillard, P., Binet, A., & Elis, S. (2023). Cumulative and potential synergistic effects of seven different bisphenols on human granulosa cells in vitro? *Environmental Pollution*, *330*, 121818. https://doi.org/10.1016/j.envpol.2023.121818

Leri, M., Scuto, M., Ontario, M. L., Calabrese, V., Calabrese, E. J., Bucciantini, M., & Stefani, M. (2020). Healthy Effects of Plant Polyphenols: Molecular Mechanisms. *International Journal of Molecular Sciences*, *21*(4), 1250-1250. https://doi.org/10.3390/ijms21041250

Leung, P. C. K., & Choi, J.-H. (2007). Endocrine signaling in ovarian surface epithelium and cancer. *Human Reproduction Update*, *13*(2), 143-162. https://doi.org/10.1093/humupd/dml002

Li, C., Xu, J., Chen, D., & Xiao, Y. (2016). Detection of phthalates migration from disposable tablewares to drinking water using hexafluoroisopropanol-induced catanionic surfactant coacervate extraction. *Journal of Pharmaceutical Analysis*, *6*(5), 292-299. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2016.04.002

Li, S., Hursting, S. D., Davis, B. J., McLACHLAN, J. A., & Barrett, J. C. (2003). Environmental Exposure, DNA Methylation, and Gene Regulation: Lessons from Diethylstilbesterol-Induced Cancers. *Annals of the New York Academy of Sciences*, *983*(1), 161-169. https://doi.org/10.1111/j.1749-6632.2003.tb05971.x

Li, Y., Yao, J., Han, C., Yang, J., Chaudhry, M., Wang, S., Liu, H., & Yin, Y. (2016). Quercetin, Inflammation and Immunity. *Nutrients*, *8*(3), 167. https://doi.org/10.3390/nu8030167

Liang, J., Yang, C., Liu, T., Tan, H. J. J., Sheng, Y., Wei, L., Tang, P., Huang, H., Zeng, X., Liu, S., Huang, D., & Qiu, X. (2021). Prenatal exposure to bisphenols and risk of preterm birth: Findings from Guangxi Zhuang birth cohort in China. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, *228*, 112960. https://doi.org/10.1016/j.ecoenv.2021.112960

Lin, M., Hua, R., Ma, J., Zhou, Y., Li, P., Xu, X., Yu, Z., & Quan, S. (2021). Bisphenol A promotes autophagy in ovarian granulosa cells by inducing AMPK/mTOR/ULK1 signalling pathway. *Environment International*, *147*, 106298. https://doi.org/10.1016/j.envint.2020.106298

Liochev, S. I., & Fridovich, I. (1999). Superoxide and Iron: Partners in Crime. *IUBMB Life*, *48*(2), 157-161. https://doi.org/10.1080/713803492

Liu, Y., Gong, W., Yang, Z. Y., Zhou, X. S., Gong, C., Zhang, T. R., Wei, X., Ma, D., Ye, F., & Gao, Q. L. (2017). Quercetin induces protective autophagy and apoptosis through ER stress via the p-STAT3/Bcl-2 axis in ovarian cancer. *Apoptosis*, *22*(4), 544-557. https://doi.org/10.1007/s10495-016-1334-2

Lorber, M., Schecter, A., Paepke, O., Shropshire, W., Christensen, K., & Birnbaum, L. (2015). Exposure assessment of adult intake of bisphenol A (BPA) with emphasis on canned food dietary exposures. *Environment International*, *77*, 55-62. https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.01.008

Lu, S. C. (2013). Glutathione synthesis. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, *1830*(5), 3143-3153. https://doi.org/10.1016/j.bbagen.2012.09.008

Ma, C., Xiang, Q., Song, G., & Wang, X. (2022). Quercetin and polycystic ovary syndrome. *Frontiers in Pharmacology*, *13*, 1006678. https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1006678

Maddipati, K. R., & Marnett, L. J. (1987). Characterization of the major hydroperoxide-reducing activity of human plasma. Purification and properties of a selenium-dependent glutathione peroxidase. *The Journal of biological chemistry*, *262*(36), 17398-17403. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)45392-6

Maffini, M. V., Rubin, B. S., Sonnenschein, C., & Soto, A. M. (2006). Endocrine disruptors and reproductive health: The case of bisphenol-A. *Molecular and Cellular Endocrinology*, *254-255*, 179-186. https://doi.org/10.1016/j.mce.2006.04.033

Mahdavinia, M., Alizadeh, S., Raesi Vanani, atefeh, Dehghani, M. A., shirani, maryam, Alipour, M., Shahmohammadi, H. A., & Rafiei Asl, S. (2019). Effects of quercetin on bisphenol A-induced mitochondrial toxicity in rat liver. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, *22*(5). https://doi.org/10.22038/ijbms.2019.32486.7952

Mahmoud, A. A., Elfiky, A. M., & Abo-Zeid, F. S. (2022). The anti-androgenic effect of quercetin on hyperandrogenism and ovarian dysfunction induced in a dehydroepiandrosterone rat model of polycystic ovary syndrome. *Steroids*, *177*, 108936. https://doi.org/10.1016/j.steroids.2021.108936

Markey, C. M., Coombs, M. A., Sonnenschein, C., & Soto, A. M. (2003). Mammalian development in a changing environment: Exposure to endocrine disruptors reveals the developmental plasticity of steroid-hormone target organs. *Evolution & Development*, *5*(1), 67-75. https://doi.org/10.1046/j.1525-142X.2003.03011.x

Masella, R., Di Benedetto, R., Varì, R., Filesi, C., & Giovannini, C. (2005). Novel mechanisms of natural antioxidant compounds in biological systems: İnvolvement of glutathione and glutathione-related enzymes. *The Journal of*

Nutritional Biochemistry, *16*(10), 577-586. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2005.05.013

Matthews, J. B., Twomey, K., & Zacharewski, T. R. (2001). In Vitro and in Vivo Interactions of Bisphenol A and Its Metabolite, Bisphenol A Glucuronide, with Estrogen Receptors α and β. *Chemical Research in Toxicology*, *14*(2), 149-157. https://doi.org/10.1021/tx0001833

McGuire, V., Hartge, P., Liao, L. M., Sinha, R., Bernstein, L., Canchola, A. J., Anderson, G. L., Stefanick, M. L., & Whittemore, A. S. (2016). Parity and Oral Contraceptive Use in Relation to Ovarian Cancer Risk in Older Women. *Cancer Epidemiology, Biomarkers & Prevention*, *25*(7), 1059-1063. https://doi.org/10.1158/1055-9965.EPI-16-0011

Meli, R., Monnolo, A., Annunziata, C., Pirozzi, C., & Ferrante, M. C. (2020). Oxidative Stress and BPA Toxicity: An Antioxidant Approach for Male and Female Reproductive Dysfunction. *Antioxidants*, *9*(5), 405. https://doi.org/10.3390/antiox9050405

Metodiewa, D., Jaiswal, A. K., Cenas, N., Dickancaité, E., & Segura-Aguilar, J. (1999). Quercetin may act as a cytotoxic prooxidant after its metabolic activation to semiquinone and quinoidal product. *Free Radical Biology and Medicine*, *26*(1-2), 107-116. https://doi.org/10.1016/S0891-5849(98)00167-1

Mínguez-Alarcón, L., Gaskins, A. J., Chiu, Y.-H., Williams, P. L., Ehrlich, S., Chavarro, J. E., Petrozza, J. C., Ford, J. B., Calafat, A. M., & Hauser, R. (2015). Urinary bisphenol A concentrations and association with in vitro fertilization outcomes among women from a fertility clinic. *Human Reproduction*, *30*(9), 2120-2128. https://doi.org/10.1093/humrep/dev183

Mirza-Aghazadeh-Attari, M., Ekrami, E. M., Aghdas, S. A. M., Mihanfar, A., Hallaj, S., Yousefi, B., Safa, A., & Majidinia, M. (2020). Targeting PI3K/Akt/mTOR signaling pathway by polyphenols: Implication for cancer therapy. *Life Sciences*, *255*, 117481-117481. https://doi.org/10.1016/j.lfs.2020.117481

Moldovan, L., & Moldovan, N. I. (2004). Oxygen free radicals and redox biology of organelles. *Histochemistry and Cell Biology*, *122*(4), 395-412. https://doi.org/10.1007/s00418-004-0676-y

Moon, M. K., Kim, M. J., Jung, I. K., Koo, Y. D., Ann, H. Y., Lee, K. J., Kim, S. H., Yoon, Y. C., Cho, B.-J., Park, K. S., Jang, H. C., & Park, Y. J. (2012). Bisphenol A Impairs Mitochondrial Function in the Liver at Doses below the No Observed Adverse Effect Level. *Journal of Korean Medical Science*, *27*(6), 644-644. https://doi.org/10.3346/jkms.2012.27.6.644

Mu, X., Qi, S., Liu, J., Wang, H., Yuan, L., Qian, L., Li, T., Huang, Y., Wang, C., Guo, Y., & Li, Y. (2022). Environmental level of bisphenol F induced reproductive toxicity toward zebrafish. *Science of The Total Environment*, *806*, 149992. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.149992

Mueller, S., Riedel, H. D., & Stremmel, W. (1997). Direct evidence for catalase as the predominant H2O2 -removing enzyme in human erythrocytes. *Blood*, *90*(12), 4973-4978. https://doi.org/10.1182/blood.V90.12.4973

Nandi, A., Yan, L.-J., Jana, C. K., & Das, N. (2019). Role of Catalase in Oxidative Stress- and Age-Associated Degenerative Diseases. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*, 1-19. https://doi.org/10.1155/2019/9613090

Naseer, Z., Ahmad, E., Epikmen, E. T., Uçan, U., Boyacioğlu, M., İpek, E., & Akosy, M. (2017). Quercetin supplemented diet improves follicular development, oocyte quality, and reduces ovarian apoptosis in rabbits during summer heat stress. *Theriogenology*, *96*, 136-141. https://doi.org/10.1016/j.theriogenology.2017.03.029

Nguyen, M., Sabry, R., Davis, O. S., & Favetta, L. A. (2022). Effects of BPA, BPS, and BPF on Oxidative Stress and Antioxidant Enzyme Expression in Bovine Oocytes and Spermatozoa. *Genes*, *13*(1), 142. https://doi.org/10.3390/genes13010142

Nna, V. U., Usman, U. Z., Ofutet, E. O., & Owu, D. U. (2017). Quercetin exerts preventive, ameliorative and prophylactic effects on cadmium chloride—Induced oxidative stress in the uterus and ovaries of female Wistar rats. *Food and Chemical Toxicology*, *102*, 143-155. https://doi.org/10.1016/j.fct.2017.02.010

OCRA. (2025). *Ovarian Cancer Statistics & Survival Rates | OCRA*. Ovarian Cancer Research Alliance. https://ocrahope.org/for-patients/gynecologic-cancers/ovarian-cancer/ovarian-cancer-statistics/ (Erişim tarihi 18 Mayıs 2025).

Okada, H., Tokunaga, T., Liu, X., Takayanagi, S., Matsushima, A., & Shimohigashi, Y. (2008). Direct Evidence Revealing Structural Elements Essential for the High Binding Ability of Bisphenol A to Human Estrogen-Related Receptor-γ. *Environmental Health Perspectives*, *116*(1), 32-38. https://doi.org/10.1289/ehp.10587

Pacyga, D. C., Sathyanarayana, S., & Strakovsky, R. S. (2019). Dietary Predictors of Phthalate and Bisphenol Exposures in Pregnant Women. *Advances in Nutrition*, *10*(5), 803-815. https://doi.org/10.1093/advances/nmz029

Palioura, E., & Diamanti-Kandarakis, E. (2015). Polycystic ovary syndrome (PCOS) and endocrine disrupting chemicals (EDCs). *Reviews in Endocrine and Metabolic Disorders*, *16*(4), 365-371. https://doi.org/10.1007/s11154-016-9326-7

Pandey, K. B., & Rizvi, S. I. (2009). Plant Polyphenols as Dietary Antioxidants in Human Health and Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2*(5), 270-278. https://doi.org/10.4161/oxim.2.5.9498

Park, S., Lim, W., Bazer, F. W., Whang, K.-Y., & Song, G. (2019). Quercetin inhibits proliferation of endometriosis regulating cyclin D1 and its target microRNAs in vitro and in vivo. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, *63*, 87-100. https://doi.org/10.1016/j.jnutbio.2018.09.024

Peretz, J., Vrooman, L., Ricke, W. A., Hunt, P. A., Ehrlich, S., Hauser, R., Padmanabhan, V., Taylor, H. S., Swan, S. H., VandeVoort, C. A., & Flaws, J. A. (2014). Bisphenol A and Reproductive Health: Update of Experimental and Human Evidence, 2007–2013. *Environmental Health Perspectives*, *122*(8), 775-786. https://doi.org/10.1289/ehp.1307728

Pérez-Bermejo, M., Mas-Pérez, I., & Murillo-Llorente, M. T. (2021). The Role of the Bisphenol A in Diabetes and Obesity. *Biomedicines*, *9*(6), 666-666. https://doi.org/10.3390/biomedicines9060666

Piao, X., Liu, Z., Li, Y., Yao, D., Sun, L., Wang, B., Ma, Y., Wang, L., & Zhang, Y. (2019). Investigation of the effect for bisphenol A on oxidative stress in human hepatocytes and its interaction with catalase. *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, *221*, 117149. https://doi.org/10.1016/j.saa.2019.117149

Pivonello, C., Muscogiuri, G., Nardone, A., Garifalos, F., Provvisiero, D. P., Verde, N., De Angelis, C., Conforti, A., Piscopo, M., Auriemma, R. S., Colao, A., & Pivonello, R. (2020). Bisphenol A: An emerging threat to female fertility. *Reproductive Biology and Endocrinology*, *18*(1), 22. https://doi.org/10.1186/s12958-019-0558-8

Priyanga K, S., & K, V. (2017). Investigation Of Antioxidant Potential Of Quercetin And Hesperidin: An In Vitro Approach. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, *10*(11), 83-83. https://doi.org/10.22159/ajpcr.2017.v10i11.20260

Ptak, A., & Gregoraszczuk, E. L. (2015). Effects of bisphenol A and 17β-estradiol on vascular endothelial growth factor A and its receptor expression in the non-cancer and cancer ovarian cell lines. *Cell Biology and Toxicology*, *31*(3), 187-197. https://doi.org/10.1007/s10565-015-9303-z

Purdie, D. M., Webb, P. M., Siskind, V., Bain, C. J., & Green, A. C. (2003). The Different Etiologies of Mucinous and Nonmucinous Epithelial Ovarian Cancers. *Gynecologic Oncology*, *88*(1), S145-S148. https://doi.org/10.1006/gyno.2002.6706

Rashidi, Z., Aleyasin, A., Eslami, M., Nekoonam, S., Zendedel, A., Bahramrezaie, M., & Amidi, F. (2019). Quercetin protects human granulosa cells against oxidative stress via thioredoxin system. *Reproductive Biology*, *19*(3), 245-254. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2019.07.002

Rattan, S., Zhou, C., Chiang, C., Mahalingam, S., Brehm, E., & Flaws, J. A. (2017). Exposure to endocrine disruptors during adulthood: Consequences for female

fertility. *Journal of Endocrinology*, *233*(3), R109-R129. https://doi.org/10.1530/JOE-17-0023

Ren, M.-X., Deng, X.-H., Ai, F., Yuan, G.-Y., & Song, H.-Y. (2015). Effect of quercetin on the proliferation of the human ovarian cancer cell line SKOV-3 in vitro. *Experimental and Therapeutic Medicine*, *10*(2), 579-583. https://doi.org/10.3892/etm.2015.2536

Richards, J. S. (2018). The Ovarian Cycle. Içinde *Vitamins and Hormones* (C. 107, ss. 1-25). Elsevier. https://doi.org/10.1016/bs.vh.2018.01.009

Riman, T., Nilsson, S., & Persson, I. R. (2004). Review of epidemiological evidence for reproductive and hormonal factors in relation to the risk of epithelial ovarian malignancies. *Acta Obstetricia et Gynecologica Scandinavica*, *83*(9), 783-795. https://doi.org/10.1111/j.0001-6349.2004.00550.x

Risch, H. A. (1998). Hormonal Etiology of Epithelial Ovarian Cancer, With a Hypothesis Concerning the Role of Androgens and Progesterone. *JNCI Journal of the National Cancer Institute*, *90*(23), 1774-1786. https://doi.org/10.1093/jnci/90.23.1774

Rocha, B. A., da Costa, B. R. B., de Albuquerque, N. C. P., de Oliveira, A. R. M., Souza, J. M. O., Al-Tameemi, M., Campiglia, A. D., & Barbosa Jr., F. (2016). A fast method for bisphenol A and six analogues (S, F, Z, P, AF, AP) determination in urine samples based on dispersive liquid-liquid microextraction and liquid chromatography-tandem mass spectrometry. *Talanta*, *154*, 511-519. https://doi.org/10.1016/j.talanta.2016.03.098

Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: A review of the literature. *Reproductive Toxicology*, *42*, 132-155. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2013.08.008

Rolfo, A., Nuzzo, A. M., De Amicis, R., Moretti, L., Bertoli, S., & Leone, A. (2020). Fetal–Maternal Exposure to Endocrine Disruptors: Correlation with Diet Intake and Pregnancy Outcomes. *Nutrients*, *12*(6), 1744-1744. https://doi.org/10.3390/nu12061744

Rosenmai, A. K., Dybdahl, M., Pedersen, M., Alice Van Vugt-Lussenburg, B. M., Wedebye, E. B., Taxvig, C., & Vinggaard, A. M. (2014). Are Structural Analogues to Bisphenol A Safe Alternatives? *Toxicological Sciences*, *139*(1), 35-47. https://doi.org/10.1093/toxsci/kfu030

Rosner, J., Samardzic, T., & Sarao, M. S. (2025). Physiology, Female Reproduction. Içinde *StatPearls*. StatPearls Publishing. Erişim adresi http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537132/ (Erişim tarihi 18 Mayıs 2025)

Rutkowska, A., & Rachoń, D. (2014). Bisphenol A (BPA) and its potential role in the pathogenesis of the polycystic ovary syndrome (PCOS). *Gynecological*

Endocrinology, *30*(4), 260-265. https://doi.org/10.3109/09513590.2013.871517

Rutkowska, A. Z., & Diamanti-Kandarakis, E. (2016). Polycystic ovary syndrome and environmental toxins. *Fertility and Sterility*, *106*(4), 948-958. https://doi.org/10.1016/j.fertnstert.2016.08.031

Salehi, B., Machin, L., Monzote, L., Sharifi-Rad, J., Ezzat, S. M., Salem, M. A., Merghany, R. M., El Mahdy, N. M., Kılıç, C. S., Sytar, O., Sharifi-Rad, M., Sharopov, F., Martins, N., Martorell, M., & Cho, W. C. (2020). Therapeutic Potential of Quercetin: New Insights and Perspectives for Human Health. *ACS Omega*, *5*(20), 11849-11872. https://doi.org/10.1021/acsomega.0c01818

Samova, S., Patel, C. N., Doctor, H., Pandya, H. A., & Verma, R. J. (2018). The effect of bisphenol A on testicular steroidogenesis and its amelioration by quercetin: An in vivo and in silico approach. *Toxicology Research*, *7*(1), 22-31. https://doi.org/10.1039/C7TX00161D

Sampson, J. A. (1927). Peritoneal endometriosis due to the menstrual dissemination of endometrial tissue into the peritoneal cavity. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*, *14*(4), 422-469. https://doi.org/10.1016/S0002-9378(15)30003-X

Sangai, N. P., Patel, C. N., & Pandya, H. A. (2018). Ameliorative effects of quercetin against bisphenol A-caused oxidative stress in human erythrocytes: An *in vitro* and *in silico study*. *Toxicology Research*, *7*(6), 1091-1099. https://doi.org/10.1039/C8TX00105G

Sangai, N. P., Verma, R. J., & Trivedi, M. H. (2014). Testing the efficacy of quercetin in mitigating bisphenol A toxicity in liver and kidney of mice. *Toxicology and Industrial Health*, *30*(7), 581-597. https://doi.org/10.1177/0748233712457438

Sargis, R. M., Heindel, J. J., & Padmanabhan, V. (2019). Interventions to Address Environmental Metabolism-Disrupting Chemicals: Changing the Narrative to Empower Action to Restore Metabolic Health. *Frontiers in Endocrinology*, *10*. https://doi.org/10.3389/fendo.2019.00033

Scsukova, S., Rollerova, E., & Bujnakova Mlynarcikova, A. (2016). Impact of endocrine disrupting chemicals on onset and development of female reproductive disorders and hormone-related cancer. *Reproductive Biology*, *16*(4), 243-254. https://doi.org/10.1016/j.repbio.2016.09.001

Seachrist, D. D., Bonk, K. W., Ho, S.-M., Prins, G. S., Soto, A. M., & Keri, R. A. (2016). A review of the carcinogenic potential of bisphenol A. *Reproductive Toxicology*, *59*, 167-182. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2015.09.006

SEER. (2025). *Cancer of the Ovary—Cancer Stat Facts*. SEER. https://seer.cancer.gov/statfacts/html/ovary.html (Erişim tarihi 18 Mayıs 2025)

Shafabakhsh, R., & Asemi, Z. (2019). Quercetin: A natural compound for ovarian cancer treatment. *Journal of Ovarian Research*, *12*(1), 55. https://doi.org/10.1186/s13048-019-0530-4

Shah, M. Z. U. H., Shrivastva, V. K., Mir, M. A., Sheikh, W. M., Ganie, M. A., Rather, G. A., Shafi, M., Bashir, S. M., Ansari, M. A., Al-Jafary, M. A., Al-Qahtani, M. H., Homeida, A. M., & Al-Suhaimi, E. A. (2023). Effect of quercetin on steroidogenesis and folliculogenesis in ovary of mice with experimentally-induced polycystic ovarian syndrome. *Frontiers in Endocrinology*, *14*, 1153289. https://doi.org/10.3389/fendo.2023.1153289

Shaikh, N., Dadachanji, R., & Mukherjee, S. (2014). Genetic Markers of Polycystic Ovary Syndrome: Emphasis on Insulin Resistance. *International Journal of Medical Genetics*, *2014*, 1-10. https://doi.org/10.1155/2014/478972

Sharma, K. D., Andersson, L. A., Loehr, T. M., Terner, J., & Goff, H. M. (1989). Comparative spectral analysis of mammalian, fungal, and bacterial catalases. Resonance Raman evidence for iron-tyrosinate coordination. *The Journal of biological chemistry*, *264*(22), 12772-12779. https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)51552-0

Shen, Y., Zheng, Y., Jiang, J., Liu, Y., Luo, X., Shen, Z., Chen, X., Wang, Y., Dai, Y., Zhao, J., Liang, H., Chen, A., & Yuan, W. (2015). Higher Urinary Bisphenol A Concentration Is Associated with Unexplained Recurrent Miscarriage Risk: Evidence from a Case-Control Study in Eastern China. *PLOS ONE*, *10*(5), e0127886-e0127886. https://doi.org/10.1371/journal.pone.0127886

Shi, G.-J., Li, Y., Cao, Q.-H., Wu, H.-X., Tang, X.-Y., Gao, X.-H., Yu, J.-Q., Chen, Z., & Yang, Y. (2019). In vitro and in vivo evidence that quercetin protects against diabetes and its complications: A systematic review of the literature. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *109*, 1085-1099. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2018.10.130

Shirani, M., Alizadeh, S., Mahdavinia, M., & Dehghani, M. A. (2019). The ameliorative effect of quercetin on bisphenol A-induced toxicity in mitochondria isolated from rats. *Environmental Science and Pollution Research*, *26*(8), 7688-7696. https://doi.org/10.1007/s11356-018-04119-5

Siddiqui, S., Mateen, S., Ahmad, R., & Moin, S. (2022). A brief insight into the etiology, genetics, and immunology of polycystic ovarian syndrome (PCOS). *Journal of Assisted Reproduction and Genetics*, *39*(11), 2439-2473. https://doi.org/10.1007/s10815-022-02625-7

Sies, H. (1985). Oxidative Stress: Introductory Remarks. İçinde *Oxidative Stress* (ss. 1-8). Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-12-642760-8.50005-3

Sies, H. (1997). Oxidative stress: Oxidants and antioxidants. *Experimental Physiology*, *82*(2), 291-295. https://doi.org/10.1113/expphysiol.1997.sp004024

Sirasanagandla, S. R., Al-Huseini, I., Sakr, H., Moqadass, M., Das, S., Juliana, N., & Abu, I. F. (2022). Natural Products in Mitigation of Bisphenol A Toxicity: Future Therapeutic Use. *Molecules*, *27*(17), 5384. https://doi.org/10.3390/molecules27175384

Sirmans, S., & Pate, K. (2013). Epidemiology, diagnosis, and management of polycystic ovary syndrome. *Clinical Epidemiology*, 1. https://doi.org/10.2147/CLEP.S37559

Smirnoff, N. (2000). Ascorbic acid: Metabolism and functions of a multi-facetted molecule. *Current opinion in plant biology*, *3*(3), 229-235. https://doi.org/10.1016/S1369-5266(00)80070-9

Somm, E., Schwitzgebel, V. M., Toulotte, A., Cederroth, C. R., Combescure, C., Nef, S., Aubert, M. L., & Hüppi, P. S. (2009). Perinatal Exposure to Bisphenol A Alters Early Adipogenesis in the Rat. *Environmental Health Perspectives*, *117*(10), 1549-1555. https://doi.org/10.1289/ehp.11342

Souza, J. M., Chen, Q., Blanchard-Fillion, B., Lorch, S. A., Hertkorn, C., Lightfoot, R., Weisse, M., Friel, T., Paxinou, E., Themistocleous, M., Chov, S., & Ischiropoulos, H. (2001). *Reactive Nitrogen Species and Proteins: Biological Significance and Clinical Relevance* (ss. 169-174). https://doi.org/10.1007/978-1-4615-0667-6_22

Staples, C. A., Dome, P. B., Klecka, G. M., Oblock, S. T., & Harris, L. R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, *36*(10), 2149-2173. https://doi.org/10.1016/S0045-6535(97)10133-3

Steven, S., Frenis, K., Oelze, M., Kalinovic, S., Kuntic, M., Bayo Jimenez, M. T., Vujacic-Mirski, K., Helmstädter, J., Kröller-Schön, S., Münzel, T., & Daiber, A. (2019). Vascular Inflammation and Oxidative Stress: Major Triggers for Cardiovascular Disease. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, *2019*, 1-26. https://doi.org/10.1155/2019/7092151

Suematsu, N., Hosoda, M., & Fujimori, K. (2011). Protective effects of quercetin against hydrogen peroxide-induced apoptosis in human neuronal SH-SY5Y cells. *Neuroscience Letters*, *504*(3), 223-227. https://doi.org/10.1016/j.neulet.2011.09.028

Suh, K. S., Park, S. W., Castro, A., Patel, H., Blake, P., Liang, M., & Goy, A. (2010). Ovarian cancer biomarkers for molecular biosensors and translational medicine. *Expert Review of Molecular Diagnostics*, *10*(8), 1069-1083. https://doi.org/10.1586/erm.10.87

Sul, O.-J., & Ra, S. W. (2021). Quercetin Prevents LPS-Induced Oxidative Stress and Inflammation by Modulating NOX2/ROS/NF-kB in Lung Epithelial Cells. *Molecules*, *26*(22), 6949. https://doi.org/10.3390/molecules26226949

Teede, H., Deeks, A., & Moran, L. (2010). Polycystic ovary syndrome: A complex condition with psychological, reproductive and metabolic manifestations that impacts on health across the lifespan. *BMC Medicine*, *8*(1), 41. https://doi.org/10.1186/1741-7015-8-41

Teekaraman, D., Elayapillai, S. P., Viswanathan, M. P., & Jagadeesan, A. (2019). Quercetin inhibits human metastatic ovarian cancer cell growth and modulates components of the intrinsic apoptotic pathway in PA-1 cell line. *Chemico-Biological Interactions*, *300*, 91-100. https://doi.org/10.1016/j.cbi.2019.01.008

Teleanu, D. M., Niculescu, A.-G., Lungu, I. I., Radu, C. I., Vladâcenco, O., Roza, E., Costăchescu, B., Grumezescu, A. M., & Teleanu, R. I. (2022). An Overview of Oxidative Stress, Neuroinflammation, and Neurodegenerative Diseases. *International Journal of Molecular Sciences*, *23*(11), 5938-5938. https://doi.org/10.3390/ijms23115938

Thoene, M., Rytel, L., Nowicka, N., & Wojtkiewicz, J. (2018). The state of bisphenol research in the lesser developed countries of the EU: a mini-review. *Toxicology Research*, *7*(3), 371-380. https://doi.org/10.1039/c8tx00064f

Tomza-Marciniak, A., Stępkowska, P., Kuba, J., & Pilarczyk, B. (2018). Effect of bisphenol A on reproductive processes: A review of in vitro , in vivo and epidemiological studies. *Journal of Applied Toxicology*, *38*(1), 51-80. https://doi.org/10.1002/jat.3480

Toner, F., Allan, G., Dimond, S. S., Waechter, J. M., & Beyer, D. (2018). In vitro percutaneous absorption and metabolism of Bisphenol A (BPA) through fresh human skin. *Toxicology in Vitro*, *47*, 147-155. https://doi.org/10.1016/j.tiv.2017.11.002

Vaez, S., Parivr, K., Amidi, F., Rudbari, N. H., Moini, A., & Amini, N. (2023). Quercetin and polycystic ovary syndrome; inflammation, hormonal parameters and pregnancy outcome: A randomized clinical trial. *American Journal of Reproductive Immunology*, *89*(3), e13644. https://doi.org/10.1111/aji.13644

Valavanidis, A., Vlachogianni, T., & Fiotakis, C. (2009). 8-hydroxy-2′ -deoxyguanosine (8-OHdG): A Critical Biomarker of Oxidative Stress and Carcinogenesis. *Journal of Environmental Science and Health, Part C*, *27*(2), 120-139. https://doi.org/10.1080/10590500902885684

Vanani, A. R., Mahdavinia, M., Shirani, M., Alizadeh, S., & Dehghani, M. A. (2020). Protective effects of quercetin against oxidative stress induced by bisphenol-

A in rat cardiac mitochondria. *Environmental Science and Pollution Research*, *27*(13), 15093-15102. https://doi.org/10.1007/s11356-020-08048-0

Vance, D. E., & Vance, J. E. (2008). *Biochemistry of Lipids, Lipoproteins and Membranes*. Elsevier. https://doi.org/10.1016/B978-0-444-53219-0.X5001-6

Vandenberg, L. N., Hauser, R., Marcus, M., Olea, N., & Welshons, W. V. (2007). Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reproductive Toxicology*, *24*(2), 139-177. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.07.010

Vasiljevic, T., & Harner, T. (2021). Bisphenol A and its analogues in outdoor and indoor air: Properties, sources and global levels. *Science of The Total Environment*, *789*, 148013-148013. https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2021.148013

Vercellini, P., Viganò, P., Somigliana, E., & Fedele, L. (2014). Endometriosis: Pathogenesis and treatment. *Nature Reviews Endocrinology*, *10*(5), 261-275. https://doi.org/10.1038/nrendo.2013.255

Wang, J., Zhang, C., Zhang, J., Xie, J., Yang, L., Xing, Y., & Li, Z. (2020). The effects of quercetin on immunity, antioxidant indices, and disease resistance in zebrafish (Danio rerio). *Fish Physiology and Biochemistry*, *46*(2), 759-770. https://doi.org/10.1007/s10695-019-00750-2

Wang, Y., Rui, M., Nie, Y., & Lu, G. (2018). Influence of gastrointestinal tract on metabolism of bisphenol A as determined by in vitro simulated system. *Journal of Hazardous Materials*, *355*, 111-118. https://doi.org/10.1016/j.jhazmat.2018.05.011

Wang, Z., Ma, J., Li, X., Wu, Y., Shi, H., Chen, Y., Lu, G., Shen, H., Lu, G., & Zhou, J. (2021). Quercetin induces p53-independent cancer cell death through lysosome activation by the transcription factor EB and Reactive Oxygen Species-dependent ferroptosis. *British Journal of Pharmacology*, *178*(5), 1133-1148. https://doi.org/10.1111/bph.15350

Wetherill, Y. B., Akingbemi, B. T., Kanno, J., McLachlan, J. A., Nadal, A., Sonnenschein, C., Watson, C. S., Zoeller, R. T., & Belcher, S. M. (2007). In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reproductive Toxicology*, *24*(2), 178-198. https://doi.org/10.1016/j.reprotox.2007.05.010

Wolff, M. S., Teitelbaum, S. L., McGovern, K., Pinney, S. M., Windham, G. C., Galvez, M., Pajak, A., Rybak, M., Calafat, A. M., Kushi, L. H., & Biro, F. M. (2015). Environmental phenols and pubertal development in girls. *Environment International*, *84*, 174-180. https://doi.org/10.1016/j.envint.2015.08.008

Wong, K. H., & Durrani, T. S. (2017). Exposures to Endocrine Disrupting Chemicals in Consumer Products—A Guide for Pediatricians. *Current Problems in*

Pediatric and Adolescent Health Care, *47*(5), 107-118. https://doi.org/10.1016/j.cppeds.2017.04.002

Wu, G., Lupton, J. R., Turner, N. D., Fang, Y.-Z., & Yang, S. (2004). Glutathione Metabolism and Its Implications for Health. *The Journal of Nutrition*, *134*(3), 489-492. https://doi.org/10.1093/jn/134.3.489

Xin, F., Jiang, L., Liu, X., Geng, C., Wang, W., Zhong, L., Yang, G., & Chen, M. (2014). Bisphenol A induces oxidative stress-associated DNA damage in INS-1 cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, *769*, 29-33. https://doi.org/10.1016/j.mrgentox.2014.04.019

Xin, L., Lin, Y., Wang, A., Zhu, W., Liang, Y., Su, X., Hong, C., Wan, J., Wang, Y., & Tian, H. (2015). Cytogenetic evaluation for the genotoxicity of bisphenol-A in Chinese hamster ovary cells. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, *40*(2), 524-529. https://doi.org/10.1016/j.etap.2015.08.002

Xu, J., Osuga, Y., Yano, T., Morita, Y., Tang, X., Fujiwara, T., Takai, Y., Matsumi, H., Koga, K., Taketani, Y., & Tsutsumi, O. (2002). Bisphenol A Induces Apoptosis and G2-to-M Arrest of Ovarian Granulosa Cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *292*(2), 456-462. https://doi.org/10.1006/bbrc.2002.6644

Xu, X.-L., Deng, S.-L., Lian, Z.-X., & Yu, K. (2021). Estrogen Receptors in Polycystic Ovary Syndrome. *Cells*, *10*(2), 459. https://doi.org/10.3390/cells10020459

Yamasaki, K. (2004). Comparative study of the uterotrophic potency of 14 chemicals in a uterotrophic assay and their receptor-binding affinity. *Toxicology Letters*, *146*(2), 111-120. https://doi.org/10.1016/j.toxlet.2003.07.003

Yang, Y., Lu, L., Zhang, J., Yang, Y., Wu, Y., & Shao, B. (2014). Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography–electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, *1328*, 26-34. https://doi.org/10.1016/j.chroma.2013.12.074

Yi, L., Zongyuan, Y., Cheng, G., Lingyun, Z., GuiLian, Y., & Wei, G. (2014). Quercetin enhances apoptotic effect of tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL) in ovarian cancer cells through reactive oxygen species (ROS) mediated enhancer-binding protein homologous protein (CHOP)-death receptor 5 pathway. *Cancer Science*, *105*(5), 520-527. https://doi.org/10.1111/cas.12395

Yu, Y., Huang, Q., Cui, J., Zhang, K., Tang, C., & Peng, X. (2011). Determination of pharmaceuticals, steroid hormones, and endocrine-disrupting personal care products in sewage sludge by ultra-high-performance liquid chromatography–tandem mass spectrometry. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, *399*(2), 891-902. https://doi.org/10.1007/s00216-010-4295-2

Zeng, F., Lerro, C., Lavoué, J., Huang, H., Siemiatycki, J., Zhao, N., Ma, S., Deziel, N. C., Friesen, M. C., Udelsman, R., & Zhang, Y. (2017). Occupational exposure to pesticides and other biocides and risk of thyroid cancer. *Occupational and Environmental Medicine*, *74*(7), 502-510. https://doi.org/10.1136/oemed-2016-103931

Zhang, K.-S., Chen, H.-Q., Chen, Y.-S., Qiu, K.-F., Zheng, X.-B., Li, G.-C., Yang, H.-D., & Wen, C.-J. (2014). Bisphenol A stimulates human lung cancer cell migration via upregulation of matrix metalloproteinases by GPER/EGFR/ERK1/2 signal pathway. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, *68*(8), 1037-1043. https://doi.org/10.1016/j.biopha.2014.09.003

Zhang, N., Zhao, Y., Zhai, L., Bai, Y., Wei, W., Sun, Q., & Jia, L. (2024). Urinary concentrations of bisphenol A and its alternatives: Potential predictors of and associations with antral follicle count among women from an infertility clinic in Northern China. *Environmental Research*, *249*, 118433. https://doi.org/10.1016/j.envres.2024.118433

Zheng, S., Chen, Y., Ma, M., & Li, M. (2022). Mechanism of quercetin on the improvement of ovulation disorder and regulation of ovarian CNP/NPR2 in PCOS model rats. *Journal of the Formosan Medical Association*, *121*(6), 1081-1092. https://doi.org/10.1016/j.jfma.2021.08.015

Zhou, X., Kramer, J. P., Calafat, A. M., & Ye, X. (2014). Automated on-line column-switching high performance liquid chromatography isotope dilution tandem mass spectrometry method for the quantification of bisphenol A, bisphenol F, bisphenol S, and 11 other phenols in urine. *Journal of Chromatography B*, *944*, 152-156. https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2013.11.009

Zoeller, R. T., Brown, T. R., Doan, L. L., Gore, A. C., Skakkebaek, N. E., Soto, A. M., Woodruff, T. J., & Vom Saal, F. S. (2012). Endocrine-Disrupting Chemicals and Public Health Protection: A Statement of Principles from The Endocrine Society. *Endocrinology*, *153*(9), 4097-4110. https://doi.org/10.1210/en.2012-1422

EKLER

Ek 1: İntihal Raporu



11% Overall Similarity

The combined total of all matches, including overlapping sources, for each database.

Top Sources

11% Internet sources
6% Publications
0% Submitted works (Student Papers)

Integrity Flags

0 Integrity Flags for Review

No suspicious text manipulations found.

Our system's algorithms look deeply at a document for any inconsistencies that would set it apart from a normal submission. If we notice something strange, we flag it for you to review.

A Flag is not necessarily an indicator of a problem. However, we'd recommend you focus your attention there for further review.

iThenticate Page 2 of 111 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::3117:528945982

Top Sources

11% Internet sources
6% Publications
0% Submitted works (Student Papers)

Top Sources

The sources with the highest number of matches within the submission. Overlapping sources will not be displayed.

1	Internet	
acikbilim.yok.gov.tr		3%
2	Internet	
www.openaccess.hacettepe.edu.tr:8080		3%
3	Internet	
www.lokmanhekim.edu.tr		1%
4	Internet	
openaccess.hacettepe.edu.tr		<1%
5	Internet	
kolay.lokmanhekim.edu.tr		<1%
6	Internet	
www.researchgate.net		<1%
7	Internet	
openaccess.hacettepe.edu.tr:8080		<1%
8	Internet	
acikerisim.pau.edu.tr:8080		<1%
9	Internet	
hdl.handle.net		<1%
10	Internet	
repository.ukim.mk		<1%
11	Publication	
Muratoğlu, Beril. "Dentin Remineralizasyonunda Riboflavin'in Etkisinin Incelenm...		<1%

iThenticate Page 3 of 111 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::3117:528945982

12	Internet	
docplayer.biz.tr		<1%
13	Publication	
Duruel, Harika Eylül Esmer. "Glufosinat-Amonyum'un Zebra Balığı (Danio Rerio) Ü...		<1%
14	Internet	
deepblue.lib.umich.edu		<1%
15	Publication	
Atlihan, irem. "Meme Kanseri Hucre Soylarinda Flurbiprofen Turevi SGK597 Bilesi...		<1%
16	Publication	
Kanlı, Zehra. "Fisetin ile Kombine Edilmiş Kemoterapi Ilaçlarının Kolorektal Kanse...		<1%
17	Internet	
bibliosante.ml		<1%
18	Internet	
www.sciencepub.net		<1%
19	Publication	
Babali Balibey, Fatmanur. "Kurkumin yüklü PLGA - DSPE hibrit nanopartiküllerin ...		<1%
20	Publication	
Gül, Hatice Kübra. "Günlük Yaşantımızda Mikrokirleticilere Kişisel Maruziyet Düze...		<1%
21	Publication	
Erol, Aylin. "Çocukluk Çağı Tümörlerinde Seskiterpen Laktonların Etkisi", Dokuz E...		<1%
22	Internet	
tr.binmeibio-es.com		<1%
23	Internet	
www.mdpi.com		<1%
24	Publication	
Yalmancı, Dilara. "Berrak Nar Suyu Konsantrelerînde İşleme Sonrasi Oluşan Tortu...		<1%
25	Internet	
projekti.imi.hr		<1%

26	Internet	
acikerisim.nku.edu.tr		<1%
27	Internet	
lume.ufrgs.br		<1%
28	Internet	
tur.bioconus.com		<1%
29	Internet	
www.eurasianbiochem.org		<1%
30	Internet	
www.jove.com		<1%
31	Publication	
Kurtuluş, Mustafa. "Çölyak hastaliğinda themis ve RUNX 3 genlerİnİn ekspresyonl...		<1%
32	Internet	
dspace.trakya.edu.tr:8080		<1%
33	Internet	
eprints.uniss.it		<1%
34	Publication	
Baghishov, Damat. "Bir-üç ay arası anne sütü ve biberon ile beslenen çocukların i...		<1%
35	Internet	
acikerisim.harran.edu.tr:8080		<1%
36	Internet	
bcb1cbad-d907-474e-a4a2-adcfde6e37f0.filesusr.com		<1%
37	Internet	
diyetisyenesor.wordpress.com		<1%
38	Internet	
tez.sdu.edu.tr		<1%
39	Internet	
tr.ulfsciences.com		<1%

iThenticate Page 5 of 111 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::3117:528945982

40 Publication
Örenli, Demet. "Bisfenol - A tayini Için geliştirilen sensör ve biyosensörün perfor... <1%

41 Publication
Özşahīn, Abdulkadīr. "Farklı Yapısal Özellikteki Nikel-titanyum Kök Kanal Enstrü... <1%

42 Publication
Şen, Selen. "Karbonik Anhidraz Inhibitörü Metilenaminobenzen Sülfonamit Türevl... <1%

43 Publication
Er, Buket. "Ton Balığı Konservelerinde Katı faz Ekstraksiyon ve HPLC Metodu Ile B... <1%

44 Publication
da Silva, Ana Beatriz Precatado. "Internship Report and Monography Entitled End... <1%

45 Publication
"Poster Özetleri / Poster Abstracts", Turkish Journal of Biochemistry, 2015 <1%

46 Publication
Ade Gafar Abdullah, Isma Widiaty, Cep Ubad Abdullah. "Medical Technology and ... <1%

47 Publication
Çakici, Maside. "ModiÌ‡fiÌ‡ye Camsi Karbon Elektrot Ile BiÌ‡sfenol a ve BiÌ‡sfenol ... <1%

iThenticate Page 6 of 111 - Integrity Overview Submission ID trn:oid:::3117:528945982

ÖZGEÇMİŞ

I- Bireysel Bilgiler

Adı: İdil

Soyadı: KAYAR

II- Eğitim

Yüksek Lisans: Lokman Hekim Üniversitesi / Sağlık Bilimleri Enstitüsü / Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı (2023-)

Lisans: Lokman Hekim Üniversitesi / Eczacılık Fakültesi (2018- 2023)

III- Mesleki Deneyimi

IV- Üye Olduğu Bilimsel Kuruluşlar

V- Bilimsel Yayınları

VI- Bilimsel Etkinlikleri

Projeler: Bisfenol A ve Bisfenol F'nin İnsan Meme Kanseri Hücrelerinde (MCF7) Oksidatif Stres İndükleyici Etkisi Üzerinde Kersetinin Etkilerinin Değerlendirilmesi, Lokman Hekim Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi, Lisansüstü Tez Projesi, Araştırmacı; Proje No: TYL-2025-113 (20.02.2025-20.08.2025)

VII- Katıldığı Diğer Eğitim Programları