

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
VETERİNERLİK HİSTOLOJİ-EMBRİYOLOJİ
YÜKSEK LİSANS PROGRAMI
YL-2025-0055

RAT PANKREASINDA 4-NONİLFENOL TOKSİKASYONUNA
KARŞI GALLİK ASİT VE LİKOPENİN KORUYUCU
ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Serkan MENDERES
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN
Prof. Dr. Şadiye KUM

Bu tez çalışması Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi tarafından VTF-24003 proje numarası ile desteklenmiştir.

AYDIN-2025

KABUL VE ONAY

T.C. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji (Veteriner) Anabilim Dalı Yüksek Lisans Programı öğrencisi Serkan MENDERES tarafından hazırlanan “Rat Pankreasında 4-Nonilfenol Toksikasyonuna Karşı Gallik Asit ve Likopenin Koruyucu Etkisinin Araştırılması” başlıklı tez, aşağıdaki jüri üyeleri tarafından Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Savunma Tarihi: 10/07/2025

Üye (T.D.) : Prof. Dr. Şadiye KUM	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi
Üye : Doç. Dr. Mustafa YILDIZ	Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi
Üye : Doç. Dr. Özay GÜLEŞ	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi

ONAY:

Bu tez Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Lisansüstü Eğitim-Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca jüri tarafından uygun görülmüş ve Sağlık Bilimleri Enstitüsünün .../.../... tarih ve Sayılı oturumunda alınan nolu Yönetim Kurulu kararıyla kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Süleyman AYPAK

Enstitü Müdürü

TEŞEKKÜR

Tez çalışmam sırasında engin bilgi, birikim ve tecrübelerinden yararlandığım, bana her konuda yol gösterici olan değerli danışman hocam sayın Prof. Dr. Şadiye KUM'a sonsuz teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Yüksek lisans eğitimim ve tez çalışmalarım süresince yardımlarını benden hiç esirgemeyen değerli hocalarım Prof. Dr. Ülker EREN, Prof. Dr. Mustafa SANDIKÇI, Prof. Dr. Levent KARAGENÇ, Doç. Dr. Özay GÜLEŞ ve Dr. Göksel DOĞAN'a ayrıca teşekkür ederim.

Yüksek lisans eğitimim süresince, elinden gelen her türlü yardımı sunan arkadaşlarım Pınar AY ve Emine ÖZEL'e teşekkür ederim.

Tüm okul hayatım boyunca maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan, başarılarımla her zaman gurur duyan aileme ve her koşulda benden desteklerini hiç esirgemeyen, her türlü zorlukta bana yardımcı olan canım eşim ve sevgili çocuklarıma teşekkürlerimi ve minnettarlığımı sunarım.

İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY	i
TEŞEKKÜR	ii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	viii
RESİMLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	xii
ÖZET	xiii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	6
2.1. Homeostazi Kavramı	6
2.1.1. Kan Şekerinin Ayarlanması	6
2.2. Pankreas	7
2.2.1. Pankreasın Öneminin Keşfi	7
2.2.2. Pankreasın Yapısı	8
2.2.3. Pankreasın Gelişimi	9
2.2.4. Pankreas Anatomisi	10
2.2.4.1. Kaput Pankreatis	12
2.2.4.2. Kollum Pankreatis	12
2.2.4.3. Korpus Pankreatis	12
2.2.4.4. Kauda Pankreatis	12
2.2.5. Pankreasın Kanalları	13
2.2.5.1. Duktus Pankreatikus	13
2.2.5.2. Duktus Pankreatikus Aksessorius	13
2.3. 4-Nonilfenol	13

2.3.1. 4-Nonilfenolün Yapısı	14
2.3.2. 4-Nonilfenolün Etkileri.....	16
2.4. Gallik Asit	19
2.4.1. Gallik Asitin Yapısı	19
2.4.2. Gallik Asitin Etkileri	21
2.5. Likopen.....	23
2.5.1. Likopenin Yapısı	23
2.5.2. Likopenin Etkileri.....	25
3. GEREÇ VE YÖNTEM.....	27
3.1. Gereç.....	27
3.2. Yöntem	28
3.2.1. Histolojik Yöntem	28
3.2.1.1. Üçlü Boyama Metodunun Uygulanması	28
3.2.1.2. Periyodik Asit–Schiff (PAS) Boyama Metodunun Uygulanması	29
3.2.1.3. Hematoksilen-Eozin (HE) Boyama Metodunun Uygulanması	30
3.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem	30
3.2.2.1. Streptavidin-Biotin Peroksidaz Boyama Metodu	30
3.2.3. İstatiksel Değerlendirme.....	32
4. BULGULAR	33
4.1. Histolojik Bulgular	33
4.1.1. Triple Boyama Metodu.....	33
4.1.2. Periyodik Asit–Schiff (PAS) Boyama Metodu	40
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular	57
4.2.1. Streptavidin-peroksidaz Boyama Metodu – Caspase-3.....	57
4.2.2. Streptavidin-peroksidaz Boyama Metodu – İnsülin	64
4.3. Histomorfolojik Bulgular	71

5. TARTIŞMA.....	74
6. SONUÇ VE ÖNERİLER	86
KAYNAKLAR.....	87
EKLER	109
BİLİMSEL ETİK BEYANI	110
ÖZ GEÇMİŞ.....	111

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

AFE	: Alkilfenol Etoksilat
ALP	: Alkalen Fosfataz
BFA	: Bisfenol A
DAB	: Diamino Benziolin
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
ED	: Endokrin Bozucu
ER	: Endoplazmik Retikulum
GA	: Gallik Asit
GSH	: Glutasyon
HE	: Hematoksilen-Eozin
H₂O₂	: Hidrojen Peroksit
HDL	: Yüksek Yoğunluklu Lipoprotein
HIV	: İnsan Bağışıklık Yetmezliği Virüsü
LDL	: Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
MDA	: Malondialdehid
NF	: Nonilfenol
NFE	: Nonilfenol Etoksilat
NO₂	: Nitrojen Dioksit
OF	: Oktilfenol
OH	: Hidroksil Radikali
PAS	: Periyodik Asit-Schiff
PBS	: Fosfat Tampon Solüsyonu
PE	: Polietilen
PET	: Polietilenterefhalat

PP	: Polipropilen
PS	: Polistiren
PVC	: Polivinilklorid
ROS	: Reaktif Oksijen Bileşikleri
SGOT	: Serum Glutamik Oksaloasetik Transaminaz
SGPT	: Serum Glutamik Pirüvik Transaminaz
SPSS	: Statistical Packag for Social Sciences
SST	: Somatostatin
STZ	: Streptozotosin
TAK	: Total Antioksidan
TBS	: Tris Buffered Saline
UV	: Ultraviyole
VLDL	: Çok Düşük Yoğunluklu Lipoprotein
WHO	: Dünya Sağlık Örgütü

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1. Pankreasın genel görünümü	11
Şekil 2. Nonilfenolün kimyasal yapısı	15
Şekil 3. 4-Nonilfenoletoksilat, 17 β -Östradiol, 4-Nonilfenol yapılarının karşılaştırılması.....	16
Şekil 4. Gallik asitin kimyasal yapısı	21
Şekil 5. Likopenin kimyasal yapısı	24

RESİMLER DİZİNİ

Resim 1. Triple Boyama Metodu Kontrol Grubu Görüntüsü.	34
Resim 2. Triple Boyama Metodu Likopen Grubu Görüntüsü.....	34
Resim 3. Triple Boyama Metodu Gallik Asit Grubu Görüntüsü.	35
Resim 4. Triple Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü	35
Resim 5. Triple Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü	36
Resim 6. Triple Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü	36
Resim 7. Triple Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	37
Resim 8. Triple Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	37
Resim 9. G Triple Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	38
Resim 10. Triple Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	38
Resim 11. PAS Boyama Metodu Kontrol Grubu Görüntüsü.....	40
Resim 12. PAS Boyama Metodu Kontrol Grubu Görüntüsü.....	41
Resim 13. PAS Boyama Metodu Kontrol Grubu Damar Görüntüsü	42
Resim 14. PAS Boyama Metodu Likopen Grubu Görüntüsü	42
Resim 15. PAS Boyama Metodu Likopen Grubu Görüntüsü	43
Resim 16. PAS Boyama Metodu Gallik Asit Grubu Görüntüsü	43
Resim 17. PAS Boyama Metodu Gallik Asit Grubu Damar Görüntüsü.....	44
Resim 18. PAS Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü.....	44
Resim 19. 4 PAS Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü.....	45
Resim 20. PAS Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü.....	46
Resim 21. PAS Boyama Metodu 4-NF Grubu Damar Görüntüsü.	46
Resim 22. PAS Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.	47
Resim 23. PAS Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.	48
Resim 24. PAS Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Damar Görüntüsü	48

Resim 25. PAS Boyama Metodu Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü	49
Resim 26. PAS Boyama Metodu Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	50
Resim 27. PAS Boyama Metodu Gallik Asit + 4-NF Grubu Damar Görüntüsü..	50
Resim 28. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu Kontrol Grubu Görüntüsü	51
Resim 29. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu Likopen Grubu Görüntüsü.	52
Resim 30. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu Gallik Asit Grubu Görüntüsü.	53
Resim 31. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü	53
Resim 32. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu 4-NF Grubu Görüntüsü	54
Resim 33. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	55
Resim 34. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	55
Resim 35. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü.	56
Resim 36. Hematoksilen-Eozin Boyama Metodu Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü.	56
Resim 37. Streptavidin - Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) Kontrol Grubu Görüntüsü.....	58
Resim 38. Streptavidin - Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) Likopen Grubu Görüntüsü.....	59
Resim 39. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) Gallik Asit Grubu Görüntüsü.....	59
Resim 40. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) 4-NF Grubu Görüntüsü....	60
Resim 41. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) 4-NF Grubu Görüntüsü....	60
Resim 42. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	61
Resim 43. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	61
Resim 44. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	62
Resim 45. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (Caspase-3) Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	63

Resim 46. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) Kontrol Grubu Görüntüsü....	65
Resim 47. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) Likopen Grubu Görüntüsü	66
Resim 48. Streptavidin – Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) Gallik Asit Grubu Görüntüsü.....	66
Resim 49. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) 4-NF Grubu Görüntüsü.....	67
Resim 50. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) 4-NF Grubu Görüntüsü.....	68
Resim 51. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	69
Resim 52. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) Likopen + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	69
Resim 53. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü.....	70
Resim 54. Streptavidin-Peroksidaz Boyama Metodu (İnsülin) Gallik Asit + 4-NF Grubu Görüntüsü	70

TABLÖLAR DİZİNİ

Tablo 1. 4-NF'nin genel özellikleri	15
Tablo 2. Gallik asitin genel özellikleri	20
Tablo 3. Kontrol ve deney gruplarının pankreaslarında Langerhans adacıklarındaki hücresel dejenerasyonun yoğunluk değerleri	39
Tablo 4. Kontrol ve deney gruplarında pankreasın Langerhans adacıklarında caspase-3 immünoaktivitesinin yoğunluk değerleri	64
Tablo 5. Kontrol ve deney gruplarının pankreaslarında Langerhans adacıklarının sayıları	72
Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarının pankreaslarında Langerhans adacıklarının çap (μm) ve alan (μm^2) değerleri	72

ÖZET

RAT PANKREASINDA 4-NONİLFENOL TOKSİKASYONUNA KARŞI GALLİK ASİT VE LİKOPENİN KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI

Menderes S. Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Histoloji-Embriyoloji Yüksek Lisans Programı (Veteriner), Yüksek Lisans Tezi, Aydın, 2025.

Amaç: Bu çalışmada 4-nonilfenol (4-NF), verilmiş ratlarda gallik asit (GA) ve likopenin (L), pankreastaki koruyucu etkisinin olup olmadığının histolojik olarak araştırılması amaçlandı.

Gereç ve Yöntem: Çalışma kapsamında 36 adet Sprague dawley rat kullanıldı. Deneme; kontrol grubu, 4-NF grubu, GA grubu, likopen grubu, GA + 4-NF grubu ve L + 4-NF grubu (n=6) olmak üzere altı grup halinde yürütüldü. 28 gün sonunda ratların pankreasları alınarak rutin doku takibinden sonra parafinde bloklandı. Proje kapsamında; her bir gruptan 100 µm ara ile 6 µm'lik seri kesitler alınarak, genel histolojik inceleme için Hematoksilen-Eozin (HE), Periyodik-asit Schiff (PAS), Triple boyama yöntemleri uygulandı. Pankreasın endokrin bölümünde bulunan hücrelerin apoptotik hücre yoğunluğunu, adacık sayısını, adacık çapını ve alanını hesaplamak için streptavidin-biyotin-peroksidaz boyama yöntemi uygulandı. Elde edilen veriler Kruskal Wallis testine tabi tutularak gerekli istatistiksel analizler yapıldı.

Bulgular: Triple, PAS ve HE boyama yöntemleri kullanılarak boyanan kesitlerde, kontrol, GA ve likopen gruplarının benzer histomorfolojik görünümüne sahip olduğu, dokunun olması gerektiği gibi normal bir görünümde olduğu, 4-NF grubundaki kesitlerde hücresel dejenerasyonların olduğu, L + 4-NF ve GA + 4-NF gruplarındaki kesitlerde hücresel dejenerasyonların azaldığı tespit edildi. Streptavidin-biyotin-peroksidaz boyama yönteminden elde ettiğimiz bulgulara da, 4-NF grubunda apoptozisin arttığı, adacıkların sayısının azaldığı ve boyutlarının küçüldüğü görüldü. Yapılan istatistiksel analizde de bu verilerimiz doğrulandı.

Sonuç: Bu çalışma ile 4-NF'nin pankreas dokusuna zarar verdiği, buna karşın GA ve likopenin koruyucu etki göstererek bu zararı azaltmaya çalıştığı sonucuna ulaşıldı.

Anahtar Kelimeler: 4-Nonilfenol, Gallik Asit, Likopen, Pankreas, Rat.

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE PROTECTIVE EFFECTS OF GALLIC ACID AND LYCOPENE AGAINST 4-NONYLPHENOL TOXICITY IN RAT PANCREAS

Menderes S. Aydın Adnan Menderes University, Institute of Health Sciences, Master's Program in Histology and Embryology (Veterinary), Master's Thesis, Aydın, 2025.

Objective: This study aimed to histologically investigate whether gallic acid (GA) and lycopene (L) have a protective effect on the pancreas of rats exposed to 4-nonylphenol (4-NF).

Materials and Methods: A total of 36 Sprague Dawley rats were used. The study was conducted in six groups: control, 4-NF, GA, lycopene, GA + 4-NF, and L + 4-NF (n=6 per group). The experiment lasted for 28 days. At the end of the experimental period, pancreatic tissues were collected, fixed routinely, and embedded in paraffin. Serial sections of 6 µm thickness were taken at 100 µm intervals and stained with Hematoxylin-Eosin (HE), Periodic Acid-Schiff (PAS), and Triple staining for general histological evaluation. Streptavidin-biotin-peroxidase staining method was applied to calculate the apoptotic cell density, islet number, islet diameter and area of the cells in the endocrine compartment of the pancreas. Data were statistically analyzed using the Kruskal-Wallis test.

Results: In sections stained with Triple, PAS, and HE, the control, GA, and lycopene groups displayed similar and normal histomorphological features, while prominent cellular degeneration was observed in the 4-NF group. Reduced degeneration was noted in the GA + 4-NF and L + 4-NF groups. Immunohistochemical analysis revealed increased apoptosis, decreased islet number, and smaller islet sizes in the 4-NF group. These findings were confirmed statistically.

Conclusion: This study concluded that 4-NF causes damage to pancreatic tissue, and both GA and lycopene exert protective effects by mitigating this damage.

Keywords: 4-Nonylphenol, Gallic Acid, Lycopene, Pancreas, Rat.

1. GİRİŞ

Nüfus artışı ve teknolojiadaki hızlı değişim çevreninde hızlı bir şekilde değişmesine ve kirlenmesine neden olmaktadır. Özellikle sanayi ve teknoloji alanında faaliyet gösteren fabrikalardan çıkan radyoaktif, katı, sıvı ve gaz haldeki kirleticiler; hava, toprak ve su ortamlarında hızla birikmekte ve çevre sorunlarına neden olmaktadır. Günümüzde çevre sorunlarına neden olan kirleticiler arasında en çok alkoller, aldehytler, hidrokarbonlar, pestisitler, fenolikler, alkilfenolikler, steroller, dioksinler, poliaromatikler, deterjanlar, ağır metal iyonu içeren bileşikler, poliklorobifenil (PCB) ve polibrobifenil (PBB) gibi kimyasallar, farmosötik kaynaklı hormonal veya anti hormonal ilaçlar yer almaktadır (Toppari ve diğerleri, 1996; Crisp ve diğerleri, 1998).

Çevre kirliliğine neden olan bu maddelerin birçoğu canlılar üzerinde de olumsuz etkilere neden olmaktadır. Bu kirleticiler özellikle canlıların hormonal sistemlerini olumsuz etkilemektedir. Endokrin bozucu (ED) kimyasallar olarak da ifade edilen bu moleküller, hormonal sistemin gelişimi ve işleyişini bozmaktadır. Endokrin bozucu kimyasallar hormonların üretimini, salgılanmasını, hücrelere bağlanmasını, taşınımını, aktivitesini, yıkımlarını ve vücuttan atılımlarını olumsuz etkilemektedir (Yeşilkaya, 2008).

Ksenoöstrojen olarak isimlendirilen bir grup çevresel kirletici hormon benzeri etkiler göstererek metabolizmanın işleyişini bozar. Bu kimyasal maddeler vücuttan salınan hormonları taklit ederek, hücre metabolizmasını bozmakta, vücut gelişimini ve doğurganlığı doğrudan etkilemektedir (Soares ve diğerleri, 2008; Jacobsen ve diğerleri, 2010). Ksenoöstrojenler endokrin sistemi farklı şekillerde etkilemektedir. Etki mekanizmalarından biri hücrelerdeki hormon reseptörlerine bağlanarak hormon gibi davranmaları, bir diğer etki mekanizması ise vücutta doğal olarak üretilen hormonların ilgili hücre reseptörlerine bağlanmasını engelleyerek anti hormon özelliği sergilemeleridir. Yani bu moleküller hormonları taklit edebilir veya onların etki göstermelerini engelleyebilirler. Bu nedenle ksenoöstrojenik kimyasallar endokrin sistemin işleyişini olumsuz etkilemektedir (Carney ve diğerleri, 1997; Cook ve diğerleri, 1997; Bolger ve diğerleri, 1998).

Alkilfenol etoksilat (AFE) bileşikler, biyolojik olarak kolay parçalanma özelliğinde olan bileşiklerdir. AFE bileşikler sularda biyolojik olarak kolayca parçalanır ve bütifenol, oktilfenol (OF) ve nonilfenol (NF) gibi bileşiklere dönüşür. Bu bileşiklerden özellikle NF ve OF bileşikler hidrofobik özellikli olup oldukça zehirlidir. Yapılan birçok çalışma bu

bileşiklerin endokrin bozucu özelliği olduğunu kanıtlamıştır. Özellikle nonilfenol, AFE bileşiklerinin %82 gibi büyük bir çoğunluğunu oluşturur ve bu molekül biyolojik bozunuma karşı oldukça dayanıklıdır (Ackermann ve diğerleri, 2002; Hale ve diğerleri, 2000; Nimrod ve Benson, 1996; Shang ve diğerleri, 1999; Kwack ve diğerleri, 2002).

NF ve bisfenol-A (BFA) östradiol (17β -estradiol) hormonu ile yapısal olarak benzerdir. Bu nedenle hem NF hem de BFA östrojen hormonunu taklit edebilmektedir. Östradiol dişilerde kadınlık özelliklerinin ortaya çıkmasını sağlayan östrojen hormonunun bir çeşididir. Bu hormon dişi cinsel organlarının gelişimi, olgunlaşması ve menstural döngüde etkili iken erkeklerde az miktardaki oranı ile prostat ve meme dokusunun gelişmesinde etkilidir (Ergün, 2013). NF ve BFA gibi bu tür kimyasallar yapısal olarak östrojene çok benzedikleri için vücuttaki östrojen reseptörlerini işgal etmektedirler. Bundan dolayı bu kimyasallara ksenoöstrojenler denir. Bu kimyasalların parçalanma ürünleri ise vücutta östrojenik, toksik, karsinojenik ve mutajenik etkiler gösterebilmektedir (Toppari ve diğerleri, 1996; Bigsby ve diğerleri, 1999).

Günümüzde deterjanlar, boyalar, kozmetik ürünleri, herbisitler ve pestisitler gibi birçok üründe NF yaygın olarak kullanılmaktadır. Yapılan çalışmalar östrojenik özellik gösteren NF'nin kemirgen testis ve epididimislerine de zarar verdiğini göstermiştir (De Jager ve diğerleri, 1999a; De Jager ve diğerleri, 1999b).

Nonilfenol etoksilatlar (NFE) hem ev içi hem de endüstriyel emülsiyonlaştırıcı olarak; lateks, boya, plastik, kağıt ve temizlik deterjanları üretiminde, deri ve tekstil işlemede sıklıkla kullanılmaktadır. Ayrıca bazı NFE türevleri pestisit yapımında da tercih edilmektedir (Chokwe ve diğerleri, 2017). NFE'lerin birçok alanda kullanımı nedeniyle evsel ve endüstriyel atıklar yoluyla NFE doğaya karışmaktadır. NFE'ler doğaya karıştıktan sonra NF, nonilfenol monoetoksilat ve nonilfenol dietoksilat gibi ara metabolik bileşiklere dönüşebilmektedir (Ahel ve diğerleri, 1994).

4-NF, yapısında bulunan benzen halkasından dolayı biyolojik parçalanmaya (biyodegradasyon) karşı dirençli ayrıca biyolojik birikime (biyoakümülyasyon) de oldukça uygun bir bileşiktir (Brunner ve diğerleri, 1988). İngiltere Çevre Ajansı 4-NF'nin su içerisindeki biyodegradasyon yarı ömrünün 150 gün olduğunu duyurmuştur (Warhurst, 1995). NF'nin sediment içerisindeki yarı ömrünün ise 60 yıl olduğu bildirilmiştir (Shang ve diğerleri, 1999). NF'nin hidrofobik ve uzun yarılanma ömrüne sahip olması, canlılarda toksik etkiye

neden olmakta, hayvanlarda erkek üremesine, pankreas ve daha birçok organa zarar vermektedir (Li ve diğerleri, 2017).

Pankreas hem endokrin hem de ekzokrin özellik gösteren glandüler yapıli karma bir organdır. Sindirim sistemi için gerekli sıvıları, enzimleri ve iyonları salgılayarak ekzokrin özellik gösterirken, özellikle glikoz homeostazisi ve hücre metabolizması için gerekli olan hormonları üretip salgılayarak endokrin özellik gösterir. Pankreasın yapısal olarak %85'i ekzokrin, %2'si endokrin hücrelerden oluşmaktadır (Akkelle ve Tutar, 2022).

Ekzokrin pankreas tubulo-alveolar yapıli bir bezdir. Pankreasın bu kısmından enzimler ve bikarbonat açısından zengin salgılar üretilir. Pankreas günde ortalama 1500 – 2000 ml kadar ekzokrin salgı üreterek salgılar. Ekzokrin pankreas asinüs denilen hücrelerden ve duktus denilen kanallardan oluşur. Asinüsler ekzokrin pankreasın işlevsel birimleridir. Burada bulunan asiner hücrelerden sindirim enzimleri, sentroasiner hücrelerden ise sıvı ve elektrolitler salgılanır. Asiner hücrelerin apikal kısımlarında içerisinde inaktif enzimlerin bulunduğu zimojen granüller yer alır. Hücre çekirdeği ve endoplazmik retikulumları bazala yerleşmiştir (Guyton ve Hall, 2006; WF, 2001; Junqueira ve Carneiro, 2006).

Ekzokrin pankreasın asiner hücreleri tarafından üretilen salgsında amilolitik, lipolitik ve proteolitik enzimler bulunur. Bu enzimler karbonhidrat, yağ ve protein sindiriminden sorumludur. Asiner hücreler tarafından üretilen enzimler ihtiyaç duyulana kadar hücre içerisindeki salgı veziküllerinde depo edilir. İhtiyaç durumunda ekzositoz ile pankreatik kanala boşaltılır ve bu kanal aracılığıyla enzimler duedonuma ulaşır. Duedonumda besinlerin sindirimi yüksek oranda bu enzimler sayesinde gerçekleşir (Sherwood, 2011).

Endokrin pankreas ise “Langerhans adacıkları” olarak adlandırılan hücre gruplarından oluşur ve bu adacıklar tüm pankreas hacminin sadece %1-2'si kadardır. Endokrin pankreasın işlevi hücrelerde glukoz, yağ asitleri ve aminoasitlerin kullanılabilirliğini düzenlemektir (Widmaier ve diğerleri, 2022). Bunlar genellikle adacıkların periferinde bulunan ve glukagon hormonu üreten α hücreleri, genellikle adacıkların merkezinde bulunan ve insülin hormonunu üreten β hücreleri, adacığın içerisinde dağılmış halde bulunan ve somatostatin salgılayan D (delta) hücreleri ve son olarak da daha çok pankreasın baş kısmında bulunan ve pankreatik polipeptit salgılayan C hücreleri bulunur. Endokrin pankreas ürettiği hormonları dolaşım sistemine salgılayarak sistemik etki oluşturur (Epple ve Brinn, 2012).

Bitkisel kökenli flavonoidlerin; antiinflamatuvar, antimutajenik ve antialerjik özellikleri bilimsel araştırmalarla kanıtlanmıştır (Holiman ve diğerleri, 1996). Geçmişten günümüze

kadar çeşitli hastalıkların tedavisi için halk arasında kullanılan geleneksel tedavi yöntemlerinden biri olan bitkilerle tedavinin önemi günümüzde daha iyi anlaşılmış ve bu bitkilerin modern tedavi yöntemlerinde de kullanılması gerektiği anlaşılmıştır. Böylece alternatif tıpta bir alan olan fitoterapi günümüzde gelişmeye başlamıştır. Modern tıpa paralel olarak bu bilim dalının da her geçen gün daha fazla önemi anlaşılmaktadır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO) verilerine göre, dünyada 3,3 milyar insanın tıbbi bitkilerden tedavi amaçlı faydalandıkları ayrıca gelişmekte olan ülkelerde de toplumların %80'inin bu terapi yöntemlerini kullandıkları tespit edilmiştir (Çelik ve Çelik, 2007).

Antioksidan maddelerin prostat ve meme kanseri gibi birçok kanser türüne karşı koruyucu etkisi kanıtlanmıştır. Bundan dolayı tüketicilerin antioksidan maddelere yönelimi artmıştır. Antioksidan maddeler gıdalarda oksidasyona bağlı tat bozulmalarını önleyen maddelerdir (Gordon, 2001). Doğal antioksidanlar neredeyse tüm bitkilerde, mantarlarda, mikroorganizmalarda ve hayvansal dokularda bulunmaktadır. En önemli doğal antioksidanlar flavonoidler, tokoferoller ve karotenoidlerdir (Pokorny, 2007). Karotenoidler arasında da bilim dünyasının en çok ilgi gösterdiği likopendir. Domates gibi bitkilerde kırmızı renk oluşumunu sağlayan likopen, sahip olduğu antikarsinojen etkisiyle; prostat, meme, mesane, deri ve sindirim sistemi kanserlerine karşı koruyucu rol oynamaktadır (Hasler, 2002; Coşkun, 2005).

Antikarsinojen etkiye sahip bir başka bileşik ise gallik asittir. Gallik asit (GA) çay yaprakları, meşe, üzüm ve böğürtlen gibi birçok bitki türünde bulunabilen bir bileşiktir. GA antikarsinojen özelliğinin yanı sıra; antienflamatuar, antimutajenik, antialerjik, antioksidan, antimikrobiyal, ve antihiperglisemik aktiviteleri içeren birçok önemli özelliğe de sahiptir (Pengelly, 2020; Patel ve Goyal, 2011; Liao ve diğerleri, 2018). GA kardiyovasküler hastalıklara karşı koruyuculuk yaptığı gibi radyasyona karşı da koruyuculuk yapmaktadır. Yapılan çalışmalar GA'nın metabolik hastalıkları engellediğini de göstermiştir (Choubey ve diğerleri, 2015). Yapılan bir başka çalışmada GA'nın pankreas kanseri hücrelerinde apoptozu indüklediği görülmüştür (Liu ve diğerleri, 2012).

Endokrin bozucu kimyasallar arasında yer alan 4-NF, günümüzde birçok alanda kullanılmakta bu nedenle de hem çevrede hem de canlılarda birikerek toksik etkilere neden olmaktadır. 4-NF toksik özelliği nedeniyle özellikle dişi ve erkek üreme sistemine ve pankreas gibi organlara zarar vermektedir. 4-NF'nin zarar verdiği organlardan biri olan pankreas, hem ekzokrin hem de endokrin özelliği nedeniyle önemli bir organımızdır. Pankreas salgıladığı hormonlar ile vücudumuzun glikoz homeostazisini sağlamaktadır. Yapılan bu

Çalışma ile antitoksik, antikarsinojen ve antioksidan gibi birçok özelliğe sahip likopen ve gallik asitin, 4-NF'nin pankreas hasarı üzerinde koruyucu etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Çalışmada 4-NF, gallik asit ve likopen verilmiş farklı grup ratlar kullanılmıştır. Yapılan literatür taramasında benzer bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Homeostazi Kavramı

Canlılarda kararlı bir iç bedensel çevre kavramı, ilk defa ünlü Fransız fizyolog Claude Bernard tarafından 1865'te geliştirilmiştir. 'Homeostazi' sözcüğü, ise 1926 yılında Harvard Fizyoloğu Walter Bradford Cannon tarafından, Bernard'ın iç ortam kavramını genişletmek için ortaya atılmıştır (Davies, 2016). Yunanca "aynı" ve "kararlı" sözcüklerinden türeyen homeostazi kavramı, canlıların hayatta kalmak için mevcut iç düzenlerini sürdürmelerini sağlayan aktif bir süreci ifade eder. Cannon'un "Vücudun Bilgeliği" adlı kitabı, insan vücudunun sıcaklığı ve kandaki su, tuz, şeker, protein, yağ, kalsiyum ve oksijen içeriği gibi diğer hayati koşulları nasıl sabit düzeylerde tuttuğunu anlatmaktadır (Cannon, 1932; Rodolfo, 2000).

2.1.1. Kan Şekerinin Ayarlanması

Kandaki şeker oranının belirli düzeylerde tutulması homeostazi açısından önemlidir. Kan şekerinin ayarlanmasında pankreasın rolünün olduğu 1889 yılında Von Mering ve Minkowski tarafından ispatlanmıştır. Von Mering ve Minkowski pankreası çıkarılmış köpeklerde diyabet oluştuğunu tespit etmişlerdir (Usman, 1973). 1921 yılında ise Frederick Grant Banting ve ekibi uzun uğraşlar sonucu pankreasta insülini keşfetmişlerdir. Bu keşif insülin mekanizmasının anlaşılmasında ve diyabet hastalığının oluşumu ile tedavisinin anlaşılmasında önemli bir gelişme olmuştur (Savaş ve Gültekin, 2017).

İnsülin geni pankreasın Langerhans adacıklarındaki beta hücrelerinde aktiftir. Bu gen sayesinde beta hücreleri tarafından insülin sentezlenir ve salınmadan önce beta hücre adacıklarındaki granüllerde depolanır. Kandaki glikoz düzeyinin artışı ile birlikte buradan kana salınarak kan şeker düzeyinin düşürülmesi sağlanır. İnsülin sentezini ve insülin salınımını başlatan en önemli uyarıcı kandaki glikoz seviyesindeki artıştır (Savaş ve Gültekin, 2017).

Pankreasın Langerhans adacıklarındaki alfa hücrelerinden ise glukagon hormonu üretilir. Bu hormon insüline zıt olarak çalışır ve en önemli görevi kan şekerini arttırmaktır. Glukagon hormonu bunu iki yolla yapmaktadır. Birincisi karaciğerde glikojen yıkımını

uyararak kan şekerini yükseltir; ikincisi ise diğer organik moleküllerin karaciğerde glukozla dönüşümünü uyararak yapılır. Bu hormon aynı zamanda besin emilimi sonrasında tokluk hissinin oluşmasını da sağlar (Woods ve diğerleri, 2006).

İnsülin ve glukagon gibi kan şekerinin ayarlanmasında önemli iki hormonu sentezleyip salgılayan pankreas, midenin hemen arkasında ve ince bağırsağın başlangıç kısmı olan duodenuma yakın konumda bulunur. Pankreas bu hormonların yanı sıra birçok sindirim enziminin de üretim ve salgılama yeridir (Büyüksulu, 2019).

2.2. Pankreas

2.2.1. Pankreasın Öneminin Keşfi

Profesör Johann Conrad Brunner, 1673 yılında yaptığı bir çalışmada pankreasını çıkardığı köpeğin, idrar miktarının ve idrara çıkma sıklığının arttığını tespit etmiştir. Brunner pankreasını çıkardığı diğer köpeklerde de poliüri, polidipsi ve polifaji geliştiğini görmüştür (Karamanou ve diğerleri, 2016; Kirchhof ve diğerleri, 2008).

Brunner'ın çalışmasına benzer bir çalışmayı 1889 yılında Oscar Minkowski ve Friedrich Casper Joseph von Mering birlikte gerçekleştirmiştir. Söz konusu çalışmada bilim insanları bir köpeğe pankreatektomi yapmış ve köpekte bir süre sonra poliüri geliştiğini ayrıca köpeğin idrarında %12 oranında şeker bulunduğunu tespit etmişlerdir. Bu çalışmadan sonra Minkowski şeker hastalığı olmayan üç köpeğin daha pankreasını çıkarmış ve bu üç köpekte de glikozüri geliştiğini görmüştür. Bundan sonra Minkowski çalışmasını ileri bir boyuta taşıyarak pankreası çıkarılmış köpeklerin deri altına pankreas dokusu yerleştirmiş ve yaptığı gözlemlerde deri altındaki pankreas dokusu çıkarılana ya da yapısı bozulana kadar köpeklerde poliürinin gelişmediğini gözlemlemiştir (Kirchhof ve diğerleri, 2008; Banting ve diğerleri, 1922). Minkowski ve von Mering deneyleri pankreas ile diyabet arasındaki ilişkiyi ortaya çıkartırken kan şekerinin ayarlanmasında pankreasın etkili bir organ olduğunu da kanıtlamıştır (İmamoğlu, 2009).

Paul Wilhelm Heinrich Langerhans, pankreasla ilgili yaptığı incelemeleri sırasında, pankreasın ekzokrin hücreleri arasında daha önceden keşfedilmemiş ve mikroskop altında adacıklar şeklinde görülen hücre kümelerini tespit etmiştir. Paul Wilhelm Heinrich Langerhans yaptığı bu keşif sonrasında pankreas adacık hücrelerinin anatomisi ve histolojisiyle ilgili çalışmalarını 1869 yılında Berlin'de yayınlayarak pankreasın yapısı

hakkında bilim dünyasına yeni bilgiler sunmuştur. Ancak Langerhans bu adacık hücrelerinin fonksiyonunu hakkında herhangi bir bilgi elde edememiştir (Olmsted ve Olmsted, 1952).

Fransa'nın Lille kentinde pankreas ile ilgili çalışmalarını sürdüren Gustav Edouard Laguesse 1893 yılında, Paul Langerhans tarafından keşfedilen adacık hücrelerinin hormon ürettiğini belirtti. Laguesse hormon üreten bu hücre adacıklarına, onları ilk defa keşfeden Paul Langerhans'ın soyadını vererek Langerhans adacıkları ismini ortaya çıkardı. Böylece Minkowski ve von Mehring tarafından 1889 yılında gerçekleştirilen çalışmalar, 1893'te Laguesse tarafından da doğrulanmıştır (Bliss ve diğerleri, 1982).

1901 yılında Amerikalı patoloğ Eugene Lindsay Opie, şeker hastalığı ile adacık hücreleri arasında bir ilişki olduğunu belirtirken, W. MacCallum'da pankreas adacık tahribatının glikozüriye neden olduğunu belirtmiştir. (Banting ve Best, 2007). 1910 yılında ise Amerika Chicago Üniversitesi'nden Ernest Lyman Scott sulandırılmış pankreas ekstraktlarını, pankreası çıkarılmış köpekler üzerinde kullanmış ve deney sonunda köpeklerde glikozüride bir azalma tespit etmiştir. Böylece pankreasta karbonhidrat metabolizmasını düzenleyen bir madde olduğu sonucuna ulaşmıştır (İmamoğlu, 2009).

2.2.2. Pankreasın Yapısı

Pankreas endokrin ve ekzokrin salgılar yapabilen önemli bir organdır. Pankreastaki Langerhans adacıklarında endokrin salgılar üretilip salgılanmaktadır. Langerhans adacıklarının alfa hücrelerinden glukagon, beta hücrelerinden insülin ve delta hücrelerinden de somatostatin hormonları salgılanır. Ancak pankreasın yaklaşık %82'lik kısmı sindirimle ilgili ekzokrin salgılar üretmektedir. Ekzokrin salgı üreten kısmı tubulo-alveolar yapıda olup, ürettiği salgıları duodenuma boşaltmaktadır. Pankreasın bu kısmından tripsin, kemotripsin ve karboksipeptidaz gibi protein sindirici enzimler ile amilaz gibi karbonhidrat sindirici ve lipaz gibi yağ sindirici enzimler salgılanır (Arıncı ve Elhan, 1997).

Pankreas bu kadar önemli görevleri yerine getirmesine rağmen işlevi en geç anlaşılan organımızdır. Bağımsız bir organ olarak tanımlanması M.Ö. 300 yıllarında gerçekleşmiştir. Tevrat'ta pankreas karaciğer parmağı olarak tanımlanmıştır. Galen pankreasa ilk olarak kallikreas adını vermiş ancak M. Ö. Efesli Rufus ilk defa pankreas adını kullanmıştır. 13. yüzyılda pankreas anatomisini ilk inceleyen bilim insanı Guido de İgevano de Luzzi'dir. Bundan sonra Ferel ve Ander Vesalius yakın dönemlerde pankreas üzerine çalışmalar yapmıştır. Mondino de luzzi pankreasın duodenum ile bağlantılı olan kanalını keşfetmiş

ancak bu konuda ayrıntılı incelemeler yapan 1642 yılında Georg Wirsung olmuştur (Nur ve Yoldaş, 2000).

1742 yılında Giovanni Dominica Santoni pankreasın minor kanalını keşfetmiştir. Daha sonra, 1836 yılında Purkinje ve Pappenhiem, 1843 yılında Eberle ve 1878 yılında da Claude Bernard pankreasın ekzokrin salgıları hakkında çalışmalar yayınlamışlardır. Pankreasın endokrin hücre adacıkları ise ilk defa Paul Wilhelm Heinrich Langerhans tarafından keşfedilmiştir. 1907 yılında Lane adacıklardaki alfa ve beta hücrelerini keşfetmiş, 1931 yılında da Bloom adacıklardaki delta hücrelerini bulmuştur (Alptuna, 1984).

2.2.3. Pankreasın Gelişimi

Bütün balıklarda, kanatlılarda ve memelilerde pankreas, karaciğer taslağıyla birlikte duodenumun etrafındaki endoderm tabakasından köken alır (Alptuna, 1984; Bryden ve diğerleri, 1972; Sadler, 2022). Pankreasın gelişim göstereceği bölgede ilk olarak halka şeklinde bir taslak belirir. Bu halka şeklindeki taslaktan pankreas ve karaciğer geliştiği için bu taslağa hepato-pankreatik halka adı verilir (Moore,1983; Severn, 1971). Bütün canlılarda bu halkadan; pankreas ve karaciğer oluşumunu sağlayan biri dorsal, diğeri ventral, diğer ikisi de sağ ve sol ventro-lateral olmak üzere toplam 4 taslak gelişir. Bu taslaklardan ventral olanı karaciğeri meydana getirirken, diğerleri ise pankreası meydana getirir (Kayalı, 1977; Maskar,1982).

İnsanlarda pankreas, onikiparmak bağırsağının endoderm dokusundan köken alan hücre gruplarından, gebeliğin 4. ve 7. haftaları arasında gelişir. Bu tomurcuklardan dorsal pankreas tomurcuğu hepatik divertikülün kranialinde yer alır ve gelişimi ventral tomurcuğa göre daha hızlıdır. Ventral pankreas tomurcuğu ise hepatik divertikülün kaudalinde yer alır (Freeny ve diğerleri, 1994; Snell, 2011).

Pankreas tüm memelilerde ve insanlarda sağdan sola doğru bir rotasyona uğrar. Bu olay yavrunun gelişimi sırasında midenin dönme hareketi yapmasıyla başlar. Bu dönme hareketiyle eş zamanlı olarak duodenumun kranial bölümü de dönmeye başlar. Böylece pankreas karın boşluğundaki yerini alır (Dyce ve diğerleri, 1987; Carlson, 1996; Kayalı, 1977; Latshaw, 1987). Bu dönme hareketi ile birlikte başlangıçta duodenumun dorsal konumundaki duvarı medial, ventral konumdaki duvarı da lateral olur. Yine duodenumun C şeklindeki bu dönme hareketi ile daha önceki dönemlerde birbirinden ayrı gelişen dorsal ve ventro-lateral taslaklar birleşir ve kısa bir süre sonra bu iki parça kaynaşarak tek bir loba dönüşür (Gürsoy ve

Koptagel, 1977; Kayalı, 1977). Bunun sonucunda yetişkinlik evresinde pankreasın ventro-lateral taslağından, kaput pankreatisin küçük bir kısmı ve altındaki prosessus uncinatus gelişirken, dorsal pankreastan pankreasın geriye kalan tüm bölümü gelişir (Dyce ve diğerleri, 1987; Gürsoy ve Koptagel, 1977; Sadler, 2022).

Pankreasın kanal gelişimi ise embriyonik dönemde her bir kanalın farklı bir taslaktan gelişmeye başlamasıyla oluşur. Dorsal taslağın akıtıcı kanalı duktus pankreatikus minör ya da duktus sotori veya duktus pankreatikus aksessorius olarak isimlendirilirken, ventro-lateral taslaktaki ise duktus pankreatikus majör olarak isimlendirilir. Duodenumdan dorsal taslağın kanalı gelişirken, duktus kholodokhustan ventro-lateral taslağın kanalı gelişir (Dyce ve diğerleri, 1987; Kayalı, 1977).

Pankreas genel olarak üç bölgeden oluşur. Bunlar duodenuma doğru uzanan baş kısmı, dalağa doğru uzanan kuyruk kısmı ve ikisinin ortasında yer alan gövde kısmıdır. Konum olarak da mide, dalak ve onikiparmak bağırsağı arasında bulunur. Pankreas, karma ve kompleks bir bez organdır. Çünkü sindirim enzimleri üretilip bağırsağa salgılayarak ekzokrin bir özellik gösterirken, bazı hormonları üretilip kan dolaşımına vermesi ile de endokrin bir özellik gösterir. Pankreasın büyük bir bölümünü asiner hücreler adı verilen ve ekzokrin salgılar üreten hücreler oluşturur. Bu hücreler ürettikleri lipaz, proteaz veya α -amilaz gibi enzimleri pankreas kanalı aracılığı ile ince bağırsağa salgılar. Pankreastaki endokrin salgı üreten 5 farklı hücre tipi ise Langerhans adacıklarında bir arada bulunur. Langerhans adacıklarının histolojik görünümü genellikle çevreden merkeze doğru pankreas polipeptiti salgılayan PP hücreleri, grelin hormonu salgılayan ϵ hücreleri, somatostatin (SST) hormonu salgılayan δ hücreleri, glukagon hormonu salgılayan α hücreleri ve insülin salgılayan β hücreleri şeklindedir (Suttie ve diğerleri, 2018; Jouvett ve Estall, 2017).

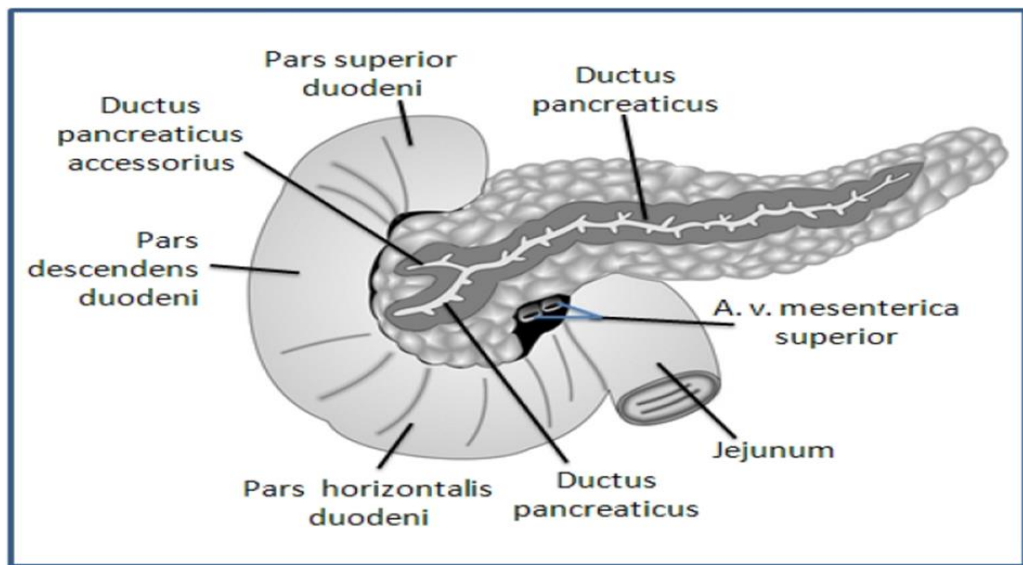
Pankreas temel olarak üç evrede gelişim gösterir. Bunlardan birincisinde, pankreas tomurcuğu (primordiyum) oluşur ve genişlemeye başlar. İkinci evrede ise, multipotent özellikli progenitör hücrelerin farklılaşması ile ekzokrin ve endokrin pankreas dokuları gelişir. Üçüncü ve son evrede ise pankreas adacıklarının olgunlaşması ve pankreasın işlevsellik kazanması gerçekleşir (Üstündağ, 2021).

2.2.4. Pankreas Anatomisi

Karma bir bez özelliği gösteren pankreas, onikiparmak bağırsağı ile dalak arasında uzanır. Pankreasın tam olarak; bursa omentalis denilen periton parçası ile kalın bağırsağın

yatay uzanan üst kolunun ve midenin arka tarafında, duodenumun kıvrılması ile oluşan kavisin iç kısmından, soldaki dalağa doğru L2 omuru hizası boyunca yatay şekilde uzanır (Bonner-Weir, 1991; Skandalakis ve diğerleri, 2000; Çağlar, 2011). Pankreas otonom sinir sisteminin sempatik ve parasempatik sinirleri ile uyarılır. Pankreas ekzokrin ve endokrin pankreas olmak üzere iki ana dokudan oluşur. Ekzokrin pankreas pankreasın büyük bir bölümünü oluşturur. Endokrin pankreas ise ekzokrine göre pankreasın oldukça küçük bir bölümünü oluşturur. Pankreasın %10-15'lik kısmını ise damarlar ve ekstraselüler matriks oluşturur. Pankreası görünüm olarak üzüm salkımına benzetmek mümkündür. Üzüm salkımının tanelerini bir arada tutan yapı pankreasta duktus pankreatikusa karşılık gelirken, üzüm taneleri çeşitli sindirim enzimleri üretilip salgılayan asini hücre kümelerine karşılık gelmektedir. Asini denilen hücre kümeleri ekzokrin pankreası oluşturur. Ekzokrin pankreas dokusu içerisinde yer yer dağılmış adacıklar şeklinde endokrin pankreas hücreleri bulunur. Endokrin özellikli bu adacıklara Langerhans adacıkları denir. Langerhans adacıkları kendine has damar ve sinir ağına sahiptir (Bonner-Weir, 1991).

Pankreas yapı ve görünüş olarak yumuşak, hafif kırmızımsı ve sarımtırak görünüme sahip, yaklaşık 13 cm uzunluğunda, 3 cm eninde ve 1,5 cm kalınlığında 100 gr veya daha hafif ağırlıkta bir organdır. Pankreas anatomik olarak; kaput, kollum, korpus ve kauda olmak üzere dört ana bölümden oluşur. Bu dört bölüme ek olarak pankreasın prosessus uncinatus adında aksesuar lobu da bulunmaktadır (Gökmen, 2003; Arıncı ve Elhan, 2006; Gray ve diğerleri, 2008; Çağlar ve diğerleri, 2014; Moore ve Dalley, 2018) (Şekil -1).



Şekil 1. Pankreasın genel görünümü (Çağlar ve diğerleri, 2014)

2.2.4.1. Kaput Pankreatis

Genellikle duodenumun ilk üç bölümünün oluşturduğu C harfi şeklindeki kavisin içerisinde yer alan L2 omurunun sağında bulunan pankreasın en geniş bölümüdür. Kaput pankreatisin alt kısmında aşağı doğru uzanan prosessus uncinatus adı verilen bir çıkıntı vardır (Gökmen, 2003; Mortelé ve diğerleri, 2006).

2.2.4.2. Kollum Pankreatis

Kollum pankreatis, kaput pankreatis ve korpus pankreatis arasında bulunan, yaklaşık 2-2,5 cm uzunluğuyla, pankreasın en küçük bölümüdür. Kollum pankreatis konum olarak arteria mesenterika superiorun aorta abdominalisden ayrıldığı yer ile vena porta hepatisin başlangıcının önünde bulunmaktadır. Kaput pankreatisten ayıran sınırını, önden arterio gastroduodenalisin oluşturduğu oluk belirlerken, arkadan sınırını da vena porta hepaticayı oluşturmak üzere vena mesenterika superior ve vena splenikanın birleşimini içine alan bir oluk belirler. Kollum pankreatis arka yüzüyle arteria mesenterika superior, vena mesenterika superior ve vena porta hepatis ile komşudur (Snell, 2011; Gökmen, 2003; Gray ve diğerleri, 2008; Moore ve Dalley, 2018; Arıncı ve Elhan, 2006).

2.2.4.3. Korpus Pankreatis

Üç yüzü ve üç kenarı olan, piramit şeklinde, L1-L2 omurlar hizasında yer alan, pankreasın bir parçasıdır. Korpus pankreatis, kollum pankreatiste yer alan tuber omentalenin solundan itibaren devam eden pankreas bölümüdür. Korpus pankreatisin üst tarafında mide, alt taraftan ise ileum ve jejunum bulunur. Korpus pankreatisin yüzeyi sekonder retroperitonel yapıdadır. Yani bu yüzeyi karın arka duvarı ile birleşmiş şekildedir (Snell, 2011; Gray ve diğerleri, 2008; Moore ve Dalley, 2018; Arıncı ve Elhan, 2006).

2.2.4.4. Kauda Pankreatis

Pankreasın bu bölümü tamamen peritonla kaplı olup korpus pankreatisin sol tarafa devamı şeklindedir. Bu bölümün şekli ve uzunluğu bireyden bireye farklılık gösterir. Kimisinde yassı ve ince iken kimisinde yuvarlak ve kalın şekilli olabilir. Uzunluğu da bireyler arasında farklılık göstermektedir. Bazı bireylerde dalağın hilusuna kadar uzanırken bazı

bireylerde dalağa 3-4 cm kala sonlanmaktadır. Bu bireylerde kauda pankreatis ligamentum pankreatikolienale ile dalağa bağlanır (Snell, 2011; Gökmen, 2003; Arıncı ve Elhan, 2006).

2.2.5. Pankreasın Kanalları

Pankreas ekzokrin salgılarını duodenumun ikinci bölümü olan pars descendens duodeniye iki farklı kanal aracılığıyla boşaltır. Bu kanallar duktus pankreatikus ve duktus pankreatikus aksessorius (Çağlar ve diğerleri, 2014).

2.2.5.1. Duktus Pankreatikus (Wirsung Kanalı)

Bu kanal pankreasın son bölümü olan kauda pankreatisten başlayarak, pankreasın arka yüzüne daha yakın seviyede ilerler ve pankreasın başlangıç bölümü olan kaput pankreatise ulaşır. Duktus pankreatikusa farklı sayıda yan kanallar dik açı oluşturacak şekilde bağlanır. Duktus pankreatikus kaput pankreatise geldikten sonra aşağıya ve arkaya doğru uzamaya devam ederek, duktus kholodokhus ile yan yana paralel olarak uzanır ve bazen duktus kholodokhusla birleşerek, bazen de ayrı olarak ampulla vateri doğru uzanırlar (Mortelé ve diğerleri, 2006; Arıncı ve Elhan, 2006; Songur ve diğerleri, 2009).

2.2.5.2. Duktus Pankreatikus Aksessorius (Santorini Kanalı)

Pankreasın 5-6 cm uzunluğundaki ikinci kanalıdır. Herkeste bulunmayan genel toplumda oluşumu %4-10 arasında olan bir kanaldır. Santorini kanalı, kollum pankreatis hizasında duktus pankreatikustan ayrılarak oluşmaya başlar ve papilla duodeni majorun üst tarafından yer alan papilla duodeni minora açılarak sonlanır (Gökmen, 2003; Arıncı ve Elhan, 2006).

2.3. 4-Nonilfenol

Endokrin bozucular, insanlarda hormonal dengeyi bozan, kalıcı veya geçici etkilere sahip bileşiklerdir (Lagos-Cabré ve Moreno, 2012). İnsanların kullanım alanlarındaki en önemli endokrin bozucu bileşikler ise bisfenol-A (BFA) ve nonilfenoldür. Bu bileşikler özellikle polimer endüstrisinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır (Urriola - Muñoz ve diğerleri, 2018).

NF, alkilfenol etoksilatların bir bozunma ürünüdür. NF tekstil ürünlerinde, dış hekimliğinde, gıda ambalajlamada, ilaç, boya ve kimya endüstrisinde oldukça yaygın olarak kullanılmaktadır. Urriola-Muñoz ve ekibinin yaptığı bir çalışmada NF'nin erkek üreme sistemine zarar verdiği tespit edilmiştir (Urriola-Muñoz ve diğerleri, 2018). NFE'ler, ev içi temizlik amaçlı kullanılan birçok deterjanın yapımında kullanıldığı gibi ayrıca endüstriyel olarak da giyim, boya, kağıt vb. malzeme üretiminde de en çok kullanılan endokrin bozucu kimyevi maddelerdir (Shan ve diğerleri, 2011). NFE'lerin bazılarında pestisitlerin geliştirilmesinde de yararlanılmaktadır (Chokwe ve diğerleri, 2017).

NFE'ler ortama bırakıldıklarında çoğunlukla NF'ye dönüşmekle birlikte bazı durumlarda farklı nonilfenol tiplerine veya farklı ara maddelere dönüşebilmektedir (Ahel ve diğerleri, 1994). Yapılan çalışmalarda NF'nin birçok ortamda sıklıkla görüldüğü, doğada ve endüstriyel ürünlerde en çok tespit edilen kimyasallardan biri olduğu belirtilmiştir. Gao ve arkadaşlarının yaptığı çalışmalarda, NF ve NFE'lerin uzun süre ve sık kullanımı neticesinde diğer kimyasal kirleticilere göre sedimentlerde ve atık sularda daha çok biriktiği görülmüştür (Gao ve diğerleri, 2017). Alkilfenoller dokularda biriktiği için sürekli alkilfenollere maruz kalınması toksik etki gösterir (Huang ve diğerleri, 2009).

2.3.1. 4-Nonilfenolün Yapısı

Nonilfenol, alkilfenollerin alt kümesinde yer alan organik bileşiklerden biridir. NF yapı itibariyle hidrofobik özellikte olduğundan organik çözücülerde suda çözündüğünden daha çok çözünmektedir. AFE'ler, yüzey aktif bileşenleri olup, çeşitli pestisitlerin, boya maddelerinin ve temizleyici kimyasalların yapısında sıklıkla kullanılmaktadır. AFE'ler biyolojik sistemlerde kolayca parçalanabilmekte ve NF gibi biyolojik sistemlerde parçalanmaya oldukça dirençli, biyolojik birikime yatkın ürünlere dönüşebilmektedir (Warhurst, 1995).

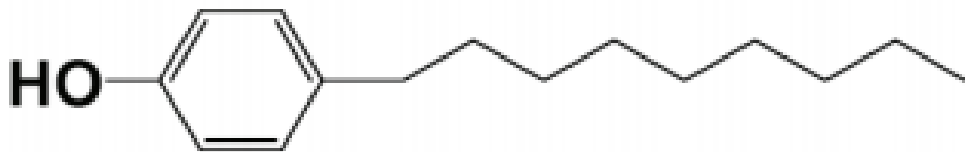
NF kimyasal olarak tek bir bileşikten oluşmaz. NF'nin yapısına baktığımızda, merkezde benzen ya da aromatik bir halka ve bu halkanın bir ucunda hidroksil (OH) diğer ucunda ise dokuz karbondan oluşan bir yan zincir bulunur (Cox, 2003). NFE'lerin yüzey aktif maddesi olarak kullanılmasında hem hidrofobik hem de hidrofilik kısımlarının olması etkilidir. Birbirine zıt özellikteki bu iki kısım hem suyun hem de yağların ve diğer organik moleküllerin NFE'lere bağlanmasını sağlar (John ve diğerleri, 2000; Ghiaci ve diğerleri, 2007).

NF yapısal olarak doğrusal yapılı ve dallanmış yapılı olmak üzere iki farklı forma sahiptir (Mehtonen ve Munne, 2011). Doğrusal yapılı NF beyaz renkli ve oda sıcaklığında kristalize özellik gösterirken, dallı yapıdaki NF sarı renkli ve oda sıcaklığında akışkan özellik gösterir. NF'nin sudaki çözünürlüğü 4,9 mg/L olup oda sıcaklığında 0,952 g/ml yoğunlukta bulunur ve organik çözücülerde oldukça iyi çözünür. NF'nin ayrıntılı kimyasal özellikleri Tablo 1'de gösterilmektedir (Soares ve diğerleri, 2008).

Tablo 1. 4-NF'nin genel özellikleri (Soares ve diğerleri, 2008; IFA, 2011).

Genel Özellikleri	
Genel adı	Nonilfenol
IUPAC adlandırması	4-Nonilfenol
CAS numarası	140-40-5, 25154-52-3, 104-40-5, 84852-15-3, 11066-49-2
Kimyasal formülü	C ₁₅ H ₂₄ O
Molekül ağırlığı	220.34 g/mol
Görünüm	Beyaz kristal, viskoz sıvı hali açık sarı
Erime sıcaklığı	43–45 °C
Kaynama sıcaklığı	180-181 °C
Yoğunluk	0.952 g/ml
Sudaki Çözünürlüğü	6 mg/L (pH 7)

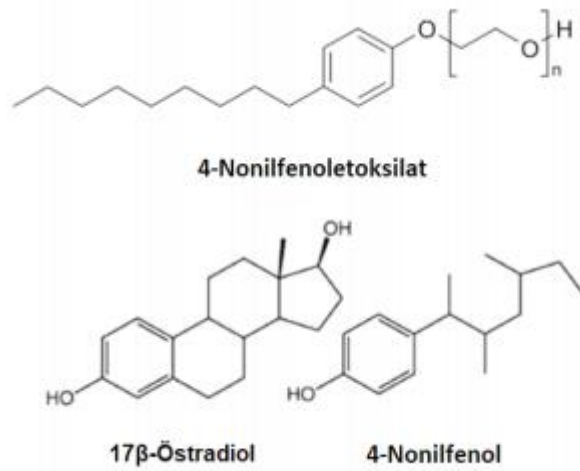
NF alkil zincir yapısında kompleks bir bileşik olup, %90'dan fazlası 4-nonilfenol formunda bulunur (Şekil 2) (Sharma ve diğerleri, 2009). NFE'lerin ve nonilfenillerin bir çok türü iyonik özellik göstermeyen yüzey aktif maddeler oldukları için çeşitli endüstriyel ürünlerin içeriğinde yer almaktadır. Ancak bu kadar yaygın kullanıma sahip bu maddeler, zamanla içinde bulunduğu çevreyi biyolojik olarak kirleten NF'ye dönüşmektedir (Kawamura ve diğerleri, 2017).



Şekil 2. Nonilfenolün kimyasal yapısı (Sharma ve diğerleri, 2009).

2.3.2. 4-Nonilfenolün Etkileri

Şekil 3'te yan yana gösterilen 4-NF ve 17β-Östradiol kimyasal olarak birbirine oldukça benzer moleküllerdir. Bundan dolayı 4-NF, 17β-Östradiol hormonunun bağlanabildiği hücre gruplarına bağlanarak işlevsel olarak onu taklit edebilir. 4-NF'nin östrojenik aktivitesi Bisfenol-A gibi diğer östrojenik kimyasallardan çok daha güçlüdür. (Lyons ve diğerleri, 2014). Bu nedenle 4-NF, üreme sistemindeki östrojene duyarlı hücre reseptörlerine bağlanarak üreme sistemini, hatta cinsel davranışları bile kontrol edebilmektedir (Christiansen ve diğerleri, 1998).



Şekil 3. 4-Nonilfenoletoksilat, 17β-Östradiol, 4-Nonilfenol yapılarının karşılaştırılması (Lyons ve ark, 2014).

NF çevremizde çok rastlanan bir kirleticidir. Yapılan araştırmalar göstermektedir ki NF'ye çeşitli su, toprak ve hava ortamları ile özellikle sedimentlerde rastlanılmaktadır. Buralardaki NF'nin bir kısmı oksijenli veya oksijensiz solunum yapan bazı canlılar tarafından bir takım biyolojik süreçlerle azaltılabilmektedir (Mao ve diğerleri, 2012).

Ülkemizde yapılan bazı çalışmalar, Sakarya Nehri ve Değirmen Deresinde yaşayan balıklarda ve akarsu tabanından alınan sedimentte alkilfenollerin (AF) bulunduğunu göstermektedir. Bu duruma AF'lerin, suda çözünmemeleri bunun yerine lipofilik özelliklerinden dolayı yağlarda çözünbilmeleri neden olmaktadır. AF'lerin su canlılarında ve sedimentlerde birikmesinin temel nedeni budur. Yapılan çalışmalar AF'lerin bir çeşidi olan ve canlıların yağ dokusunda biriken NF'nin, balıkların karaciğerine zarar verdiği göstermiştir (Uğuz ve diğerleri, 2003; İşcan ve diğerleri, 2005).

Bununla birlikte; NF belli oranda havada da bulunmaktadır. NF miktarı ile ilgili Norveç Denizi, Japonya ve Amerika Birleşik Devletleri gibi ülkelerde; ev, ofis ve kreş ortamlarında yapılan ölçümlerde içerideki konsantrasyonu 100 ng/m³ olarak tespit edilirken, dışarıda yapılan ölçümlerdeki konsantrasyonları yaklaşık bu değerden 10 kat daha küçük olarak bulunmuştur (Rudell ve Perovich, 2009; Ergün, 2013).

Almanya’da yapılan bir çalışmada bebek ve yürüme çağındaki çocukların tükettiği besinlerde bulunan NF ve oktifenol oranları araştırılmıştır. Elde edilen sonuçlara göre, bebeklerde günlük NF alımının 0,23–0,65 µg NF/kg’a kadar ulaştığı tespit edilmiştir. Bu sonuca göre tespit edilen miktar özellikle yeni doğan bebekler için yüksek risk teşkil etmektedir. Bu çalışma ile NF’nin gıda maddelerinde de bulunduğu da ortaya konulmuştur (Raecker ve diğerleri, 2011).

Polietilen (PE), polietilenterefthalat (PET), polivinilklorid (PVC), polipropilen (PP) ve polistiren (PS) gibi bozunmayan petrol esaslı mikroplastikler günümüzde yaygın olarak kullanılmaktadır (Venghaus, 2017). Petrol esaslı bu plastiklerde yaygın kullanılan katkı maddelerinden biri de NF’dir. NF, paketlenmiş gıdaların ambalajlarında ve PVC’de termal ve mekanik dayanıklılık sağlamak amacıyla kullanılmaktadır. Mikroplastikler NF gibi hidrofobik özellikli endokrin bozucuları yapısında bulundurması ve yüzeyinde tutmasından dolayı sucul ekosistemlerdeki kirliliğin başlıca sebebinin oluşturmaktadır (Yurtsever, 2015; GESAMP, 2016; Bouwmeester ve diğerleri, 2015). Ayrıca NF gibi zararlı madde içeren bu mikroplastikler kirleticilerin sucul organizmalar tarafından tüketilmesi ile besin zincirine dahil olmakta ve canlılar arasında aktararak en üst basamağa kadar biyolojik birikime neden olmaktadır (Kıdeyş ve diğerleri, 2018)

NF’nin hidrofobik ve uzun yarılanma ömrüne sahip olması, insanlarda ve diğer organizmalarda bir dizi toksik etkiye neden olmaktadır. NF’nin erkek üreme sistemini etkilemesinin yanı sıra pankreas ve daha birçok organ üzerinde zararları olduğu kanıtlanmıştır (Li ve diğerleri, 2017). NF’nin sıçanlarda işitme fonksiyonu olumsuz etkilediği tespit edilmiştir (Yücedağ ve diğerleri, 2014). Yapılan bir çalışmada NF’nin farklı çevresel dozlarının (0,001, 0,1, 1, 10 ve 100 µg/ml), sıgırların sperm DNA’sı ve oosit olgunlaşması üzerindeki etkileri araştırılmıştır. Yapılan araştırma sonucunda NF’nin 100 µg/ml konsantrasyonda kullanılması, spermelerde deoksiribonükleik asit (DNA) hasarlarına ve bağlantılı olarak da apoptozise neden olabileceği bildirilmiştir (Ergün ve diğerleri, 2014).

Tarımda kullanılan bazı kimyasallar ve pestisitler biyolojik aktarım ile insan vücuduna geçtiğinde burada östrojen hormonuna benzer etkiler oluşturmaktadır. Yapılan çalışmalarda bu tür kimyasallara, insanlardaki meme yağ dokusunda ve sütte rastlanılmıştır. Bunun nedeni çeşitli yollarla insan vücuduna geçen bu tür kimyasalların lipofilik özellik göstermeleri ile insan meme yağ dokusunda birikmeleri ve dışarı atılamamalarıdır. Bunun yanında meme üzerine veya koltukaltı gibi meme dokusuna yakın çevrelere kullanılan östrojenik etkiye sahip kimyasalları içeren kozmetik ürünler deri üzerinden emilim yoluyla meme dokusuna geçebilmektedir (Darbre, 2006).

Yapılan bazı çalışmalarda NF'nin mutajenik etkileri de araştırılmıştır. Ren ve ekibinin yaptığı çalışmada NF'nin insanlardaki göğüs kanserini uyarıcı etkileri araştırılmış ve araştırma sonucunda NF'nin 10 µM dozunun östradiolün 0,1 µM dozuna göre bazı gen ekspresyonlarını uyurabildiği tespit edilmiştir (Ren ve diğerleri, 1997).

NF'nin karsinojenik etkisi ile ilgili yapılan başka bir çalışmada, erkek ratlara beslenmeleri sırasında 28 hafta süresince 25 – 250 ppm dozlarda NF verilmiştir. Sonuçta NF verilen ratların akciğer dokusunda kontrol grubundakilere oranla daha çok kanser hücresine rastlanılmıştır (Seike ve diğerleri, 2003). Yine Jubendradass ve ekibinin ratlarla yaptığı çalışmada; NF'nin mitokondriyal fonksiyonları bozduğu, karaciğer dokusuna zarar verdiği ve karaciğer hücrelerini apoptoza sürüklediği gösterilmiştir (Jubendradass ve diğerleri, 2012a).

NF çok yavaş bir hızda da olsa plasenta aracılığıyla anneden fetüsün içinde bulunduğu amniyon sıvısına geçebilmektedir. Amniyon sıvısına geçen NF'nin zamanla konsantrasyonu artmakta ve dış çevrede ki miktarlarına kadar ulaşabilmektedir (Balakrishnan ve diğerleri, 2011). Bununla ilgili yapılan bir başka çalışma; plasenta aracılığıyla anne ve fetüs arasında NF geçişinin olup olmadığı ve bu geçişin miktarını ölçmeyi amaçlamıştır. İlgili çalışmada 174 anneden ve fetüse ait göbek kordonundan kan örnekleri alınarak incelenmiştir. Alınan kan örnekleri analiz edildiğinde özellikle şehir/büyükşehir bölgelerinden alınan örneklerde NF oranının 211 ng/plazma'ya çıktığı tespit edilmiştir. Çalışmanın en ilginç sonuçlarından birisi ise göbek kordonu toplardamarındaki NF oranının göbek kordonu atardamarına göre daha fazla olmasıdır. Bu durum anneden fetüse NF geçtiğini ve bir miktar NF'nin fetüste biriktiğini göstermektedir (Chen ve diğerleri, 2008).

Ksenoöstrojenik olarak adlandırılan 4-NF gibi kimyasallar, sadece mikroplastiklerin yapısında değil, endüstride ve evlerde kullanılan, deterjan ve sabun gibi temizlik maddelerinin içeriğinde de önemli bir bileşen olarak yer almaktadır. 4-NF vb. kimyasallar ile bunların

parçalanması sonucu açığa çıkan moleküller toksik, karsinojenik, mutajenik veya östrojenik etkiler gösterebilmektedir. Açığa çıkan bu tür moleküller insanların üreme sisteminde etkili olan progesteron ve östrojen gibi hormonları taklit ederek duyarlı hücrelerin reseptörlerine bağlanmakta, doğal olarak üretilen eşeyssel hormonların ise ilgili dokulardaki bu reseptörlere bağlanmasını engellemektedir. Böylece bireyin eşeyssel gelişimi üzerinde anti-hormonal bir etki göstermektedir (Zemheri ve Uğuz, 2008). Üstelik NF gibi eşeyssel hormonları taklit eden bu moleküller insan vücuduna girdikten sonra kolay kolay parçalanıp vücuttan dışarı atılamaz. NF lipofilik özellik göstermesinden dolayı da vücuda girdikten sonra yağ dokularında birikmeye başlar (Birnbaum ve Fenton, 2003).

Günümüzde NFE'lerin gıdadan, temizlik ürünlerine kadar birçok alanda kullanımı yaygınlaşmıştır. Bu durum da NFE'lerin bozunum ürünü olan 4-NF'nin çevreye yayılmasını ve birikimini kolaylaştırmıştır (Karcı ve diğerleri, 2014). NF'nin yaygın kullanımı ile su, toprak ve sediment gibi birçok ortamda tespit edilebilir yoğunluklara ulaştığı görülmektedir. Çevrede yoğun olarak görülen NF'nin yarılanma ömrü ve konsantrasyonu bulunduğu ortama göre değişiklik gösterebilmektedir (Zhang ve diğerleri, 1997).

4-NF farklı pH değerlerindeki asidik veya bazik çözeltilerde bile kararlı bir yapı göstermektedir. Aynı şekilde UV ışınlarına maruz kaldığı durumlarda bu kararlı yapısını korumaktadır (Talsness ve diğerleri, 2009). NF'ler, insan sağlığı açısından oldukça tehlikeli bileşiklerdir. NF'ler biyolojik birikim özelliğinden dolayı, insanlarda ve diğer canlılarda karsinojenik, teratojenik ve mutajenik etkiler gösterebilmektedir (Krupinski ve diğerleri 2014). NF'ler insanlarda diyabet, obezite ve kalp damar rahatsızlıkları gibi birçok sağlık sorunlarına neden olabilmektedir (Kazemi ve diğerleri, 2016; Li ve diğerleri, 2017; Yu ve diğerleri, 2018).

2.4. Gallik Asit

2.4.1. Gallik Asitin Yapısı

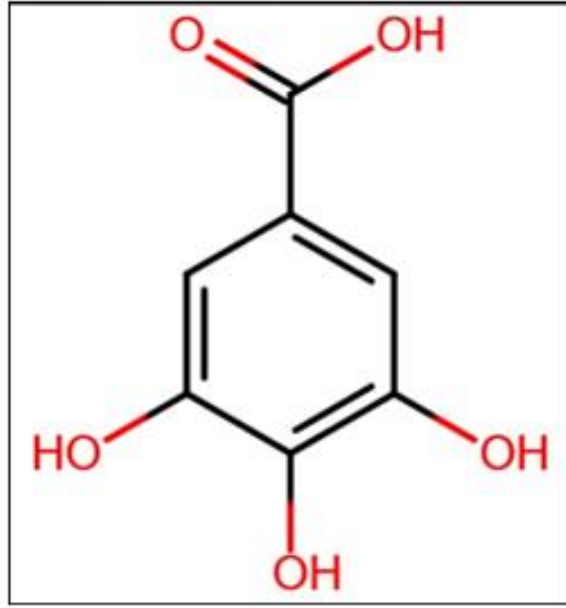
Gallik asit (GA); doğal fenolojik bir bileşiktir. En çok GA içeren bitkiler; çay, karanfil, meşe, fındık, safran, böğürtlen, üzüm, çilek ve muzdur. Gallik asit oldukça etkili antioksidan, antikanserojen, antibakteriyel, anti mutajenik, antienflamatuvar ve antiviral etkilere sahip bir bileşiktir. Ayrıca GA'nın nöropsikolojik ve metabolik hastalıklara karşı koruyucu, kalp damar sistemi ve sindirim sistemi sağlığı açısından da oldukça yararlı bir madde olduğu, yapılan

alışmalar ile tespit edilmiştir (Kahkeshani ve diğ erleri, 2019; Muhammad ve diğ erleri, 2017; Dorović ve diğ erleri, 2014).

GA, birçok sebze ve meyvede bulunan gallotaninler olarak isimlendirilen bitkisel polifenoller grubundan doğal bir bileşiktir. İnsan sağlığı açısından birçok yararlı etkilere sahiptir (Akbari, 2020). GA'nın da içinde yer aldığı polifenoller, bitkiler tarafından doğal metabolik süreçlerde oldukça fazla üretilen ikincil metabolik ürünlerdir (Hättenschwiler ve Vitousek, 2000). GA önde gelen fenolik asitlerden biri olarak kabul edilmektedir. GA kimyasal olarak 3,4,5 trihidroksibenzoik asit şeklinde ifade edilmektedir (Şekil 4). GA, merkezde bir birim şeker, bu şekere bağlı üç hidroksil grubu ve değişken sayıda fenol asit molek  l   tarafından oluşturulur. GA, önemli bir benzoik asit olup galatotanin ile hidrolize edilebilir özelliğı sayesinde çeşitli tanenlerin oluşumunu sağlamaktadır (Fernandes ve Salgado, 2016). GA'nın genel özellikleri Tablo 2'de verilmiştir (Pal ve diğ erleri, 2018).

Tablo 2. Gallik asitin genel özellikleri (Pal ve diğ erleri, 2018)

Gallik Asitin Genel Özellikleri	
Görünümü	Açık kahverengi, beyaz veya sarımtırak
Kıvam	Katı-kristalize
Molekül Ağırlığı	170,12 g/mol
Formülü	C ₇ H ₆ O ₅
Erime Noktası	260 °C (500°F ; 533 K)
Yoğunluğu	1,694 g/cm ³



Şekil 4. Gallik asitin kimyasal yapısı (Cemek ve diğerleri, 2022)

2.4.2. Gallik Asitin Etkileri

Gerçekleştirilen çalışmalarda GA'nın insan sağlığı açısından yukarıda sayılan yararlarının yanı sıra akciğer tümörünün büyümesini önlediği de tespit edilmiştir (Sohrabi ve diğerleri, 2020). GA'nın bu özellikleri sayesinde; karaciğer yağlanması ve hiperlipidemide (Jang ve diğerleri, 2008), pankreas hasarı ve buna bağlı diyabet gelişiminde (Lee ve diğerleri, 2013), kardiyak fibrozisde (Umadevi ve diğerleri, 2014) ve karaciğer sirozu (Hussein ve diğerleri, 2020) tedavisinde olumlu sonuçlar elde edildiği kaydedilmiştir (Çakır ve diğerleri, 2023).

Yapılan bir başka çalışmada da ise zerdeçaldan elde edilen ve GA gibi bitkisel bir polifenolik bileşik olan kurkuminin, GA ile birlikte alındığında karaciğer toksisitesine karşı koruyucu etki gösterdiği, karaciğer dokusunda nekrozları ve kanamaları azalttığı tespit edilmiştir (Sheweita ve diğerleri, 2018). Ayrıca kurkumin ve gallik asidin ayrı ayrı ve birlikte tedavi amaçlı kullanımında, yumurtalık nakli sonucunda akciğerlerde gelişebilecek; kanama, lenfosit birikimi, doku ölümü gibi olumsuz durumları azaltabileceği tespit edilmiştir (Sapmaz ve diğerleri, 2023). Yapılan diğer çalışmalar ile de gallik asit ve kurkuminin birlikte kullanımının over transplantasyonu sonrasında akciğerde oluşan inflamasyonu ve mast hücre sayısını anlamlı derecede azalttığı tespit edilmiştir. Böylece hem GA hem de kurkuminin akciğerlerde gelişebilecek herhangi bir doku hasarına karşı koruyucu etki gösterebileceği kanıtlanmıştır (Naksuriya ve Okonogi, 2015).

Padma ve ekibi, böcek öldürücülerden biri olan ve hayvanlarda karaciğer ve böbrek hasarlarına yol açan lindanın, bu zararlı etkilerine karşı gallik asitin koruyucu etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla ratlar üzerinde birtakım çalışmalar yapmışlardır. Padma ve ekibi, karaciğer hasarını değerlendirmek için hem SGOT, ALP ve SGPT gibi karaciğer enzimlerini incelemişler hem de karaciğerdeki hasarını histolojik gözlemler yaparak değerlendirmişlerdir. Böbrek hasarını belirlemek için ise hem üre ve kreatin gibi moleküllerin serum düzeylerini incelemişler hem de karaciğerde olduğu gibi böbrek dokusundaki hasarı histolojik olarak gözlemlemişlerdir. Lindan uygulaması yapılan ratlarda oksidatif stresin yükseldiğini ve karaciğer ile böbrek dokularında histolojik değişiklikler olduğunu saptamışlardır. Yapılan çalışmada lindan ile birlikte gallik asit verilen ratlarda, lindanın neden olduğu böbrek ve karaciğer hasarlarında azalma olduğu ayrıca ratların antioksidan seviyelerinde de önemli ölçüde artışın olduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmanın sonucunda, Padma ve ekibi lindan gibi bir insektisit ratların böbrek ve karaciğerinde oluşturduğu oksidatif hasara karşı gallik asitin koruyucu bir etkisi olduğunu tespit etmişlerdir (Padma ve diğerleri, 2011).

Kılıçle ve Doğan yaptıkları bir çalışmada, farelere 24 – 48 saatlik sürelerde GA uygulaması yapmışlardır. Çalışmanın sonucunda GA verilen gruptaki fareler ile kontrol grubundaki farelerin benzer kromozom yapısında olduğunu, GA'nın herhangi bir kromozom anomalisine neden olmadığını tespit etmişlerdir. Yani GA'nın kromozomlar üzerinde herhangi bir mutasyona neden olmadığını belirlemişlerdir. Bunun yanında karbonhidratların yüksek ısı ile muamelesi sonucu oluşan kromozom anomalilerine ve DNA kırılmalarına neden olan akrilamid bileşiği ile birlikte farelere GA verilmesi durumunda, GA'nın 24 ve 48 saatlik uygulamalarda bile bu hasarların oluşma yüzdeliğini düşürdüğünü bildirmişlerdir (Kılıçle ve Doğan, 2020).

Kılıçle ve Doğa'nın yaptığı çalışmada, değişik miktarlarda akrilamid verilen farelerde kromozomal anomaliler ve DNA kırılmalarının artmasının yanı sıra mitoz hücre bölünme düzeylerinde yavaşlamalar olduğunu da tespit etmişlerdir. Çalışmada akrilamidin neden olduğu genotoksisiteye karşı farklı dozlarda uygulanan pelargonidin fazla etkili olmadığı ancak gallik asitin kullanılan dozlarının genotoksisiteye karşı etkili olduğu tespit edilmiştir (Kılıçle ve Doğan, 2020).

Yapılan birçok in vivo ve in vitro çalışmalar ile GA ve türevlerinin potansiyel bir kanser önleyici olduğu kanıtlanmıştır (Bhattacharya ve diğerleri, 2016). İnsanlar üzerinde yapılan çalışmalarda da GA'nın farklı kanser türlerine karşı antikanser aktivite gösterdiği

bildirilmiştir (De ve diğerleri, 2020; Sourani ve diğerleri, 2016). GA'nın kanserli hücrelerin çoğalmasını engelleyerek ve bu hücrelerin apoptozunu indükleyerek antikanser etkisi gösterdiği kanıtlanmıştır (He ve diğerleri, 2016).

GA'nın sitotoksik etkisi çeşitli hücre hatlarında araştırılmış ve diğer hücre hatlarına oranla yüksek bir seçicilikle kanserli hücre hatlarına daha çok zarar verdiği, kanserli hücreleri hücre ölümüne sürüklediği tespit edilmiştir. Sarı ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada 48 saat süreyle GA tedavisi uygulanan HeLa hücrelerinin büyümesini doza bağlı bir şekilde azalttığı tespit edilmiştir. Bu durum GA'nın pro-oksidan özelliği sayesinde apoptoz indükleyici olarak görev yapması ve oluşturduğu sitotoksik etki ile farklı tür kanser hücrelerinde çoğalmayı önleyici bir etki oluşturmasıyla açıklanmıştır (Sarı ve diğerleri, 2023; Dorniani ve diğerleri, 2016).

2.5. Likopen

2.5.1. Likopenin Yapısı

Weckencoder tarafından 1831 yılında ilk defa havuçtan karotenoidler izole edilmiştir. Bundan sonra 1837 yılında sarı renkli sonbahar yapraklarında ksantofil keşfedilmiştir (Baynal, 2012). Likopenin keşfi ise ilk olarak 1910 yılında gerçekleşmiş ve molekül yapısı ise ancak 1931 yılında belirlenebilmiştir (Hekimoğlu, 2010; Coşkun, 2013). Likopen en çok domatestede bulunmaktadır. Bunun yanında kırmızı tonlarda görünüme sahip diğer sebze ve meyvelerde de bolca likopen bulunmaktadır. Bir tür karotenoid olan likopen bağırsaklardan kolayca ve hızlıca emilerek dolaşıma katılabilir. Bu nedenle de plazmada en fazla bulunan karotenoiddir. Likopen gibi karotenoidler insanlar tarafından sentezlenemez ve bu yüzden likopen beslenme yoluyla sebze ve meyvelerden alınır. İnsanlar likopenin %85'ini domates ve domates ürünlerinden alırlar (Clinton, 1998; Agarwal ve diğerleri, 2001; Narisawa ve diğerleri, 1998; Voutilainen ve diğerleri, 2006).

Düz zincir şeklinde bir görünüme sahip olan likopenin yapısını oluşturan hidrokarbonlar arasında 11 adet çiftli bağ ve 2 adet tekli bağ bulunur (Şekil 5). Diğer karotenoidlerden farklı olarak likopenin yapısını oluşturan α karoten zincirinin sonunda kapalı β halkası bulunmaz. Bu yapıdaki likopen ısı, ışık, asit gibi farklı fiziksel ve kimyasal etkenlere maruz bırakılırsa, yapısındaki trans bağlar mono-cis veya poli-cis formuna dönüşebilir. (Zechmeister ve Polgar, 1944; Nguyen, 1999; Isaacson ve diğerleri, 2002).

karotenoidlerden etkilenmektedir (Canene-Adams ve diğerleri, 2005; Hadley ve diğerleri, 2002; Gärtner ve diğerleri, 1997; Tawfik, 2002). Sonuç olarak işlenmemiş çiğ domates ürünleri işlenmiş domates ürünlerine göre daha az likopen biyoaktivitesi göstermektedir. Çünkü işlenmemiş çiğ domateste likopenin trans izomeri daha fazla iken, pişirilerek işlenmiş domates ürünlerinde cis izomeri daha fazla bulunmaktadır (Schieber ve Carle, 2005; Unlu ve diğerleri, 2005; Kasapçopur ve Birdane, 2014)

İnsanlarda besin yoluyla alınan likopenin ancak %10–30'unun emilebildiği tespit edilmiştir. Ayrıca emilimde likopenin cis formunda olmasının da önemli olduğu keşfedilmiştir. Hayvanlarda ve insanlarda trans formda alınan likopen kan serumu ve dokularda cis formuna dönüşmektedir. Likopen yağda çözünebilen bir madde olduğu için yağ oranı yüksek olan karaciğer, meme bezleri, böbreküstü bezleri ile yumurtalıklar gibi doku ve organlarda daha çok birikir (Omoni ve Aluko, 2005; Khachik ve diğerleri, 2002; Gärtner ve diğerleri, 1997).

2.5.2. Likopenin Etkileri

Yapılan çalışmalarda, öğünlerinde bol miktarda domates ürünlerini tüketen kişilerde, domatesin içeriğindeki likopenden dolayı prostat kanserine yakalanma olasılıklarının düştüğü tespit edilmiştir. Yine yapılan çalışmalar ile mide, mesane, göğüs, kolon ve rektum kanserlerinin önlenmesinde likopenin olumlu etkisi olduğu ortaya konulmuştur. Beyaz yağ dokusundan alınan biyopsi örnekleriyle, kalp krizi geçirmiş kişilerde likopen seviyesinin düşük olduğu tespit edilmiştir. İnsan bağışıklık yetmezliği virüsü (HIV) ile enfekte olmuş, kadın ve çocukların kan serumunda sağlıklı bireylere oranla daha az likopen bulunduğu tespit edilmiştir (Rao ve Agarwal, 1999).

Likopen, antioksidan etkisi sayesinde oksidatif strese bağlı olarak ortaya çıkan singlet oksijen radikalleri, hidroksil radikali ve NO₂ radikalleri gibi zararlı moleküllerin yok edilmesinde oldukça etkilidir. Bu sebeple likopen, kanser gelişimini baskılayabilir, kalp damar hastalıkları riskini azaltabilir, kemik sağlığını destekleyebilir, cildi UV ışınlarına karşı koruyabilir ve yaşlanma belirtilerini geciktirebilir. Ayrıca likopen hücre metabolizmasını düzenlemekte ve hücreler arası ilişkileri de güçlendirmektedir (Sabbağ ve Sürücüoğlu, 2011).

Yapılan çalışmalar likopenin yalnızca antioksidan etkisinin değil bunun yanı sıra antikanser, antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antidiyabetik ve hepatoprotektif, özelliklere sahip olduğunu da göstermiştir (Imran ve diğerleri, 2020; Khan ve diğerleri, 2021).

Likopenin hücreyel etkileri ile ilgili yapılan çalışmalarda yüksek konsantrasyonlarda alınan likopenin pro-oksidan, düşük konsantrasyonlarda alınan likopenin ise antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Bowen ve diğerleri, 2002; Sahin ve diğerleri, 2019). Bu nedenle likopenin çoğu zarar azı karar denilebilir. Ancak likopenin pro-oksidan aktivitesi dokulardaki likopen ve oksijen konsantrasyonuna, diğer antioksidanlarla olan etkileşimine ve daha birçok hücreyel unsura bağlıdır (Caseiro ve diğerleri, 2020; Palozza, 1998).

Normal hücrelerde likopenin pro-oksidan etkisiyle reaktif oksijen türlerinin üretimi artmakta ve bu durumda hücre hasarına neden olabilmektedir. Bunun sonucunda da düzenleyici hücreyel işlevler bozulabilir ve hücreyel bütünlük zarar görebilir (Caseiro ve diğerleri, 2020). Bunun yanında birtakım kimyasallardan etkilenecek hücreyel bütünlüğü bozulmuş hücrelerde likopenin pro-oksidan etkisi yararlı olabilir. Bu etki sayesinde kötü huylu tümörlerin büyüyüp gelişmesi önlenabilir (Caseiro ve diğerleri, 2020). Likopenin diğer antioksidan bileşiklerle birlikte alınması karotenoidlerin pro-oksidan aktivitesini kısıtlayarak, antioksidan etkisini arttırabilir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Palozza, 1998)

Diyabetli ratlarla yapılan bir çalışmada, likopenin diyabetli ratların malondialdehid (MDA) düzeylerini azalttığı bunun yanında göstermiş olduğu antioksidan enzim aktiviteleri sayesinde indirgenmiş glutatyon (GSH) ve total antioksidan kapasite (TAK) düzeylerini arttırdığı tespit edilmiştir. Böylece likopenin diyabet ve buna bağlı gelişebilecek hastalıkların tedavisinde güvenli ve etkili bir yardımcı madde olarak kullanılabileceği sonucuna varılmıştır (Türkmen ve Özdemir, 2015).

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1. Gereç

Çalışmada, *Sprague dawley* türü, 36 adet, 8 haftalık ve ortalama 230 gram ağırlığında erkek ratlar kullanıldı. Ratlar çalışmamız süresince doğal biyolojik ritimlerini korumak amacıyla 12 saat aydınlık ve 12 saat de karanlık ortamda tutuldu. Bu sırada ratlar konvensiyonel koşullarda yeterince su ve yem verilerek beslendi. Ayrıca ratların strese girmemesi için ortam sıcaklığı $24\pm1^{\circ}\text{C}$ ve nem oranı ise yaklaşık %50-55 civarında tutuldu. Çalışmamız, 24.08.2023 tarih ve 64583101-2023-132 sayılı Etik Kurul Onayına uygun olarak yürütüldü.

Çalışmamıza başlarken her biri rastgele seçilen 6 adet rattan oluşan, 6 farklı deney grubu oluşturduk. Bu gruplar aşağıda belirtildiği gibi isimlendirildi ve çalışmamız sırasında belirtildiği şekilde de günlük diyetle alındı.

1. Kontrol Grubu (Grup No: 1): Bu gruptaki ratlar 28 gün süresince günlük 2 ml/kg dozda, ağızdan besleme kanülü ile mısır yağı verilerek beslendi.
2. 4-Nonilfenol Grubu (Grup No: 2): Bu gruptaki ratlar 28 gün süresince günlük 2 ml/kg dozdaki mısır yağına, günlük 125 mg/kg dozda 4-NF (Acros Organics, New Jersey, USA) karıştırılarak, ağızdan besleme kanülü ile beslendi.
3. Gallik Asit Grubu (Grup No: 3): Bu gruptaki ratlar 28 gün süresince günlük 2 ml/kg dozdaki %0,9'luk serum fizyolojik ile günlük 50 mg/kg dozda gallik asit (Isolab, Wertheim, Germany) karıştırılarak, ağızdan besleme kanülü ile beslendi.
4. Likopen Grubu (Grup No: 4): Bu gruptaki ratlar 28 gün süresince günlük 2 ml/kg dozdaki mısır yağına, günlük 10 mg/kg dozda likopen (DSM Redivivo 10% FS, Basel, Switzerland) karıştırılarak, ağızdan besleme kanülü ile beslendi.
5. Gallik Asit+4-NF Grubu (Grup No: 5): Bu gruptaki ratlar 28 gün süresince günlük 2 ml/kg dozdaki %0,9'luk serum fizyolojik ile günlük 50 mg/kg dozda gallik asit karıştırılarak verildikten bir saat sonra günlük 2 ml/kg dozdaki mısır yağına, günlük 125 mg/kg dozda 4-NF karıştırılarak uygulandı.
6. Likopen+4-NF Grubu (Grup No: 6): Bu gruptaki ratlar 28 gün süresince günlük 2 ml/kg dozdaki mısır yağına, günlük 10 mg/kg dozda likopen karıştırılarak

verildikten bir saat sonra günlük 2 ml/kg dozdaki mısır yağına, günlük 125 mg/kg dozda 4-NF karıştırılarak verildi.

Uygulama süresi sonunda, deney hayvanlarına intraperitoneal yolla 10 mg/kg dozda ksilazin ve 75 mg/kg dozda ketamin anestezi uygulandı. Bu işlem den sonra etik kurallar çerçevesinde servikal dislokasyon ile ötenazi gerçekleştirildi. Sonrasında ratların pankreasları çıkarıldı ve doku yapısının bozulmaması için 24 saat süreyle %10'luk formalinde fikse edildi. Ertesi gün pankreaslar, çalışmanın ilerleyen safhalarında incelenmek üzere rutin histolojik işlemlerden geçirildikten sonra parafin bloklara gömüldü.

3.2. Yöntem

3.2.1. Histolojik Yöntem

Deney gruplarına ait parafine gömülü pankreaslardan, mikrotom yardımıyla 100 µm aralıklarla 5-6 µm kalınlığında her bir lam üzerine 3 tane olmak üzere seri kesitler alınarak incelenmek üzere preparatlar oluşturuldu. Her bir deney grubuna ait preparatlarda toplam 108'er kesit oluşturuldu ve histolojik olarak boyanmaya hazır hale getirildi. Hazırlanan kesitler, doku yapısı ve olası hasarlarının çok yönlü incelenip değerlendirilebilmesi amacıyla Triple boyama metodu, periyodik asit-Schiff (PAS) boyama metodu ve Hematoksilen-Eozin (HE) boyama metodu uygulandı (Lima, 1968).

3.2.1.1. Üçlü Boyama Metodunun Uygulanması (Triple Stain)

Öncelikle kesitlerdeki parafinin uzaklaştırılması amacıyla parafinle kaplı kesitler 5'er dakika süreyle 2 kez ksilolde bekletildi. Ardından kesitler 3'er dakikalık sürelerde %100 alkol-1, %100 alkol-2, %96'lık alkol, %80'lik alkol ve son olarak da %70'lik alkol serilerinden geçirildi. Ardından kesitler 5'er dakika süreyle 2 kez distile sudan geçirilip 5 dakika boyunca akan eşme suyu altında tutuldu. Parafinden ve diğer kimyasallardan arındırılan kesitler öncelikle pankreas dokusundaki hücre çekirdeklerinin boyanması amacıyla 10 dakika boyunca Weigert-demir-hematoksilen çözeltisinde bekletildi ve hemen ardından kesitler tekrar 5 dakika boyunca akan eşme suyu altında yıkanarak üzerlerindeki hematoksilen boyadan arındırıldı. Bu işlem den sonra kesitler, 1 dakika boyunca metil karbonat solüsyonunda bekletilip hemen ardın önce 5 dakika süreyle akan eşme suyu altında sonra da 3 dakika süreyle distile suda bekletildi. Ardından kesitler asit-fuksin çözeltisine 5'er

kez batırılıp çıkarılarak sitoplazmalarının boyanması sağlandı ve asit-fuksinin giderilmesi için de suyun rengi tamamen şeffaflaşınca kadar 4 şale distile suda çalkalandı. Sonrasında kesitler bağ dokusunun boyanabilmesi, kontrastının artırılması ve diğer dokulardan ayrılabilmesi için 14 dakika boyunca fosfotungustik asite tabi tutuldu ve hemen ardından fosfotungustik atıklarının uzaklaştırılması amacıyla 5'er dakika boyunca 2 kez distile sudan geçirildi. Bağ doku boyaması için hazır olan kesitler 1 dakika süresince anilin-blue çözeltisinde bekletilerek bağ dokularının mavi renge boyanması sağlandı. Bu işlemten sonra kesitlerdeki fazla boyayı uzaklaştırmak için kesitler 4 şale distile suda yıkandı. Fazla boyadan arındırılan kesitler boyaların sabitlenmesi amacıyla 3 dakika boyunca %2'lik asetik-asit solüsyonunda bekletildi ve sonrasında hemen hızlıca distile suda 1-2 saniye tutulup, %96'lık alkole daldırılıp çıkartıldı. Ardından kesitler içerisindeki suyun giderilmesi amacıyla artan dereceli alkol çözeltilerinde (%96'lık alkol, %100 alkol-I ve %100 alkol-II) 3'er dakika tutuldu ve sonrasında alkolün uzaklaştırılması amacıyla 2 kez 5'er dakika da ksilolde bekletildikten sonra entellan ile kapatıldı.

3.2.1.2. Periyodik Asit-Schiff (PAS) Boyama Metodunun Uygulanması

Deney hayvanlarından elde edilen ve parafinle kaplı kesitler parafinin uzaklaştırılması işlemi için 2 kez 5'er dakika ksilol çözeltisinde bekletildi. Sonrasında kesitleri boyama işlemine hazır hale getirmek ve dokulara su geçişini sağlamak amacıyla kesitler 3'er dakikalık sürelerde azalan dereceli alkol serilerinden (%100 alkol-1, %100 alkol-2, %96'lık alkol, %80'lük alkol ve son olarak da %70'lük alkol) geçirildi. Ardından dokulardaki polisakkarit yapıları okside edebilmek için kesitler 8'er dakika %1'lik periyodik-asit çözeltisinde bekletildi. Sonrasında kesitler akarsuda 10 dakika boyunca yıkandı. Yıkamanın ardından kesitler karanlık ortamda Schiff Reagent ile 13 dakika boyunca muamele edildi. Ardından kesitler 5'er dakika boyunca sırasıyla iki kez potasyum metasülfid-I ve potasyum metasülfid-II çözeltilerinde bekletildi. Sonrasında kesitler tekrar 10 dakika boyunca akarsuda yıkandı. Kesitler bir şale distile suda çalkalandıktan sonra hücre çekirdeklerinin boyanması amacıyla 5 dakika boyunca hemalaun ile muamele edildi. Ardından kesitler tekrar 13 dakika boyunca akarsuda yıkayıp distile suda bir şale çalkalandıktan sonra hemen %96'lık alkol-I'e daldırılıp çıkartıldı. Sonrasında kesitler 3'er dakika boyunca %96 alkol-II de, %100 alkol-I'de ve %100 alkol-II'de tutuldu. Son olarak kesitler içindeki alkolün uzaklaştırılması amacıyla 5'er dakika boyunca 2 kez ksilolde tutulduktan sonra entellan damlatılarak sabitlendi.

3.2.1.3. Hematoksilen-Eozin (HE) Boyama Metodunun Uygulanması

Parafinle kaplı kesitler parafinin uzaklaştırılması işlemi için 5'er dakika boyunca ksilole alındı. Sonrasında kesitlerin doku yapısının korunması ve dokulara su girişi sağlamak amacıyla kesitler 3'er dakika boyunca sırasıyla %100 alkol-I, %100 alkol-II, %96'lık alkol, %80'lik alkol ve son olarak da %70'lik azalan dereceli alkol serilerinden geçirildi. Sonrasında kesitlerdeki alkolün uzaklaştırılması amacıyla kesitler 2 kez distile suda yıkandı ve hemen ardından hücre çekirdeklerinin boyanması amacıyla 5 dakika süreyle Harris-hematoksilen solüsyonunda bekletildi. Sonrasında dokulardaki fazla hematoksileni uzaklaştırmak amacıyla kesitler asit-alkol çözeltisinde 1 kez çalkalandı ve hemen ardından akan çeşme suyu altında 5 dakika boyunca bekletildi. Ardından kesitlere hücre sitoplazmasının boyanması için 2 dakika boyunca eozin boyama yapıldı. Eozin boyamanın ardından kesitler %96 alkol-I ve %96 alkol-II de çalkalandıktan sonra sırası ile %100 alkol-I'de ve %100 alkol-II'de 3'er dakika tutuldu. Son olarak kesitlerdeki alkolün giderilmesi amacıyla kesitler 5'er dakika boyunca 2 kez ksilolde tutuldu ve sonrasında entellan ile sabitlendi.

3.2.2. İmmunohistokimyasal Yöntem

3.2.2.1. Streptavidin-Biotin Peroksidaz Boyama Metodu

Deneyde kullanılan ratların pankreaslarında apoptozis yoğunluğunu belirlemek için caspase-3 antikor ve Langerhans adacıklarında insülin üreten β hücrelerinin yoğunluğunu değerlendirmek için ise insülin antikor kullanılarak streptavidin-biotin peroksidaz boyama metodu gerçekleştirildi. Bu yöntemi uygularken kesitlerin cam yüzeye daha sağlam tutunabilmesi için organosilan kaplı lamalar kullanıldı. Öncelikle 5-6 μ m kalınlığındaki rat pankreas kesitleri 5'er dakika 2 kez ksilolde tutularak deparafinizasyondan işlemi uygulandıktan sonra, 3'er dakika süreyle ve giderek azalan derecelerde (%100 alkol-I, %100 alkol-II, %96'lık alkol, %80'lik alkol ve %70'lik alkol) alkollerden geçirildi. Sonrasında kesitlerdeki alkolün uzaklaştırılması için preparatlar 2 kez distile suda yıkandı. Kesitlerdeki protein yapılarını açığa çıkarmak ve antikorların bu proteinlere daha kolay bağlanmasını sağlamak amacıyla, kesitler 5'er dakika süreyle 3 kez %0,05 Tween-20 içeren 0,01 sodyum sitrat tamponu (pH: 6) içinde, mikrodalga fırında 100°C'de kaynatılarak antijen retrieval işlemi uygulandı. Ardından, bu kesitler yaklaşık 20 dakika boyunca oda sıcaklığında soğumaya bırakıldı. Soğuyan kesitler 2 kez 5'er dakika olacak şekilde PBS (fosfat buffer solution,

ph:7,2) ile yıkandı. Daha sonra doku içerisinde doğal olarak bulunan endojen peroksidaz enzimlerini inaktive etmek için kesitleri distile su ile hazırladığımız %3'lük H_2O_2 çözeltisinde 15 dakika bekletildi. Ardından kesitlerdeki H_2O_2 kalıntılarını temizlemek için kesitleri 5'er dakika süreyle 2 kez tekrar PBS'den geçirildi. Sonraki adımda dokularda istenmeyen antikor bağlanmalarını engellemek için kesitler, oda sıcaklığında ve nemli bir kap içerisinde 30 dakika boyunca serum blocking solüsyonu (Histotain Plus Broad Spectrum Invitrogen) damlatılarak bekletildi. Sonrasında lamalar üzerindeki fazla bloking çözeltileri döküldü. Kesitlere PBS ile dilüe edilmiş primer antikor (Rabbit Anti-Caspase-3 Polyclonal Antibody, Cloud-Clone Corp., PAA626Ra01, Texas, USA, 6.6 µg/mL oranında; Rabbit Anti-Insulin Polyclonal Antibody H-86:sc-9168, 1/100 oranında) damlatılarak +4°C sıcaklıkta ve nemli bir kap içerisinde bir gece boyunca bekletildi. Bunun yanında benzer işlemlere tabi tutulan, fakat primer antikor kullanılmayan sadece PBS'de bekletilen kesitler boyamanın spesifikliğini test etmek amacıyla negatif kontrol olarak kullanıldı. Ertesi sabah dokulardaki fazla reaktifleri uzaklaştırmak ve antikor etkinliğini arttırmak için kesitler 5'er dakika süreyle 2 kez pH 7,6 olan Tris Buffered Saline (TBS) çözeltisinde tutuldu. Bu işlemten hemen sonra kesitler 37°C ısıda ve nemli ortamda, içinde biyotin işaretli sekonder antikor (Histostain Plus Broad Spectrum Invitrogen) bulunan çözeltide 1 saat boyunca bekletildi. Bunun ardından kesitler 5'er dakika süreyle 2 defa TBS ile yıkandı. Sonrasında kesitler 37°C sıcaklık ve nemli ortamda Horseradish Peroxidase (HRP) (Histostain Plus Broad Spectrum Invitrogen) enzimi içeren solüsyonda 1 saat boyunca inkübe edildi. Bundan sonra kesitler tekrar 5'er dakika süreyle 2 defa TBS içerisinde yıkandı. Daha sonra kesitler yaklaşık 1,5 dakika süresince Diaminobenzidin (DAB) çözeltisine daldırıldı. Bu işlem sonucunda, antikoron bağlandığı hücreler kahverengi renkle boyandı ve mikroskop altında görünür hale getirildi. Bu işlemten sonra kesitler distile su ile yıkandı ve hemen ardından çekirdeklerinin boyanması amacıyla 45 saniye Weigert-demir-hematoksilende tutuldu ve sonrasında iki şale distile suda çalkalanıp 5 dakikada distile suda bekletildi. Bundan sonra kesitler öncelikle %96'lık alkol-I çözeltisinden hızlıca geçirildi ve ardından sırasıyla 3'er dakika boyunca artan alkol serilerinde (%96'lık alkol-II, %100 alkol-I ve %100 alkol-II) tutuldu. Son olarak kesitler 5'er dakika boyunca 2 kez ksilolde tutularak alkolden arındırıldı ve ardından entellan damlatılarak kapatıldı. Kesitlerin mikroskopik incelenmesi ve immün pozitif hücrelerin tespit edilip görüntülenmesinde, laboratuvarımızda mevcut, Olympus marka BX51 model mikroskop ve DP70 kamera/görüntü analiz sistemi kullanıldı.

3.2.3. İstatiksel Değerlendirme

Elde edilen verilerin istatistiksel analizi için SPSS22.00 paket programı kullanıldı. Öncelikle bütün parametreler Shapiro Wilk testi ile normal dağılım açısından ayrı ayrı değerlendirildi. Yapılan analizde tüm parametreler için verilerin normal dağılım göstermediği tespit edildi. Normal dağılım göstermeyen değerlerin grup ortalamaları arasındaki farklılıkları Kruskal-Wallis testi ile belirlendi. Post hoc çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler ortalama $\pm$ standart hata olarak verildi. Farklılıkları $p < 0.05$ () ve $p < 0.001$ (**) olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

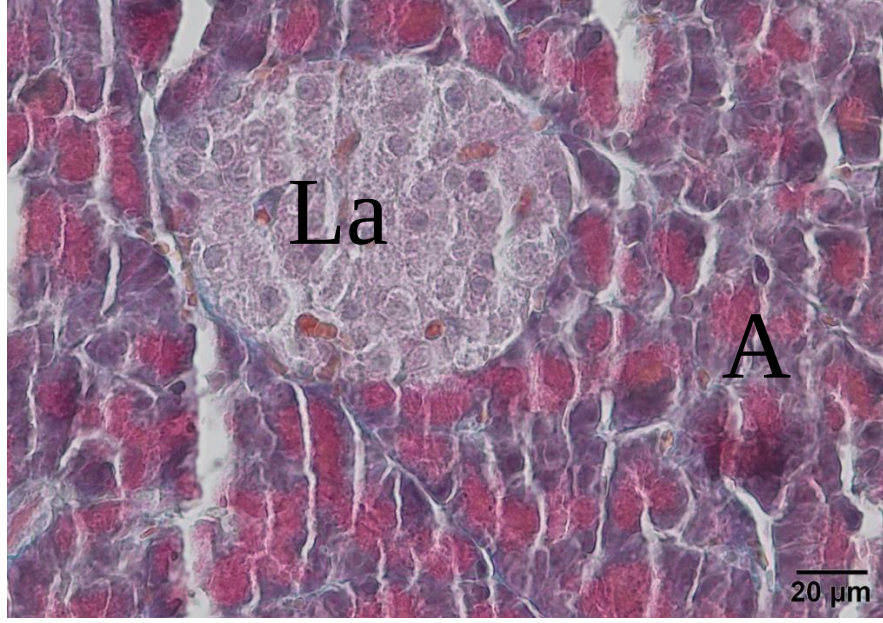
4.1. Histolojik Bulgular

Deney gruplarından elde edilen 5-6 µm kalınlığında, 100 µm aralıklı seri kesitlerde pankreasın genel histolojik görünümü, epitel hücre katmanı, asinar hücreleri, damar ve Langerhans adacıklarının yapısının tespiti için, Triple boyama metodu, Periyodik Asit–Schiff (PAS) boyama metodu ve Hematoksilen-Eozin (HE) boyama metodu uygulandı. Farklı tekniklerle boyanan kesitler BX51 (Olympus) araştırma mikroskopu ve DP70 kamera/görüntü analiz sistemi altında incelendi.

Yapılan genel inceleme sonucunda pankreasa ait dokularda ekzokrin pankreası oluşturan asinar hücrelerinin daha koyu boyandığı ancak endokrin pankreasa ait Langerhans adacıklarındaki hücrelerin ekzokrin pankreasa göre daha soluk şekilde boyandığı ve bu şekilde Langerhans adacıklarının kolaylıkla ayırt edilebildiği görüldü. Büyük çaptaki damarlar yer yer ekzokrin pankreas dokusu içerisinde ve Langerhans adacıkları çevresinde görülürken, özellikle PAS boyama ile Langerhans adacıkları içerisinde kapiler damarlar tespit edildi.

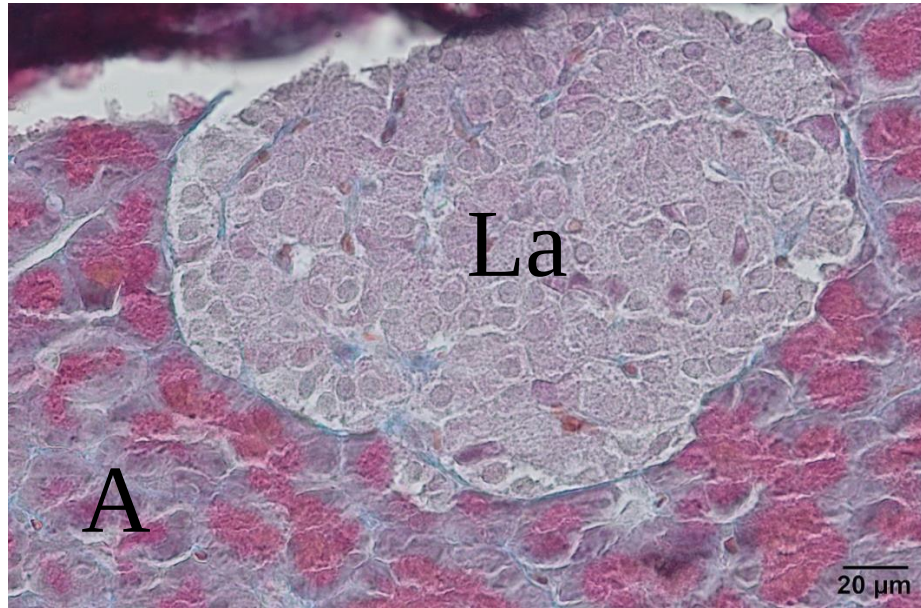
4.1.1. Triple Boyama Metodu

Deneyde kullanılan rat pankreaslarının genel histolojik görünümünün tespiti için, Triple boyama metodu uygulandı ve kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Farklı deney gruplarındaki ratlara ait pankreas dokusundaki, Langerhans adacıklarının genel görünümü, adacık dejenerasyonunun boyutu ve asinar hücrelerinin yapısı değerlendirildi.

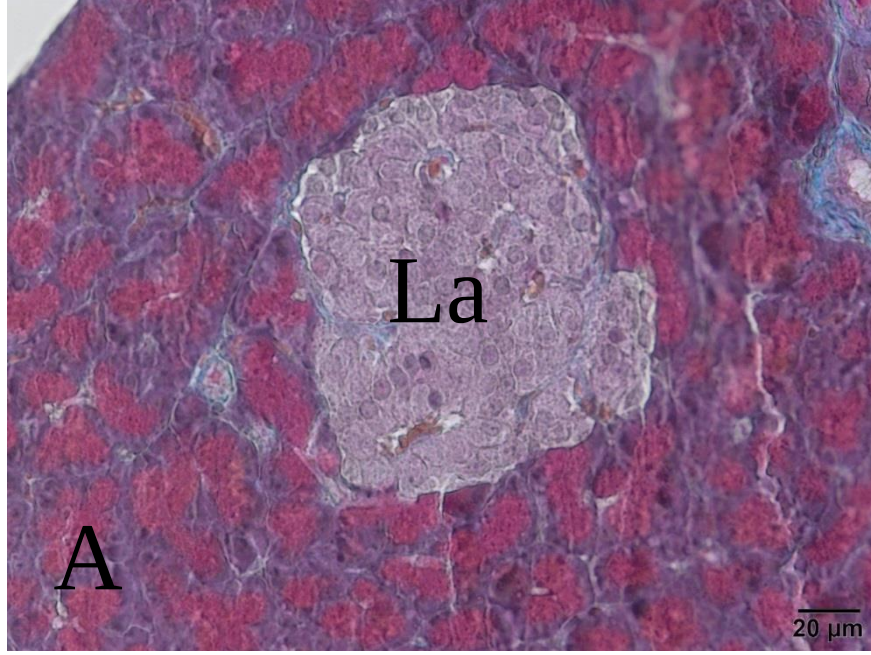


Resim 1.Kontrol grubuna Langerhans adacığı (La) ve asinar hücre (A) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20μm.

Kontrol grubuna ait kesitlerde Langerhans adacıklarının düzgün olduğu, herhangi bir dejenerasyona rastlanmadığı ve asinar hücrelerin düzenli olarak yer aldığı tespit edildi (Resim 1). Beslenmeleri sırasında mısır yağına sadece likopen eklenen (Resim 2) veya mısır yağına sadece galik asit (Resim 3) eklenen deney gruplarında da kontrol grubuna benzer durumların olduğu gözlemlendi.

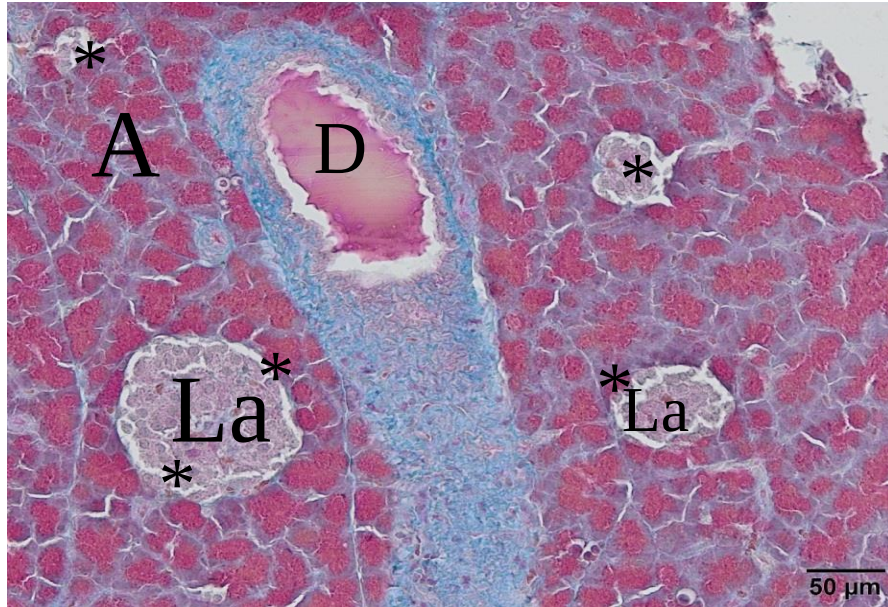


Resim 2. Likopen grubunda Langerhans adacığı (La) ve asinar hücre (A) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20μm.

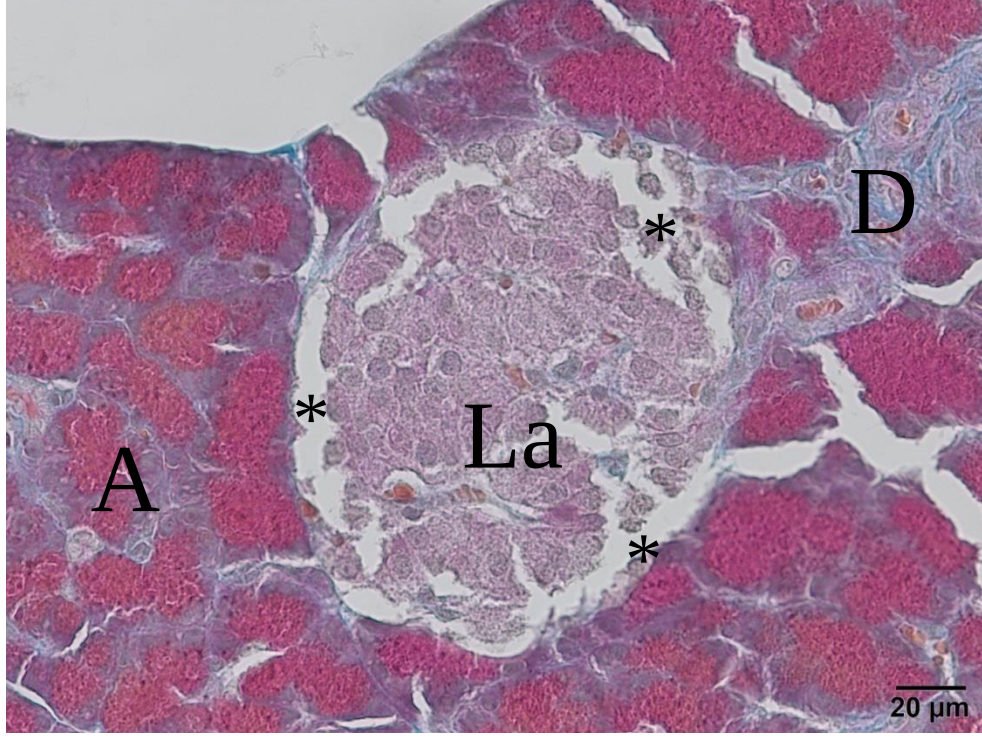


Resim 3. Gallik asit grubunda Langerhans adacığı (La) ve asinar hücre (A) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20µm

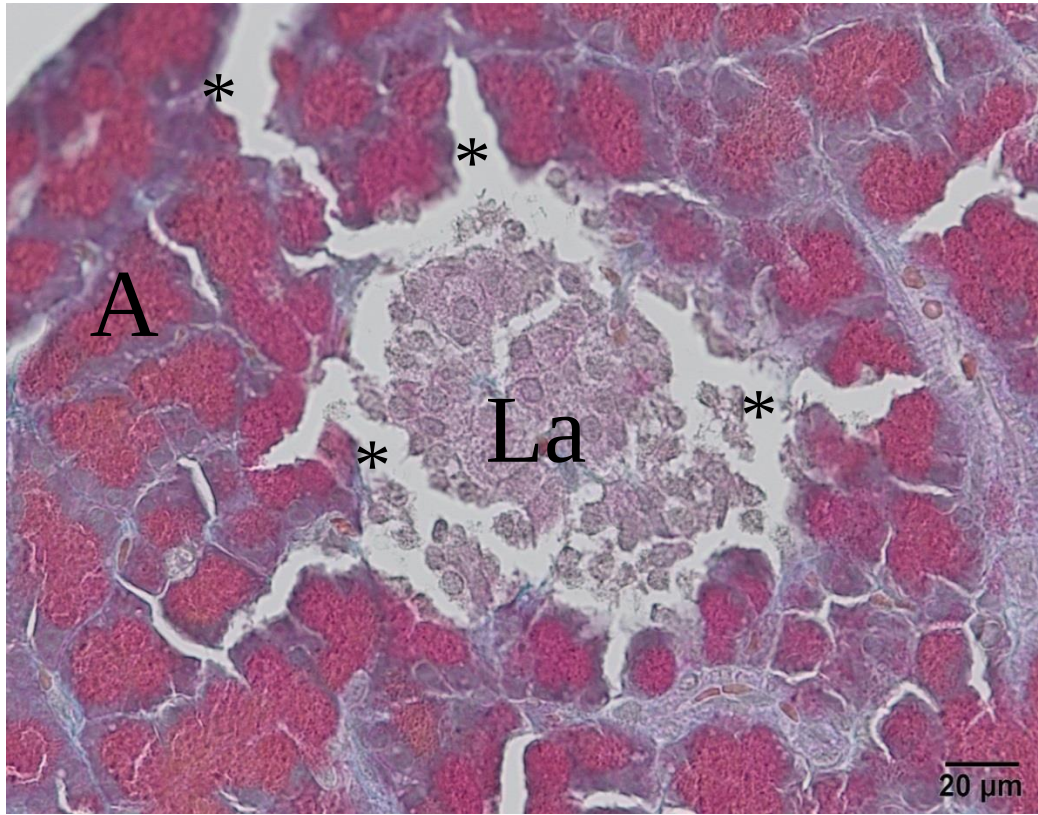
Beslenmeleri sırasında mısır yağına 4-NF eklenen (Resim 4) deney gruplarında ekzokrin pankreas dokusu ile Langerhans adacıkları (La) içerisinde ve çevresinde hücresel dejenerasyonun olduğu, hücresel dejenerasyonun özellikle Langerhans adacık çevresinde geniş çatlaklar şeklinde olduğu dikkat çekti (Resim 4-6).



Resim 4. 4-NF grubunda Langerhans adacıkları (La) ve asinar hücre (A), damar (D) ve hücresel dejenerasyon (*) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 50µm

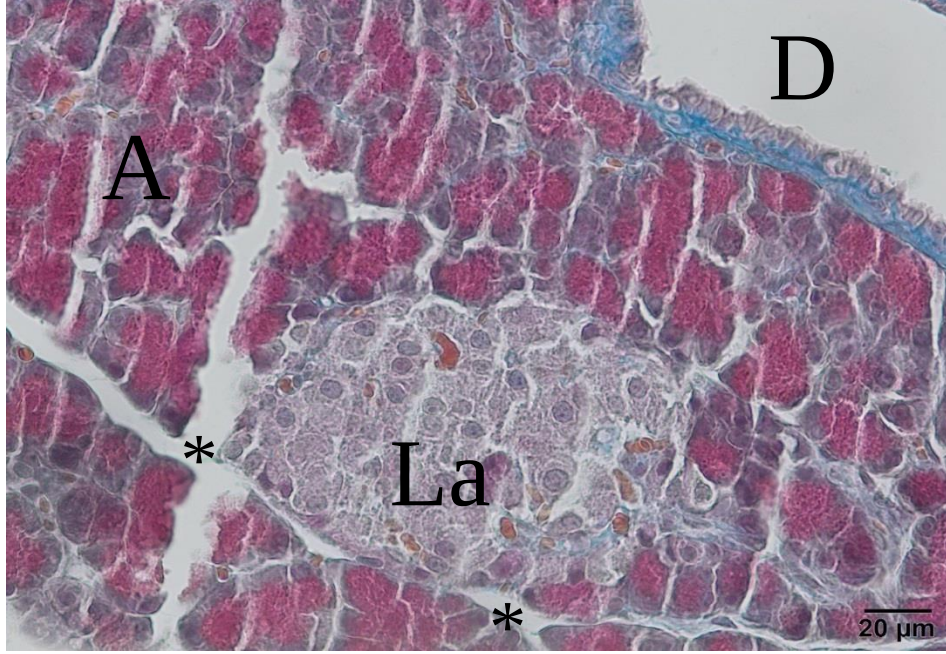


Resim 5. 4-NF grubunda Langerhans adacıkları (La) ve asinar hücre (A), damar (D) ve hücresel dejenerasyon (*) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20µm

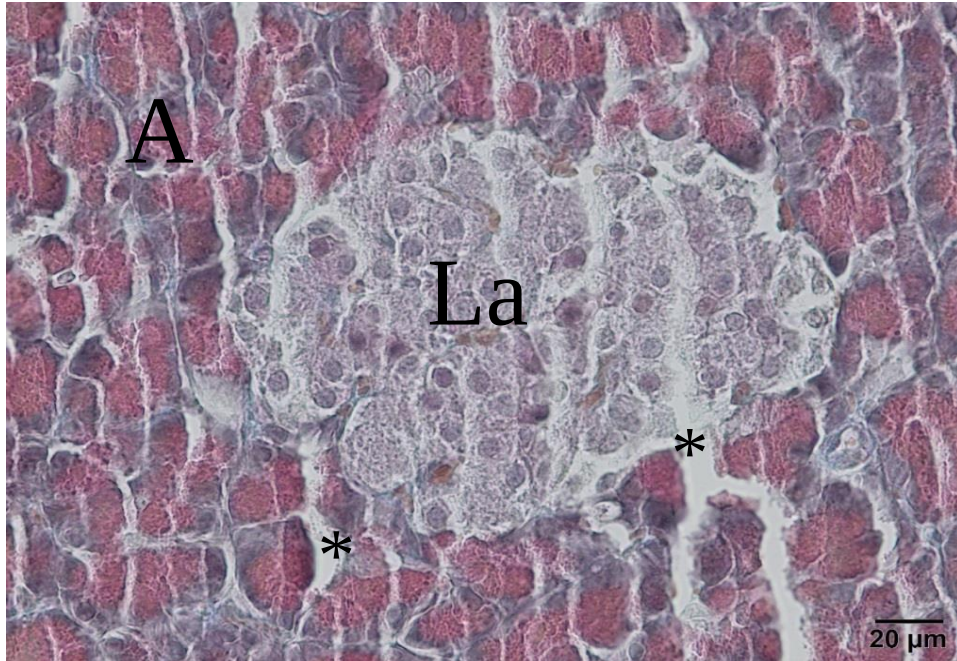


Resim 6. 4-NF grubunda Langerhans adacıkları (La) ve asinar hücre (A) ve hücresel dejenerasyon (*) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20µm

Beslenmeleri sırasında 10 mg/kg/gün dozda likopen ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta Langerhans adacıklarındaki çatlaklar şeklindeki hücresel dejenerasyonun ekzokrin pankreastaki dejenerasyona göre daha çok azaldığı görüldü (Resim 7-8).

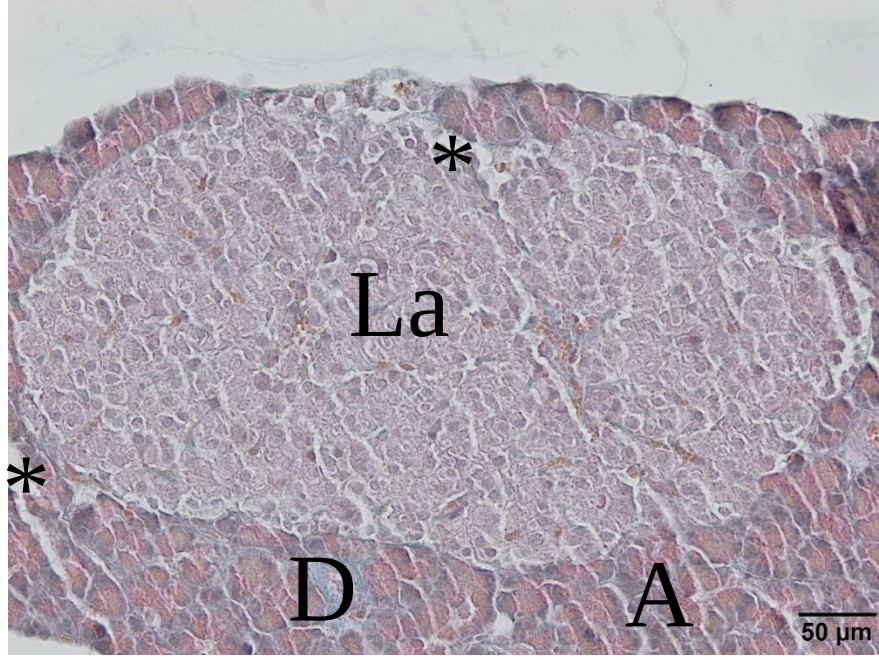


Resim 7. Likopen + 4-NF grubunda Langerhans adacıkları (La) ve asinar hücre (A), damar (D) ve hücresel dejenerasyon (*) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20µm

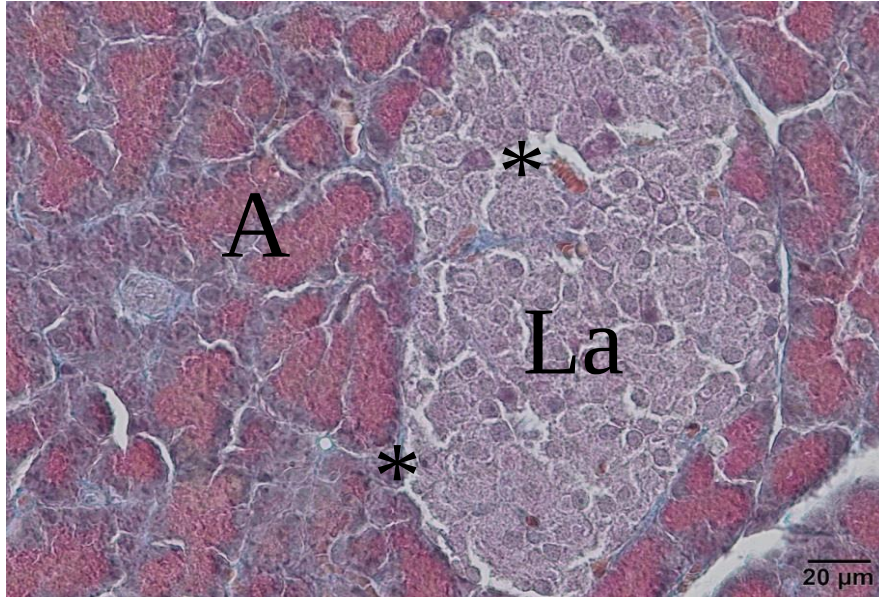


Resim 8. Likopen + 4-NF grubunda Langerhans adacıkları (La) ve asinar hücre (A) ve hücresel dejenerasyon (*) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20µm

Beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda gallik asit ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta Langerhans adacıklarındaki ve ekzokrin pankreastaki çatlak şeklindeki hücresel dejenerasyonun likopen + 4NF grubundaki dejenerasyona göre daha çok azaldığı, kontrol grubuna yakın bir görüntü olduğu tespit edildi (Resim 9-10).



Resim 9. Gallik asit + 4-NF grubunda Langerhans adacıkları (La) ve asinar hücre (A), damar (D) ve hücresel dejenerasyon (*) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 50µm



Resim 10. Gallik asit + 4-NF grubunda Langerhans adacıkları (La) ve asinar hücre (A) ve hücresel dejenerasyon (*) görüntüsü. Triple boyama metodu. Bar: 20µm

Deney hayvanlarından elde edilen kesitler Triple boyama metodu ile boyandıktan sonra Langerhans adacıklarında meydana gelen dejenerasyonun büyüklüğü semi kantitatif olarak da skorlandı. Langerhans adacıklarında meydana gelen hücrel dejenerasyon 0 ile 3 arasında değerlendirildi. 0= normal, 1= hafif, 2= orta ve 3= ağır hasarlı olarak kabul edildi (Elbe ve diğerleri, 2015). Elde edilen skorlama değerleri Kruskal-Wallis testi ile analiz edilerek aşağıdaki tablo oluşturuldu (Tablo 3).

Tablo 3. Kontrol ve deney gruplarının pankreaslarında Langerhans adacıklarındaki hücrel dejenerasyonun yoğunluk değerleri

Grup	n	Dejenerasyonun Semi-kantitatif Skorları
		($\bar{x} \pm Sx$)
Kontrol	6	0.39±0.12 ^b
Likopen	6	0.50±0.12 ^b
Gallik Asit	6	0.50±0.15 ^b
4-NF	6	2.72±0.11 ^a
L+4-NF	6	0.56±0.15 ^b
GA+4-NF	6	0.28±0.11 ^b
P		***

^{a,b}: Aynı sütunda farklı harf taşıyan veriler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

***: $P < 0.001$

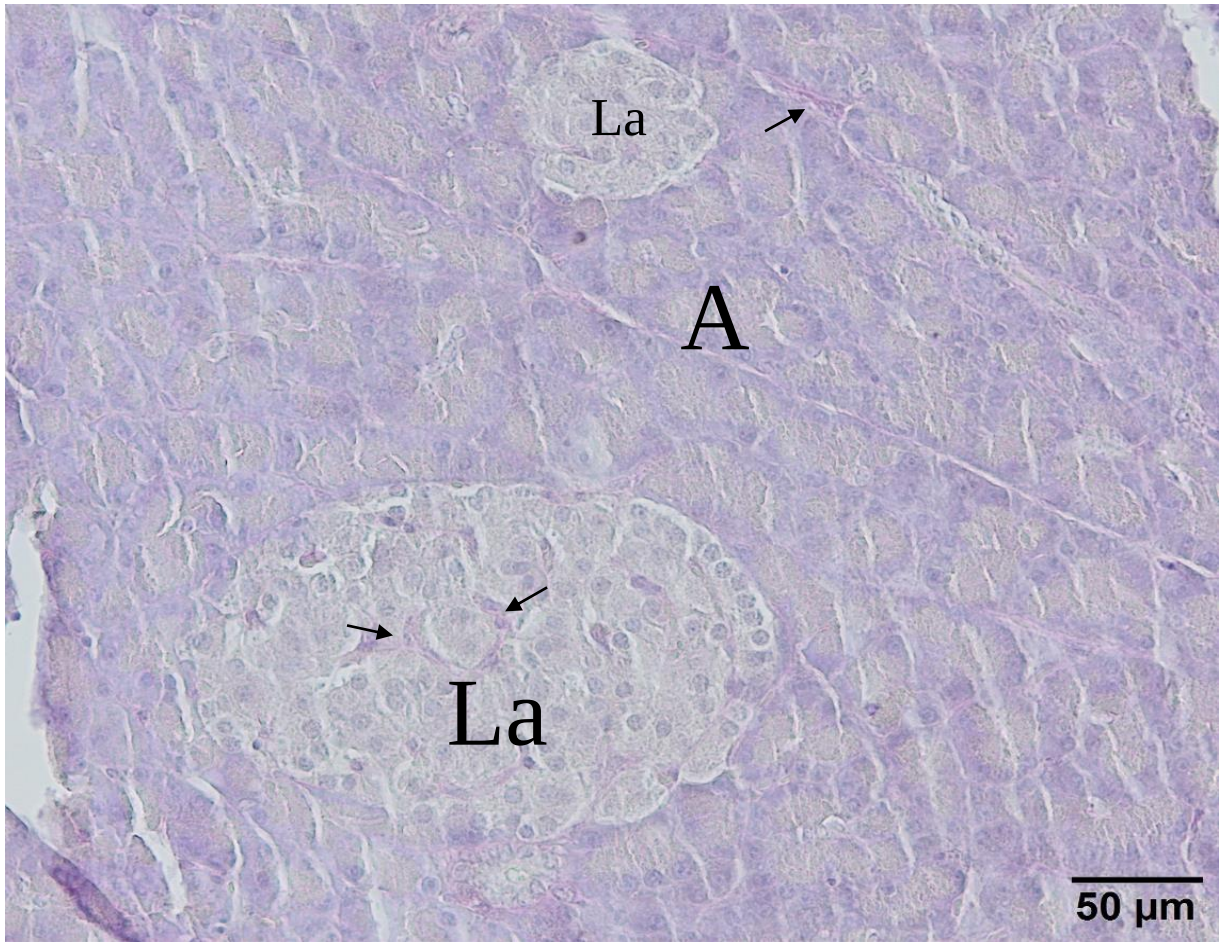
4-NF: 4- Nonilfenol, L: Likopen, GA: Gallik asit,

n: rat sayısı, $\bar{x}$: ortalama, $S\bar{x}$: standart hata.

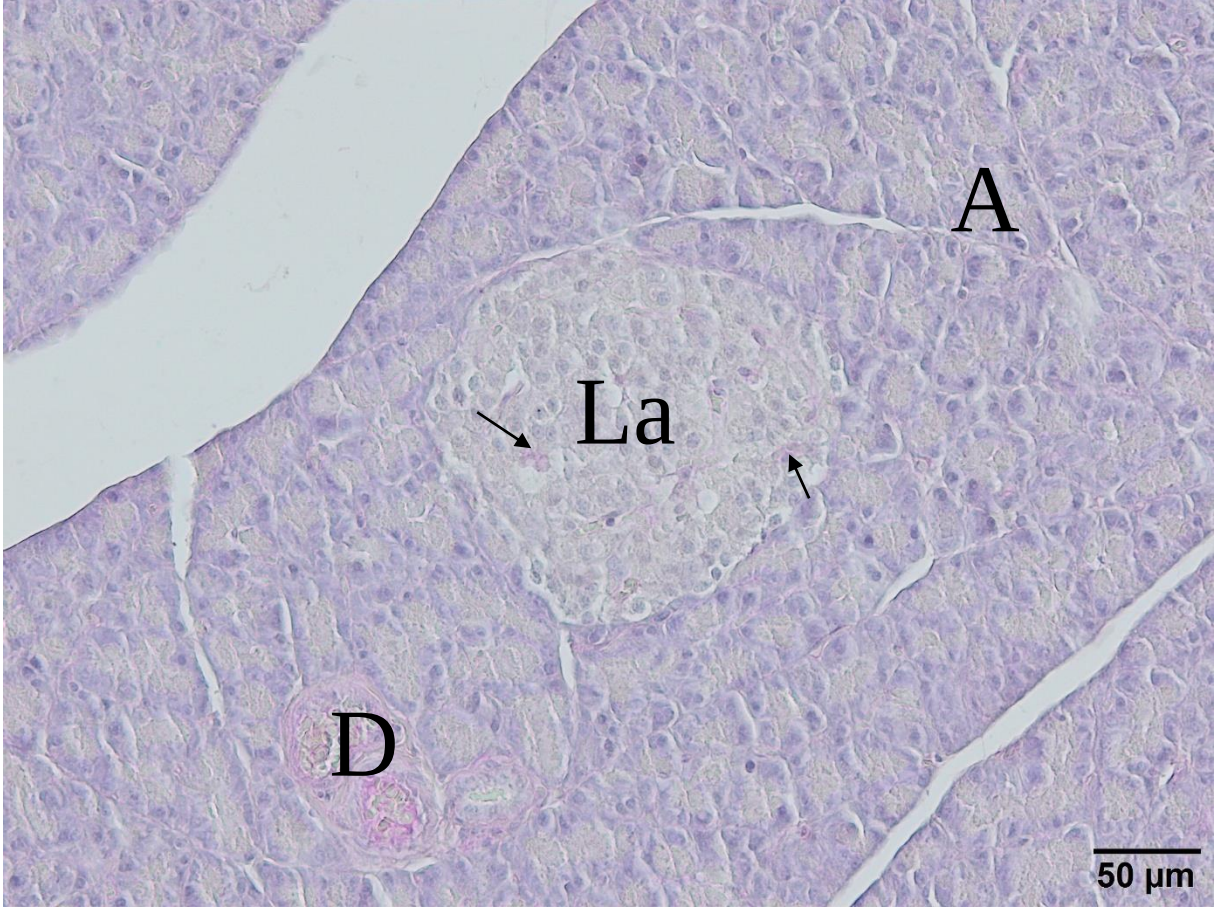
Yukarıdaki semi-kantitatif skorlar tablosu incelendiğinde; 4-NF grubundaki ratların Langerhans adacıklarında oldukça belirgin düzeyde hücrel dejenerasyonlar gerçekleştiği, buna karşın, kontrol ve diğer deney gruplarındaki ratlardan elde edilen kesitlerde genellikle hücrel dejenerasyonun olmadığı veya hafif düzeyde dejenerasyonun olduğu tespit edildi.

4.1.2. Periyodik Asit–Schiff (PAS) Boyama Metodu

Deneyde kullanılan rat pankreaslarının genel histolojik görünümünün tespiti için kullanılan bir başka boyama metodu ise Periyodik Asit–Schiff (PAS) boyama metodudur. Bu boyama metodu ile damar çeperleri mor-menekşe renginde tespit edilirken, asinar hücre çekirdekleri ve Langerhans adacıklarında bulunan hücre çekirdekleri mavi-mor renkli boyandı. Asinar hücrelerin sitoplazmaları pembe-mor renklerde boyanırken endokrin pankreas hücrelerinin sitoplazmaları daha soluk pembe-mor renge boyandı. Bunun nedeninin, enzim aktivitesi yüksek olan ekzokrin pankreasın asinar hücrelerinde bulunan ve PAS ile pozitif reaksiyon veren zimojen granüllerin fazlalığı olduğu değerlendirildi (Resim 11-12).

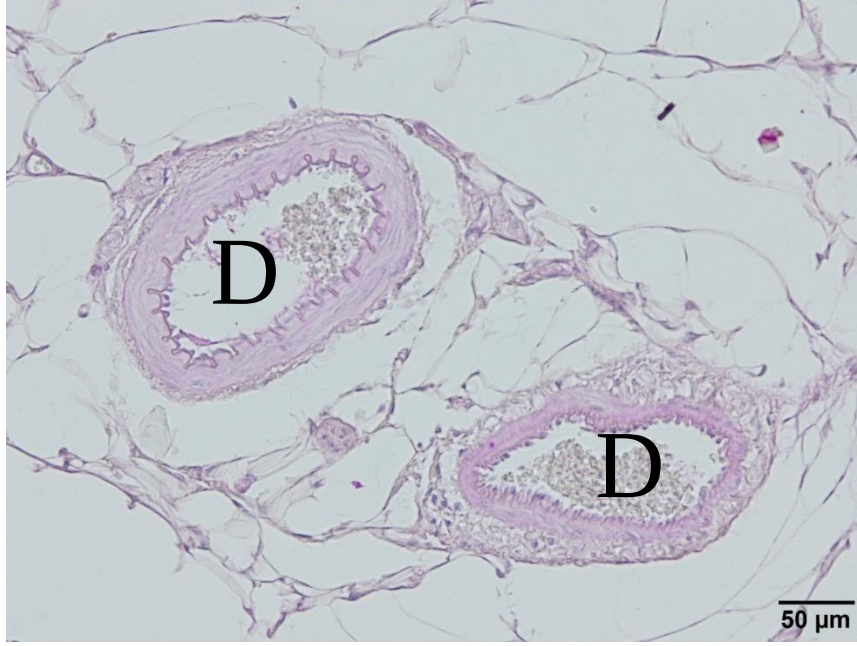


Resim 11. Kontrol grubunda, pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve kapilar damar (oklar) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm



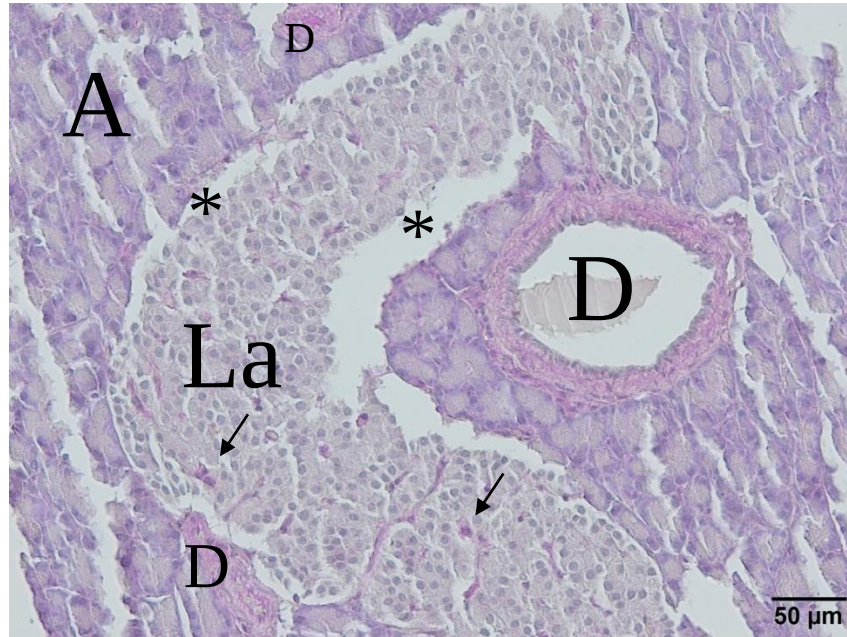
Resim 12. Kontrol grubunda, pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), damar (D) ve kapilar damar (oklar) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm

Kontrol grubuna ait kesitlerde yapılan incelemede Triple boyama metoduyla elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olduğu tespit edildi. Langerhans adacıklarının düzgün şekilde olduğu herhangi bir dejenerasyon belirtisinin olmadığı, ekzokrin pankreasın asinar hücrelerinin düzenli olarak sıralandığı yine herhangi bir dejenerasyonun olmadığı, arter ve vena damar kalınlıklarının normal olduğu görüldü. Ayrıca damar yüzeylerinin normal kalınlıkta olduğu ve homojen olarak PAS pozitif boyandığı görüldü (Resim 13).

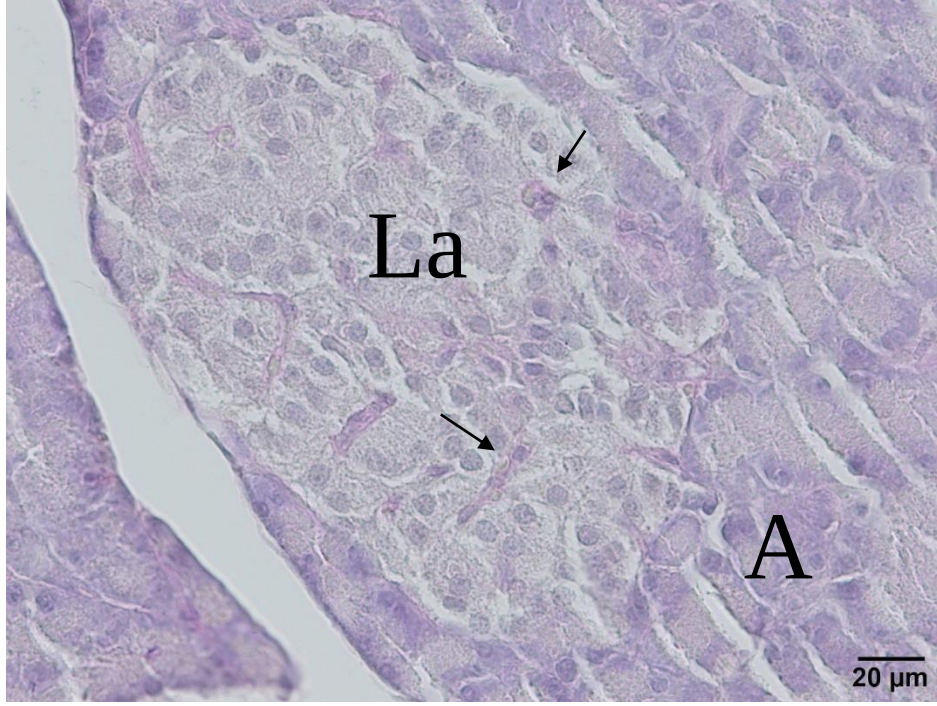


Resim 13. Kontrol grubu pankreasın damar (D) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm.

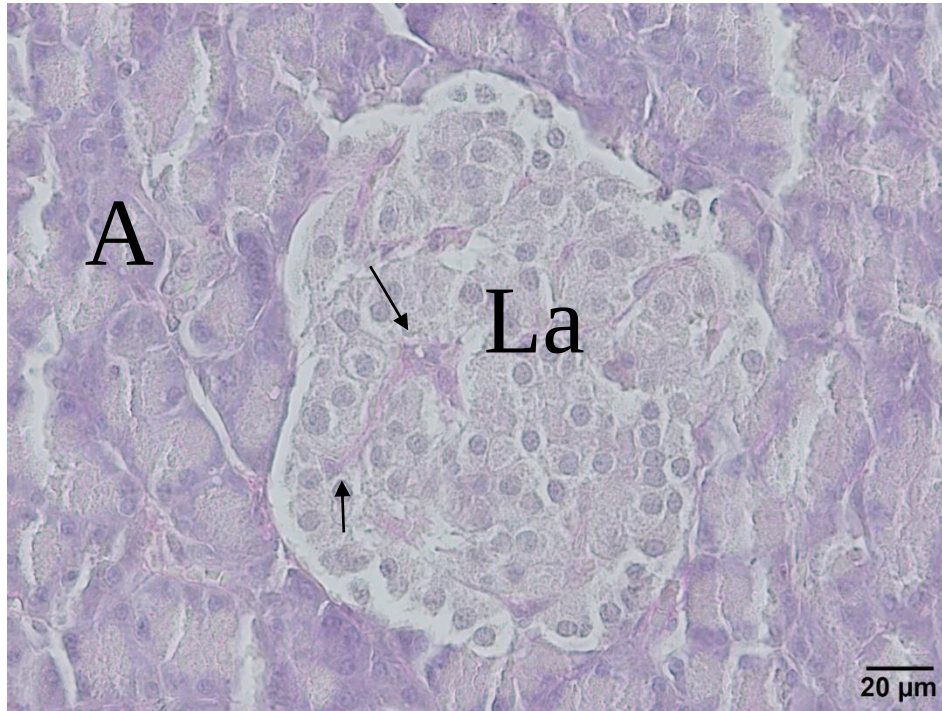
Beslenmeleri sırasında likopen 10 mg/kg/gün dozda, 2 ml/kg mısır yağı ile karıştırılarak verilen grup (Resim 14-15) ve beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda, 2 ml/kg %0,9'luk serum fizyolojik ile gallik asit karıştırılarak verilen (Resim 16-18) deney grubunda, kontrol grubu ile yapılan karşılaştırmada ekzokrin pankreas, endokrin pankreas ve damar yapıları bakımından bariz herhangi bir farklılık görülmedi.



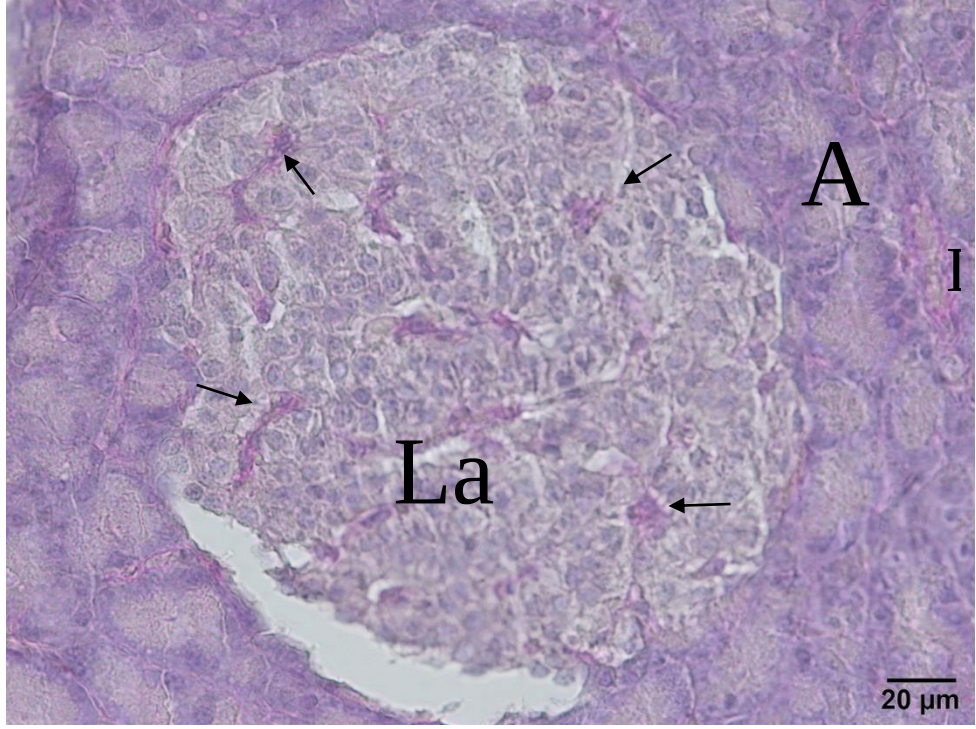
Resim 14. Likopen grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm



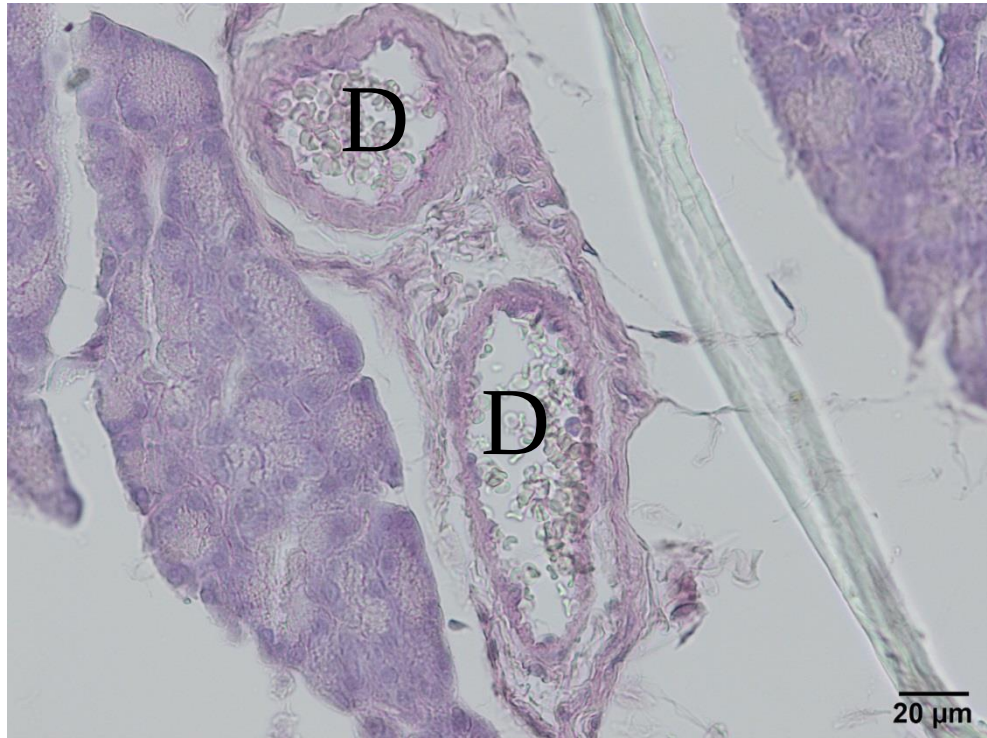
Resim 15. Likopen grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve kapilar damarlar (oklar) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm



Resim 16. Gallik asit grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve kapilar damarlar (oklar) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm

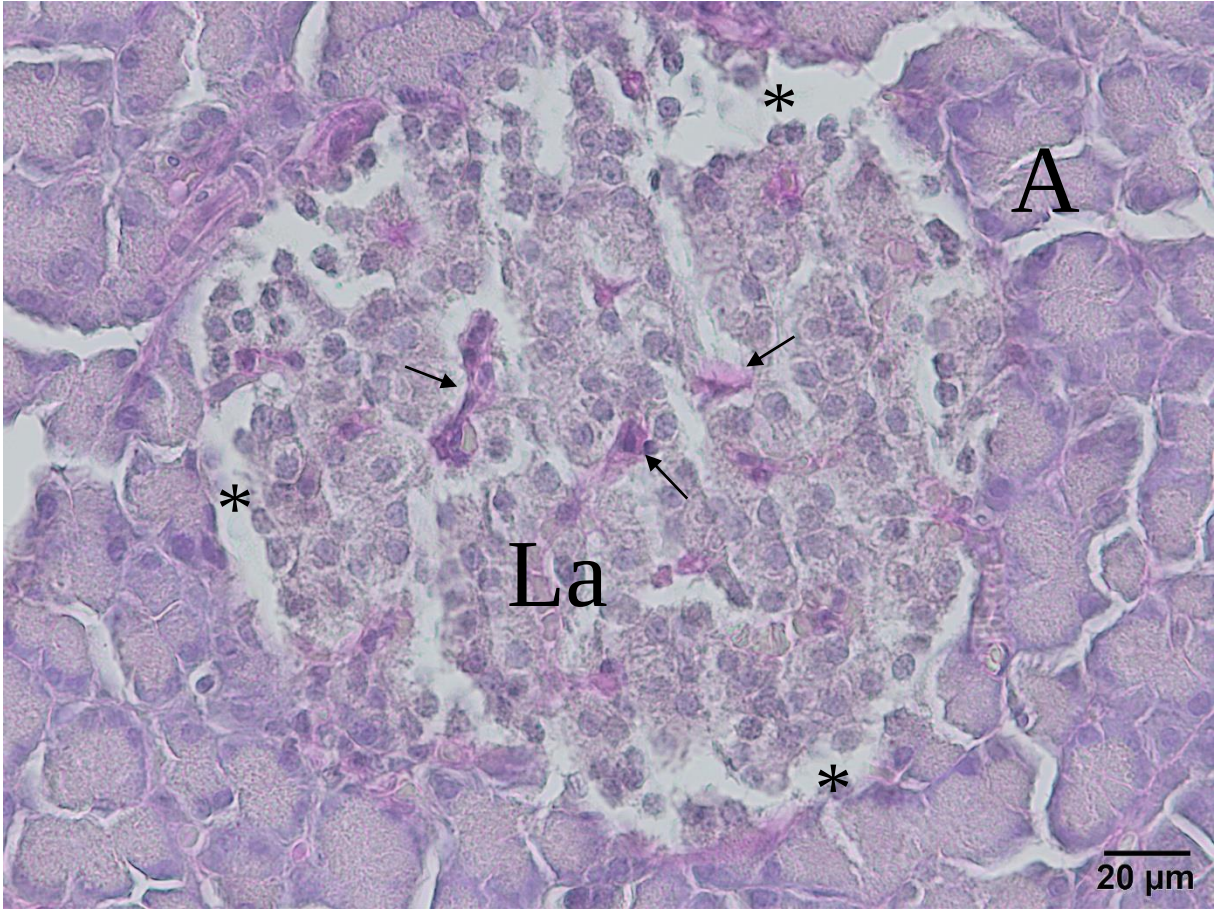


Resim 17. Gallik asit grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve kapilar damarlar (oklar) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm

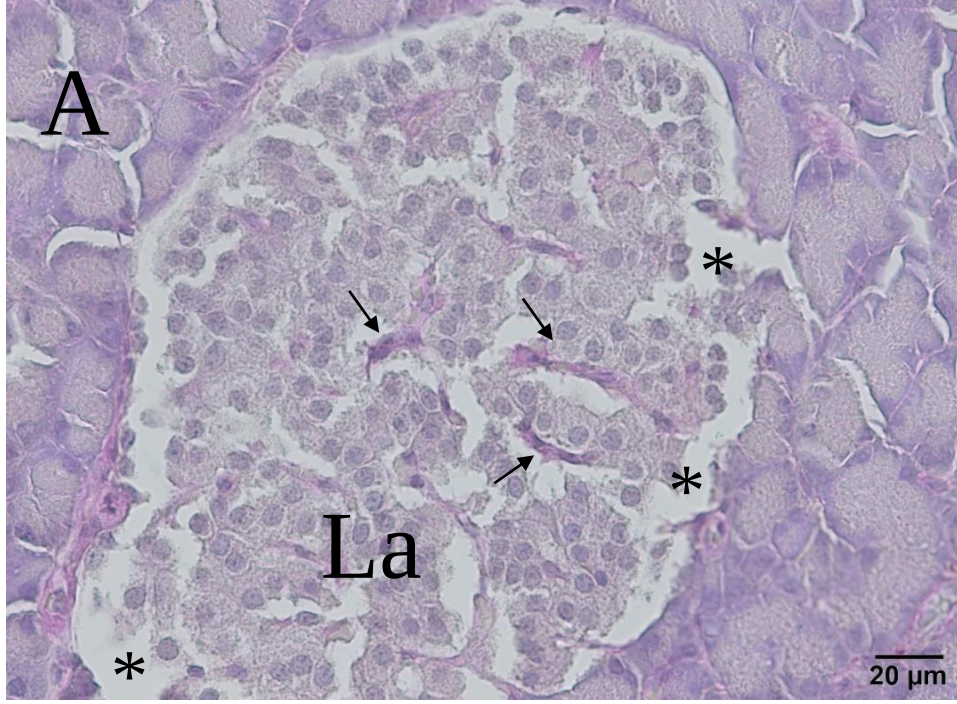


Resim 18. Gallik asit grubunda damar (D) görüntüleri. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm.

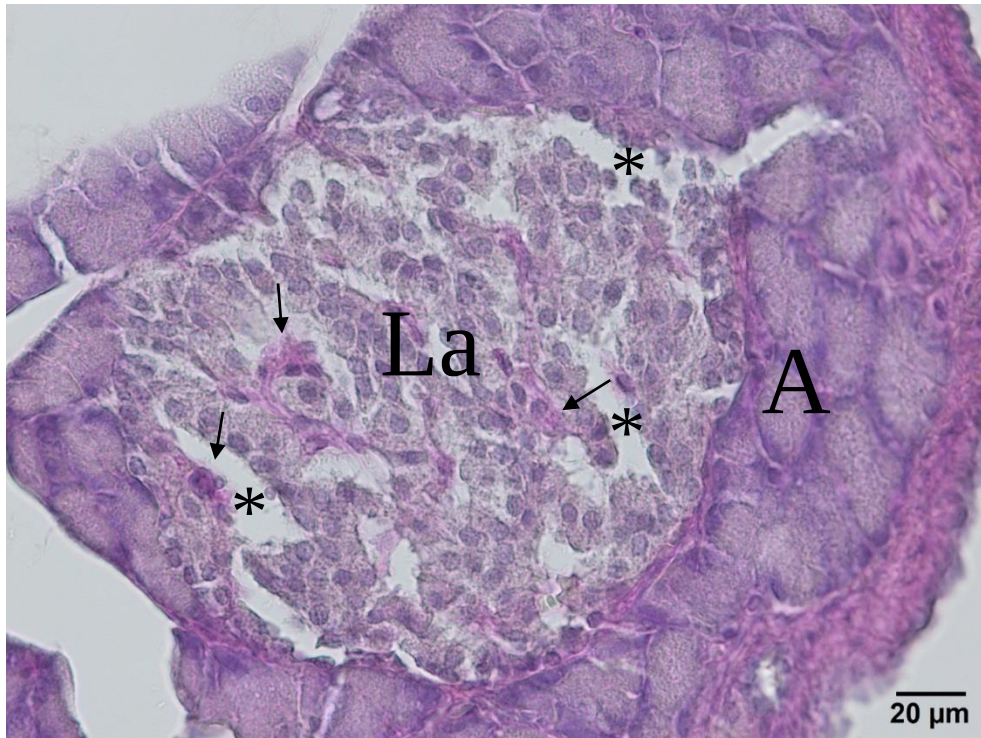
Beslenmeleri sırasında 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol, 2 ml/kg mısır yağı ile karıştırılarak verilen deney gruplarında Triple boyama metodunda tespit edildiği gibi ekzokrin pankreas dokusu ile Langerhans adacıkları (La) içerisinde ve çevresinde hücresel dejenerasyonun olduğu, dejenerasyonun özellikle Langerhans adacık çevresinde geniş ve birbiri ile kaynaşmış çatlaklar şeklinde olduğu, ekzokrin pankreas ve Langerhans adacıkları içerisinde yer alan arter, vena ve kapıların kalınlaşarak daha koyu boyandığı, asinar hücrelerin yerleştiği bazal laminanın da koyu şekilde belirgin olarak boyandığı görüldü (Resim 19-22).



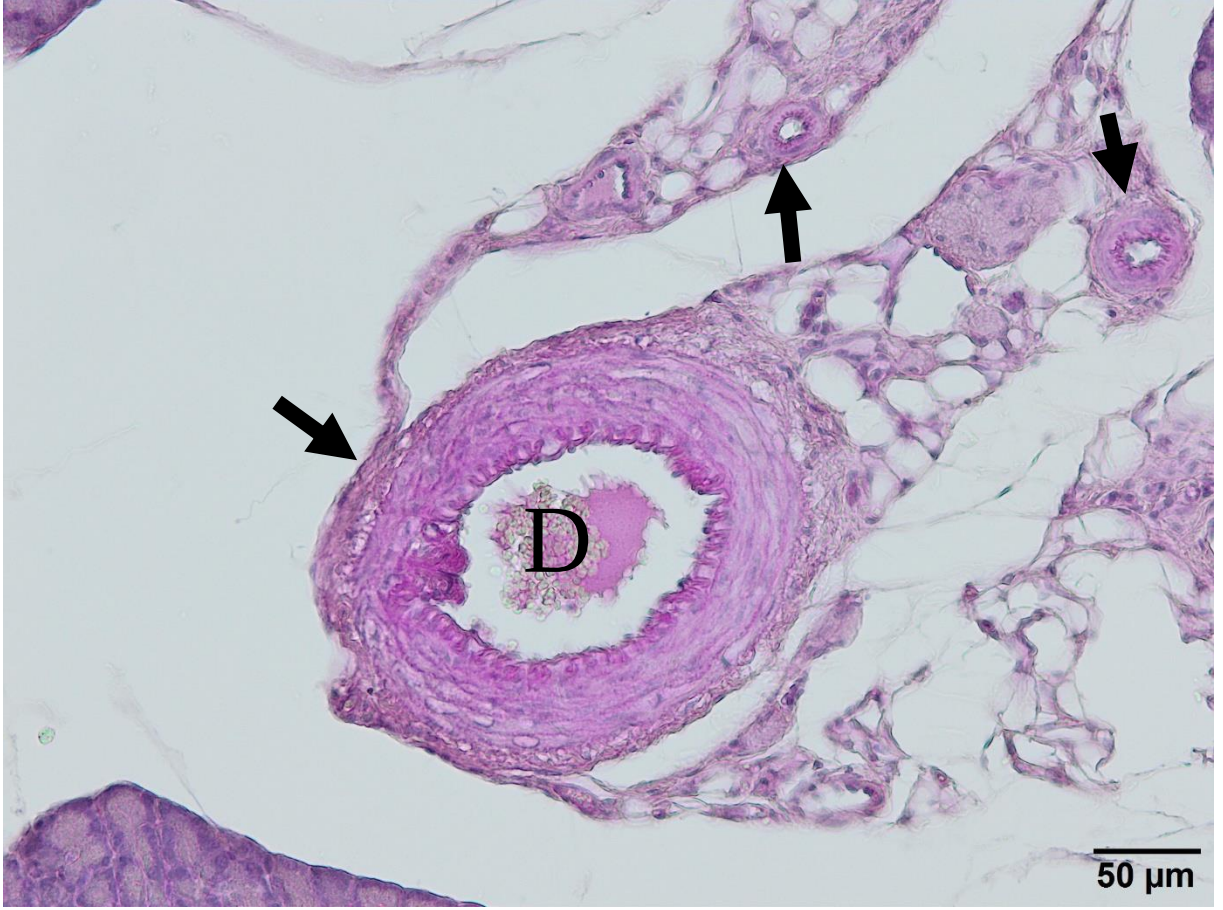
Resim 19. 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm.



Resim 20. 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm.

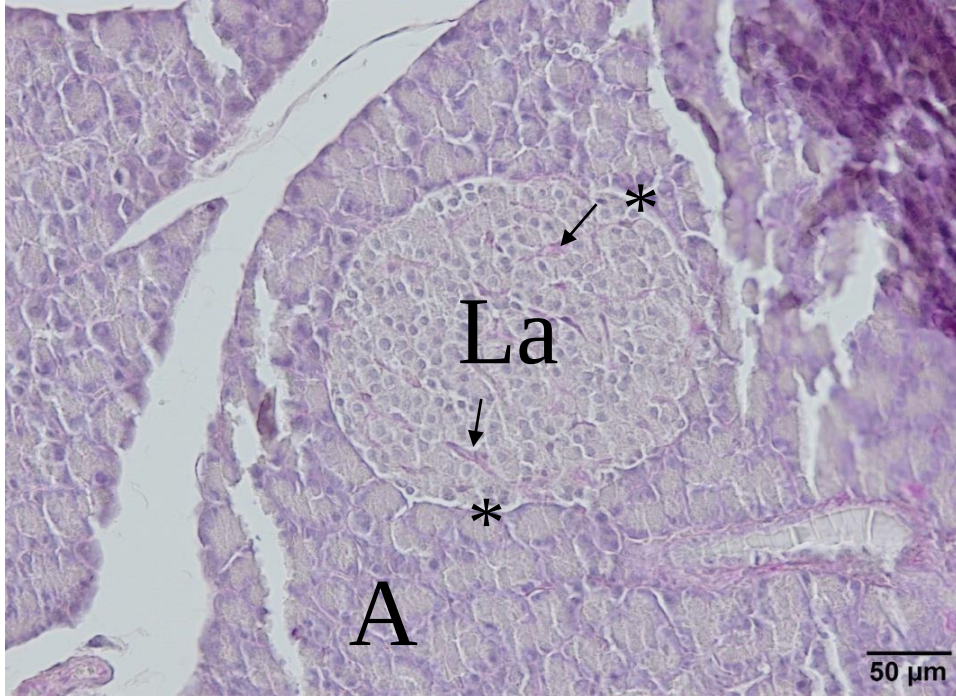


Resim 21. 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar:20µm

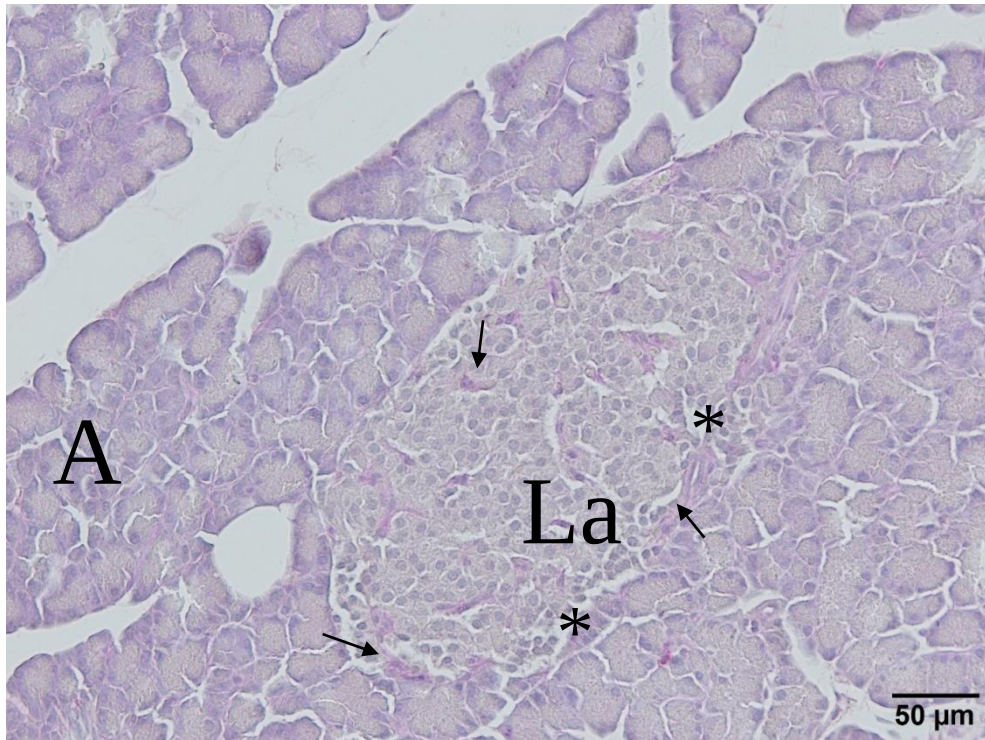


Resim 22. 4-NF grubunda kalınlaşmış damar duvarları (koyu oklar) görülmektedir. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm.

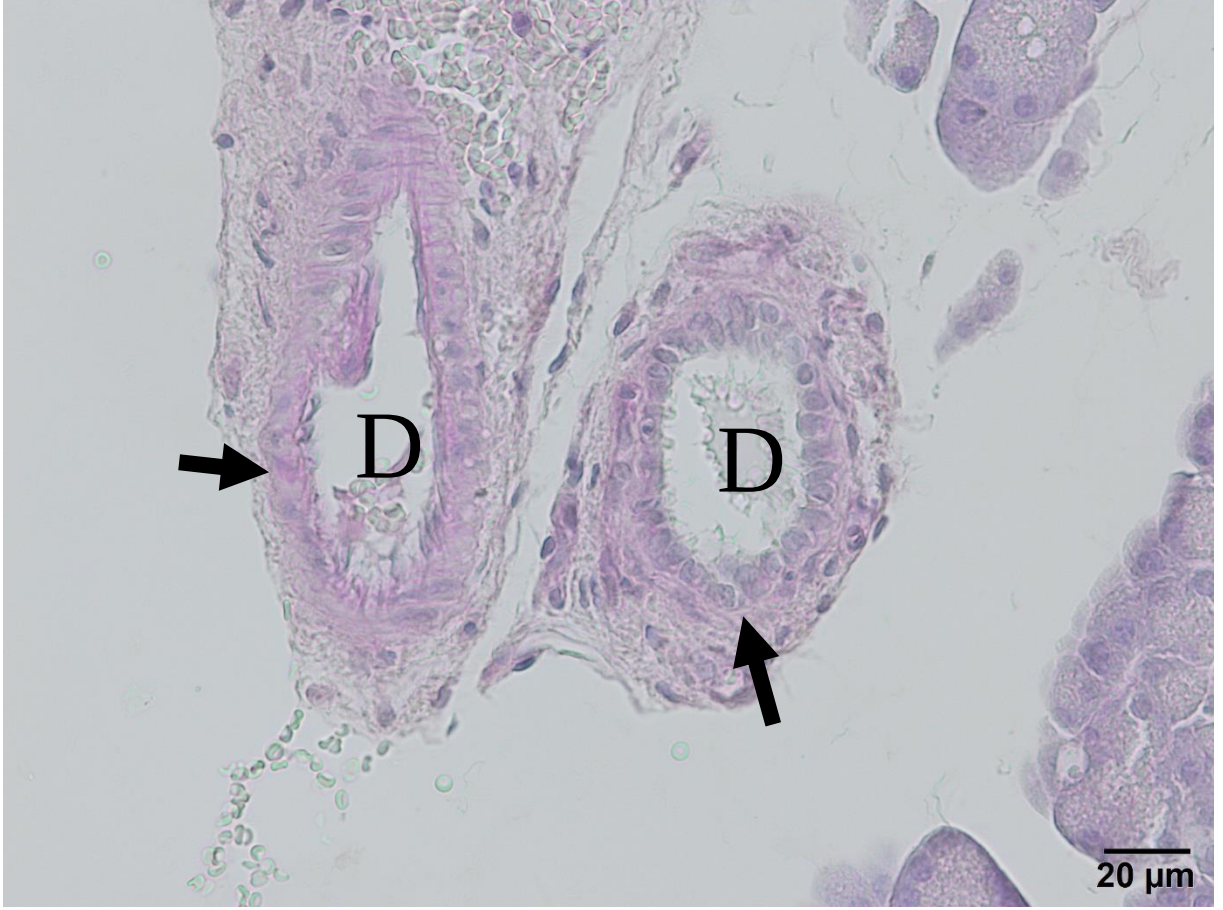
Beslenmeleri sırasında 10 mg/kg/gün dozda likopen ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta Langerhans adacıklarındaki ve ekzokrin pankreastaki çatlak şeklindeki hücresel dejenerasyonun her iki dokuda da azaldığı ancak endokrin pankreastaki hücresel dejenerasyonun ekzokrin pankreastaki dejenerasyona göre daha çok azaldığı, damar kalınlıklarında gözle görülür bir incelmeye olduğu görüldü (Resim 23-24). Ayrıca bu deney grubuna ait kesitlerde, 4-NF verilen gruptaki kesitlere oranla damar çaplarının daralarak kontrol grubu ile benzer özellik gösterdiği tespit edildi (Resim 25).



Resim 23. Likopen + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm.

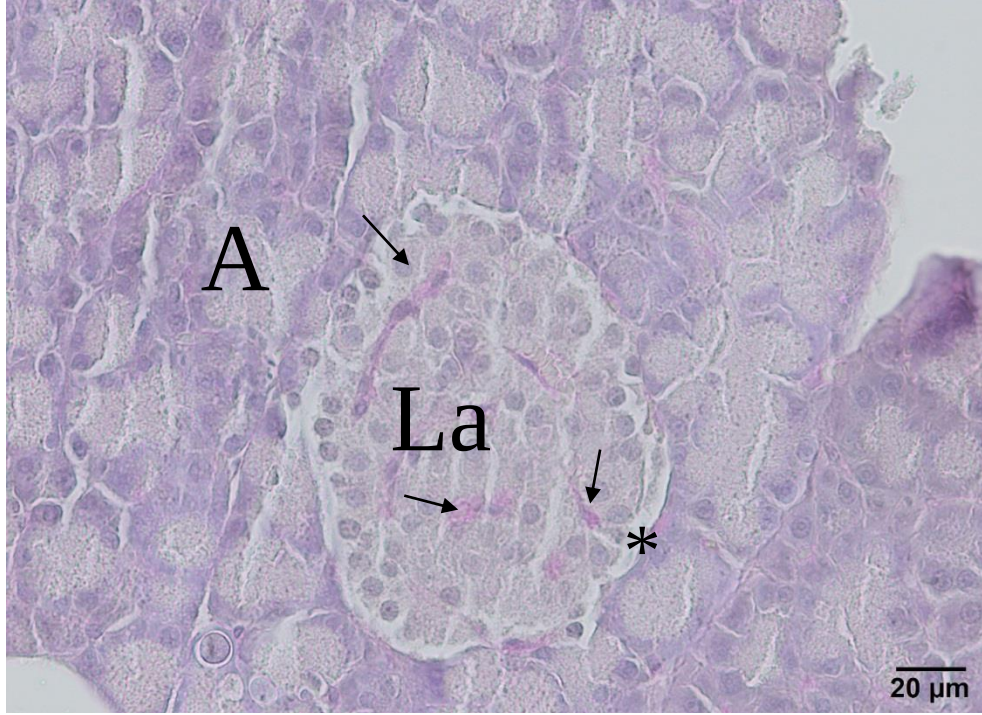


Resim 24. Likopen + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm.

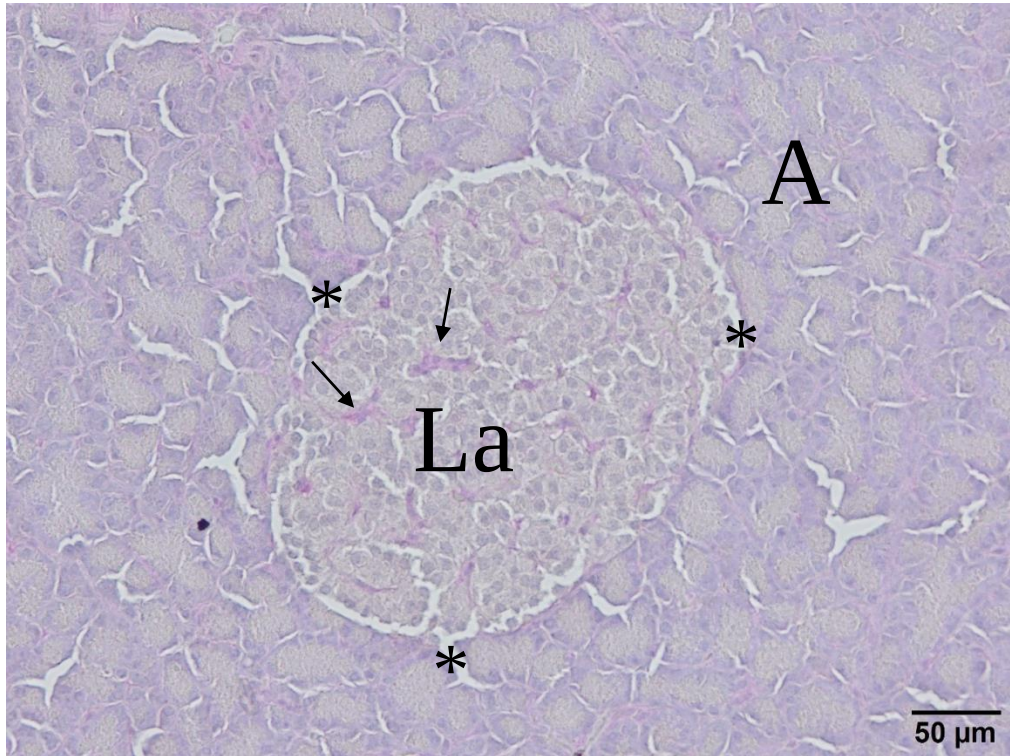


Resim 25. Likopen + 4-NF grubunda damarlar (D) ve damar duvarı (oklar) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm.

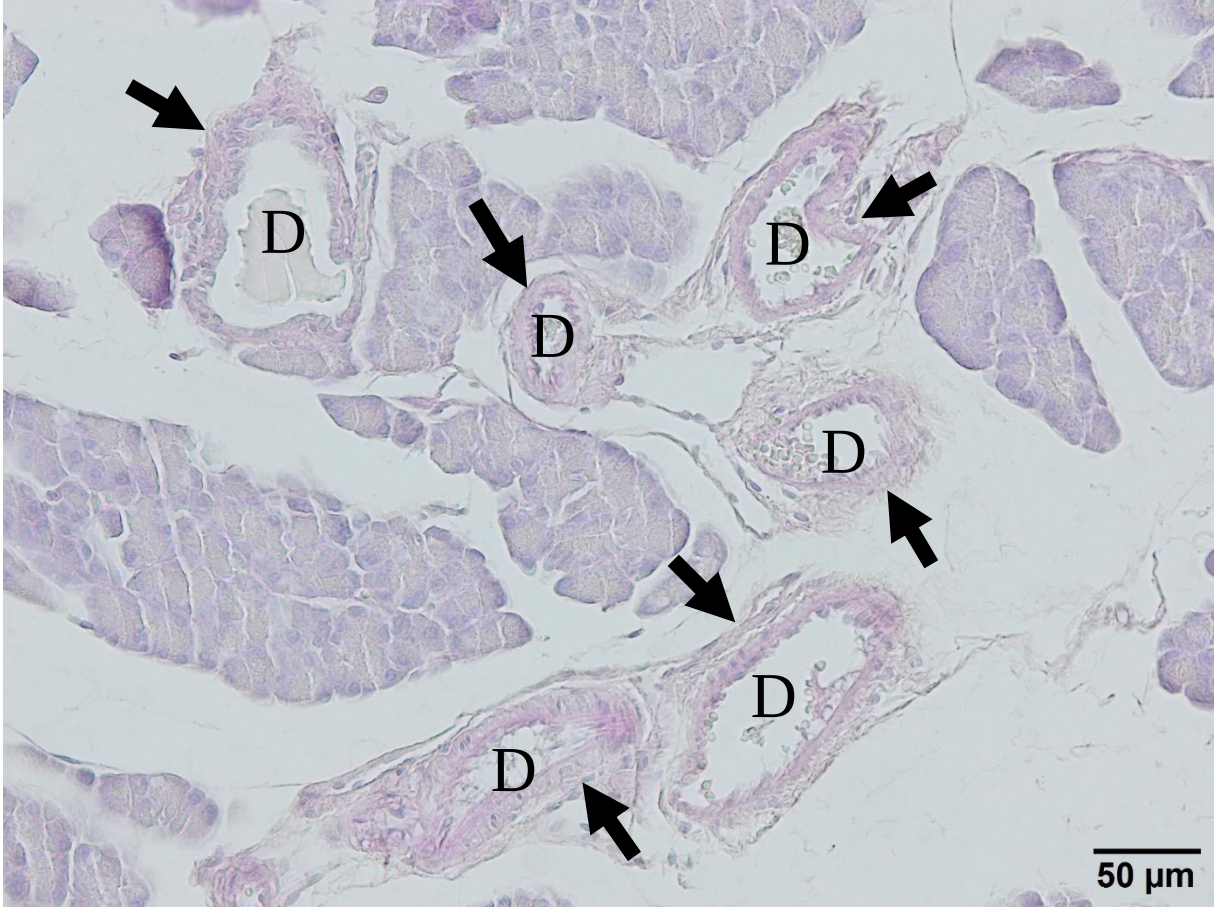
Beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda gallik asit ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta Langerhans adacıklarındaki ve ekzokrin pankreastaki çatlak şeklindeki hücresel dejenerasyonun likopen + 4NF grubundaki dejenerasyona göre daha çok azaldığı, yine damar duvarı kalınlıklarının ve PAS pozitifliğinin kontrol grubuna yakın derecede normal olduğu görüldü (Resim 26-28).



Resim 26. Gallik asit + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 20µm.



Resim 27. Gallik asit + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La), kapilar damarlar (oklar) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm.



Resim 28. Gallik asit + 4-NF grubunda damarlar (D) ve damar duvarları (oklar) görüntüsü. PAS Boyama Metodu. Bar: 50µm.

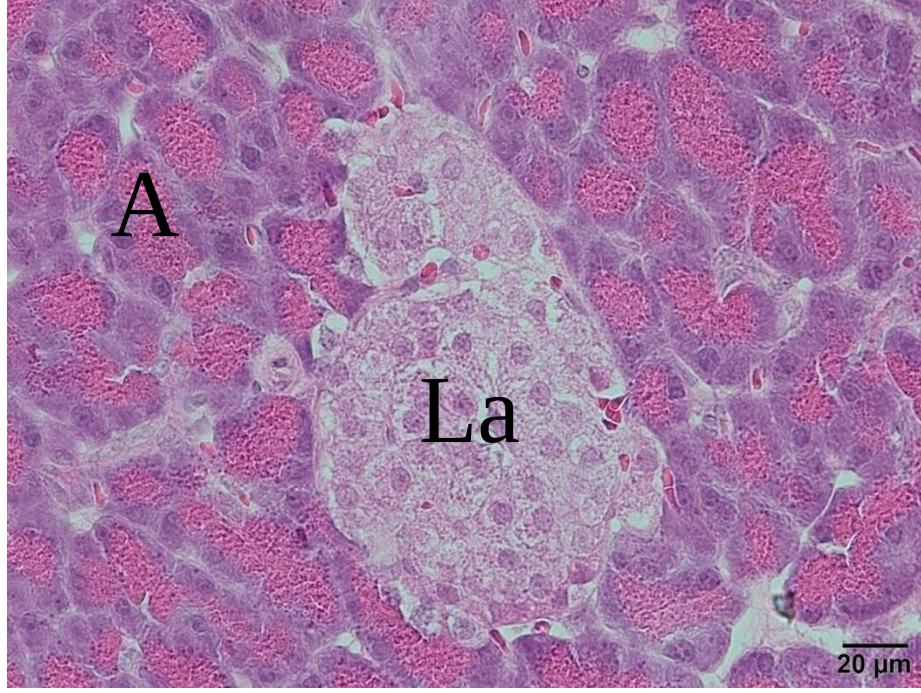
4.1.3. Hematoksilen-Eozin (HE) Boyama Metodu

Deneyde kullanılan rat pankreaslarının genel histolojik görünümünün tespiti için, Hematoksilen – Eozin boyama metodu uygulandı ve kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Altı farklı deney grubunda yer alan ratlara ait kesitler pankreas Langerhans adacıklarının genel görünümü, Langerhans adacık dejenerasyonunun boyutu ve asinar hücrelerinin yapısı açısından değerlendirildi.

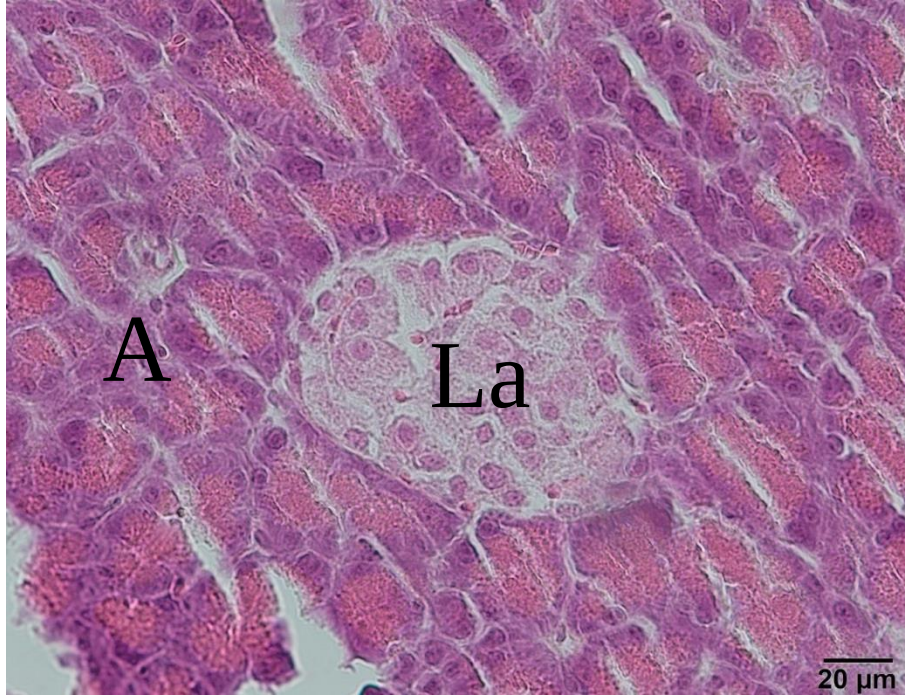


Resim 29. Kontrol grubunda Langerhans adacığı (La) ve asinar hücreleri (A) görüntüsü. Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 20µm.

Kontrol grubuna ait kesitlerde Langerhans adacıklarının düzgün olduğu, herhangi bir dejenerasyona rastlanmadığı ve asinar hücrelerin düzenli olarak yer aldığı tespit edildi (Resim 29). Beslenmeleri sırasında mısır yağına sadece likopen eklenen (Resim 30) veya diyetine sadece gallik asit (Resim 31) eklenen deney gruplarında da kontrol grubuna benzer durumların olduğu gözlemlendi.

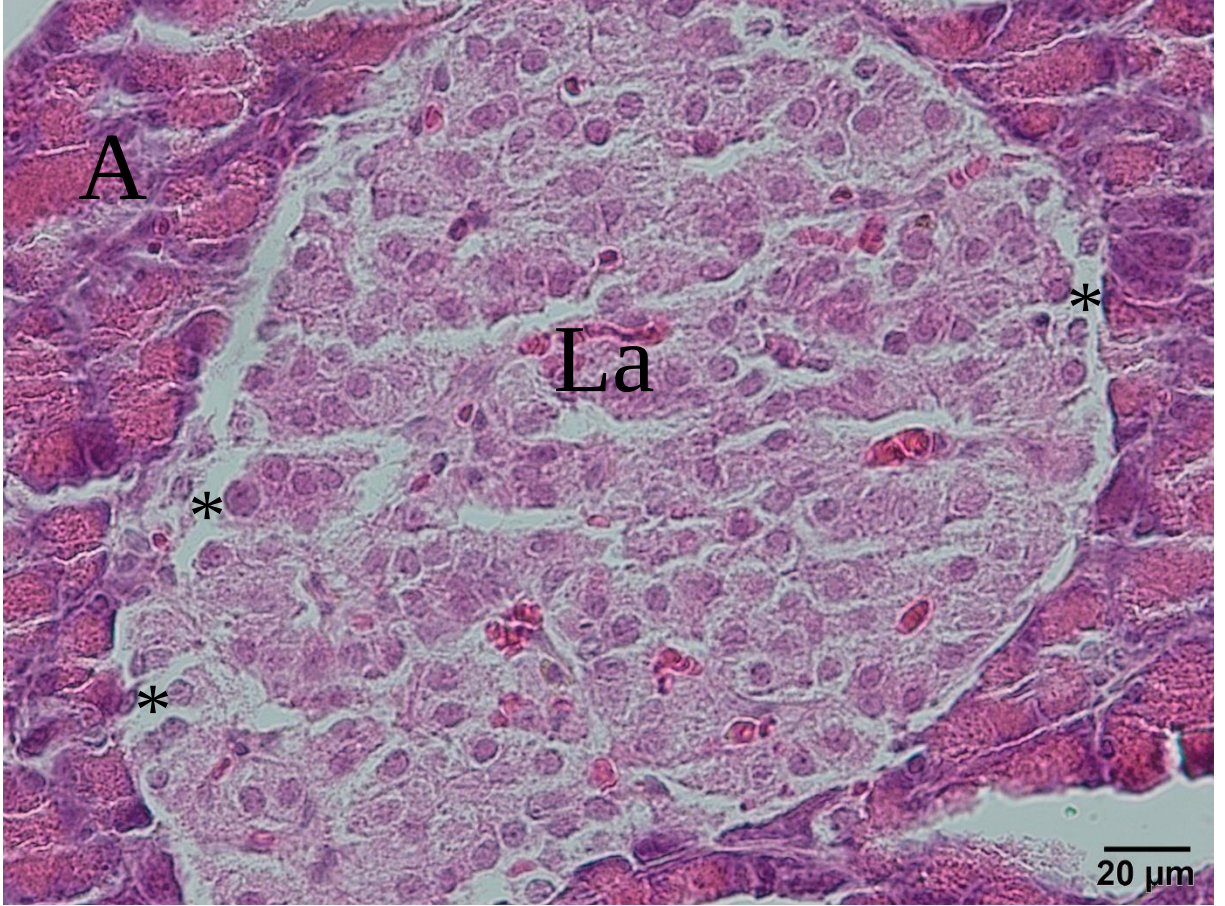


Resim 30. Likopen grubunda Langerhans adacığı (La) ve asinar hücreleri (A) görüntüsü.
Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 20µm.



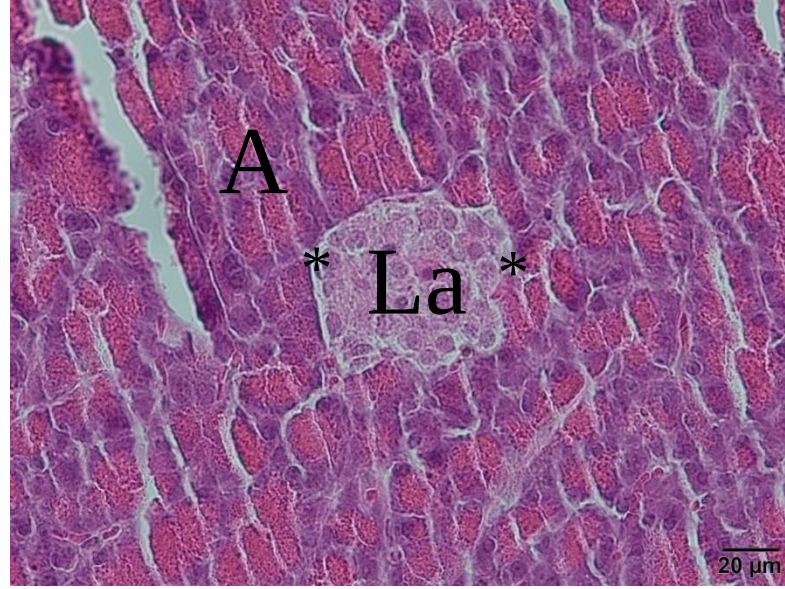
Resim 31. Gallik asit grubunda Langerhans adacığı (La) ve asinar hücreleri (A) görüntüsü.
Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 20µm.

Beslenmeleri sırasında mısır yağına 125 mg/kg/gün dozda 4-NF eklenen deney grubunda ekzokrin pankreas dokusu ile Langerhans adacıkları (La) içerisinde ve çevresinde hücresel dejenerasyonun olduğu, hücresel dejenerasyonun özellikle Langerhans adacık çevresinde geniş çatlaklar şeklinde olduğu dikkat çekti (Resim 32).

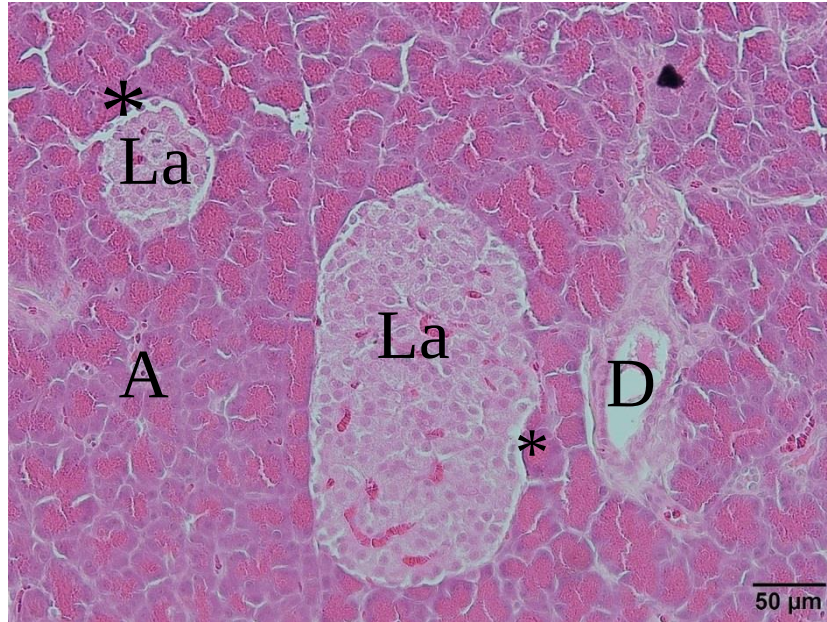


Resim 32. 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 20µm.

Beslenmeleri sırasında 10 mg/kg/gün dozda likopen ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta Langerhans adacıklarındaki çatlaklar şeklindeki hücresel dejenerasyonun ekzokrin pankreastaki dejenerasyona göre daha çok azaldığı görülmüştür (Resim 33-34).

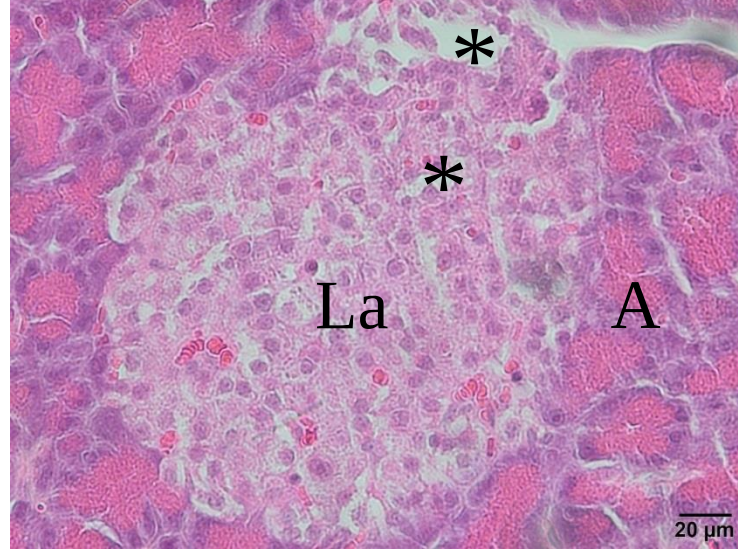


Resim 33. Likopen + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 20µm.

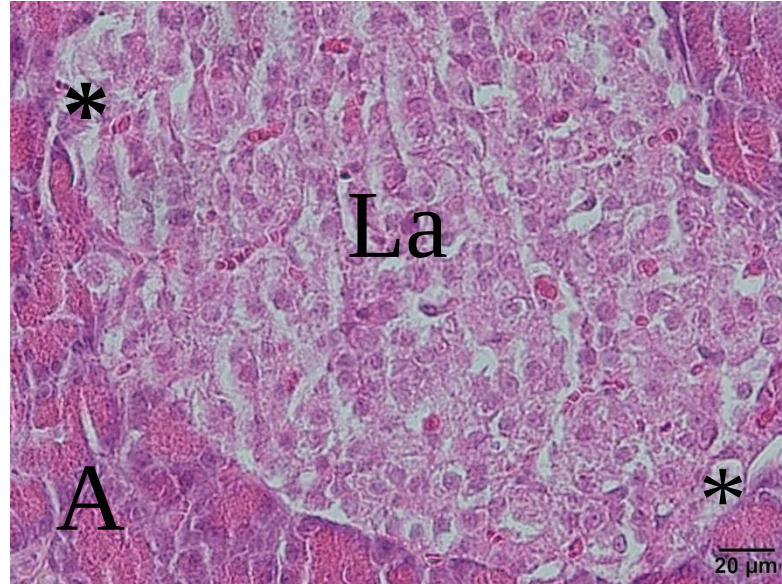


Resim 34. Likopen + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacıkları (La), damar (D) ve hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 50µm.

Beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda gallik asit ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta Langerhans adacıklarındaki ve ekzokrin pankreastaki çatlak şeklindeki hücresel dejenerasyonun likopen + 4NF grubundaki dejenerasyona göre daha çok azaldığı, kontrol grubuna yakın bir görüntü olduğu görülmüştür (Resim 35-36).



Resim 35. Gallik asit + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 20µm.



Resim 36. Gallik asit + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) hücresel dejenerasyon oluşumu (*) görüntüsü. Hematoksilen – Eozin Boyama Metodu. Bar: 20µm.

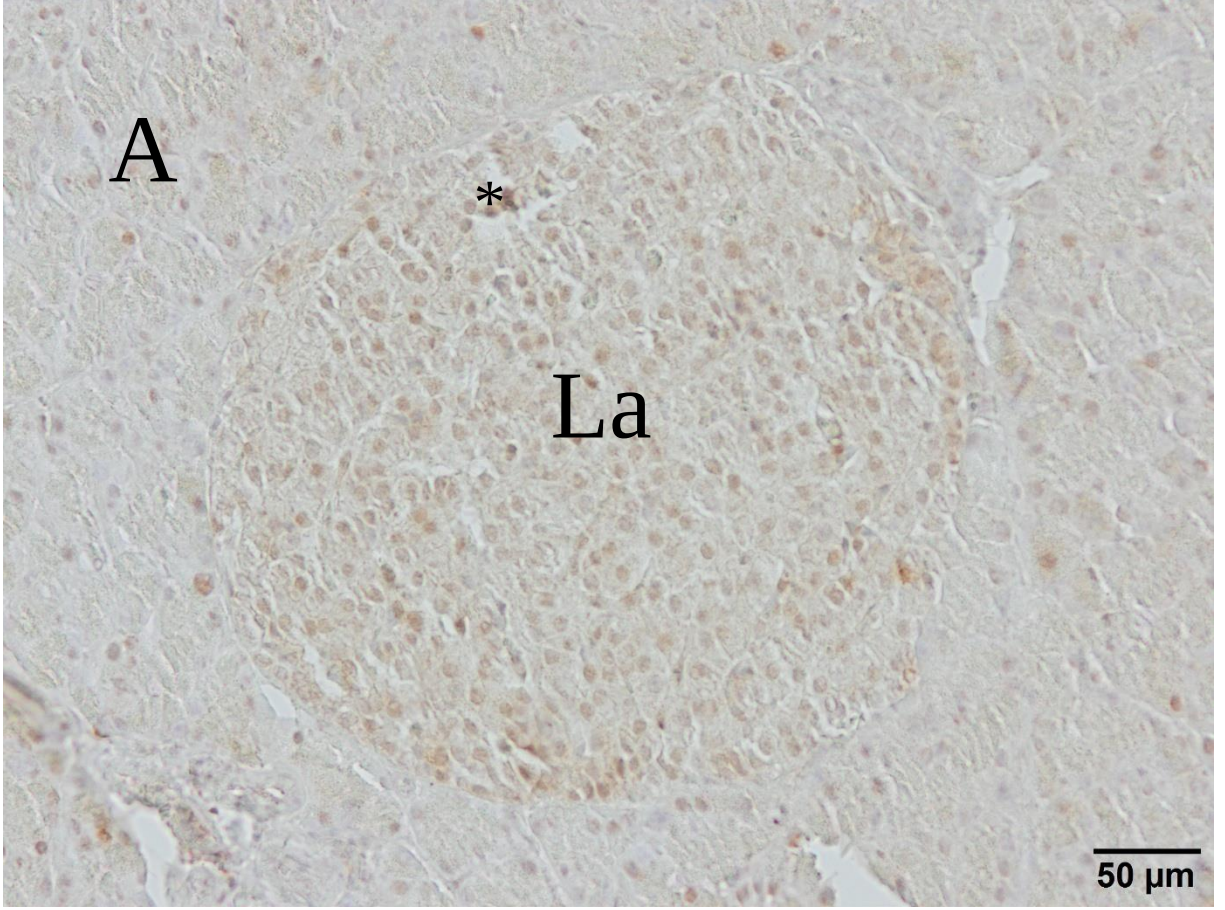
4.2. İmmunohistokimyasal Bulgular

Deney gruplarından elde edilen 5-6 µm kalınlığında, 100 µm aralıklı seri kesitlerde pankreasın Langerhans adacıklarındaki apoptozis durumunun tespiti ve dejenerasyon büyüklüğünün anlaşılması amacıyla Streptavidin-biotin peroksidaz boyama metodu kullanılarak, insulin ve caspase-3 primer antikolarıyla boyama yapıldı. Böylece 4-NF'nin Langerhans adacıklarına zarar verip vermediği, verdi ise dejenerasyonun boyutunun ne olduğu, bunun yanında 4-NF'nin zararlı etkilerine karşı likopen ve gallik asitin koruyucu veya iyileştirici etkisinin olup olmadığı net bir şekilde tespit edilmiş oldu. Boyanan kesitler BX51 (Olympus) araştırma mikroskobu ve DP70 kamera/görüntü analiz sistemi altında incelendi.

Streptavidin-peroksidaz boyama yöntemi kullanılarak primer antikolar ile boyanan kesitlerde immünohistokimyasal olarak yapılan genel incelemede; Langerhans adacıklarının çevresindeki asinar hücrelere göre daha koyu şekilde boyandığı, 4-NF verilen gruplarda Langerhans adacıkları içerisinde belirgin olarak apoptozun gerçekleştiği, kontrol grubu, likopen grubu, gallik asit grubu, likopen + 4-NF grubu ve gallik asit + 4-NF gruplarındaki kesitlerde Langerhans adacıkları içerisinde hafif ve birbirine benzer oranlarda apoptoza uğramış hücrelerin olduğu tespit edildi.

4.2.1. Streptavidin-peroksidaz Boyama Metodu – Caspase-3

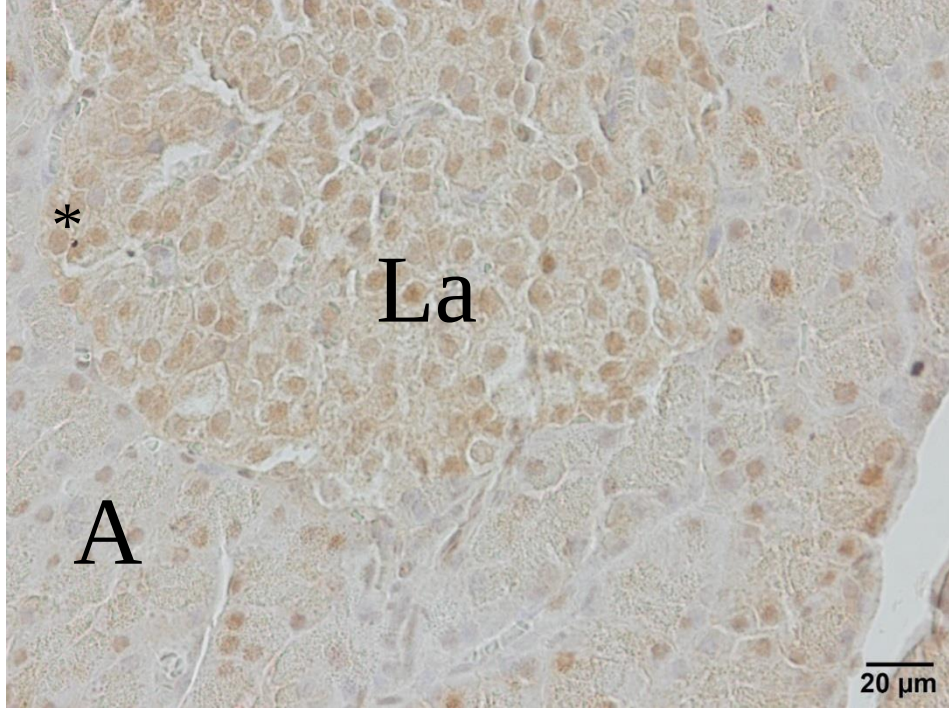
Deneyde kullanılan rat pankreaslarındaki Langerhans adacıklarındaki apoptozun durumunu belirlemek amacıyla streptavidin-peroksidaz metodu ile caspase-3 antikoru kullanılarak boyama yapıldı. Boyanan kesitler ışık mikroskobunda incelendi. Langerhans adacıkları ekzokrin pankreasa göre daha koyu renkli görüldü. Kontrol grubunda (Resim 37) ve farklı deney gruplarında yer alan ratlara ait pankreas Langerhans adacıklarının genel görünümü ve Langerhans adacıklarında meydana gelen apoptozun boyutu subjektif olarak değerlendirildi.



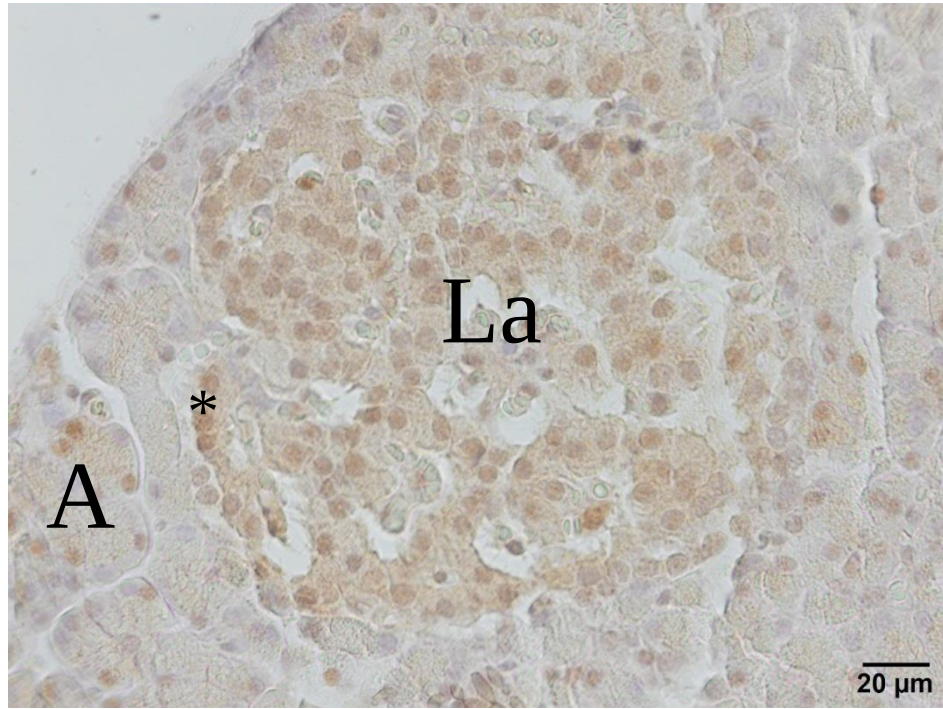
Resim 37. Kontrol grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 50µm.

Kontrol grubuna ait kesitlerde yapılan incelemede bundan önceki boyama metodlarında elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu bulgular tespit edildi. Langerhans adacıklarının ekzokrin pankreasa göre biraz daha koyu boyandığı ancak belirgin yoğunlukta apoptoza uğramış hücrelerin bulunmadığı, sadece kenarda bazı hücre gruplarının apoptoza uğramış olabileceği değerlendirildi.

Beslenmeleri sırasında 10 mg/kg/gün dozda likopen, 2 ml/kg mısır yağı ile karıştırılarak verilen grupta (Resim 38) ve beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda gallik asit, 2 ml/kg %0,9'luk serum fizyolojik ile karıştırılarak verilen deney grubunda (Resim 39), ekzokrin pankreaslarının kontrol grubu ile benzer yapıda olduğu görüldü. Endokrin pankreası oluşturan Langerhans adacıklarındaki hücrelerin de ekzokrin pankreasa yakın koyulukta ve homojen olarak boyandığı, yine kontrol grubu ile benzer özellik gösterdiği tespit edildi.

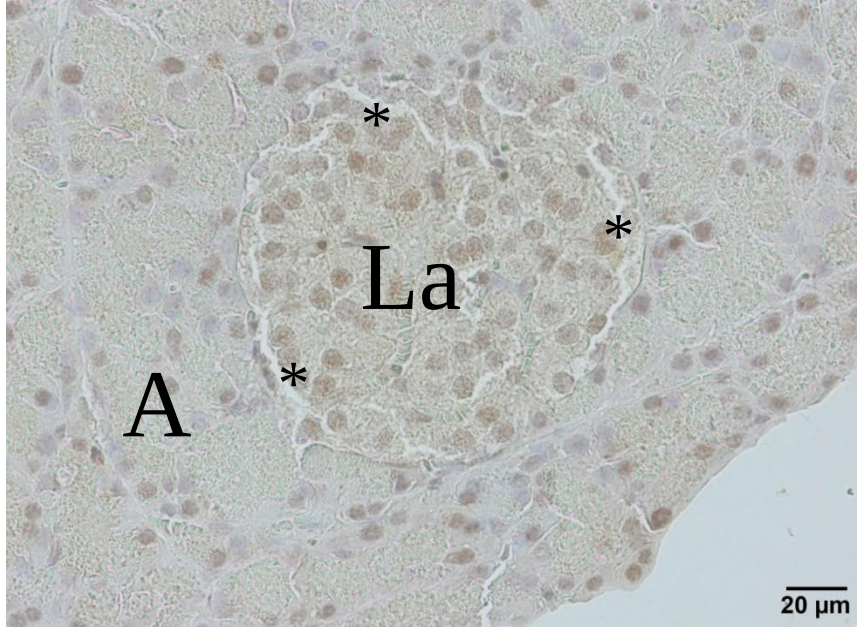


Resim 38. Likopen grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20μm.

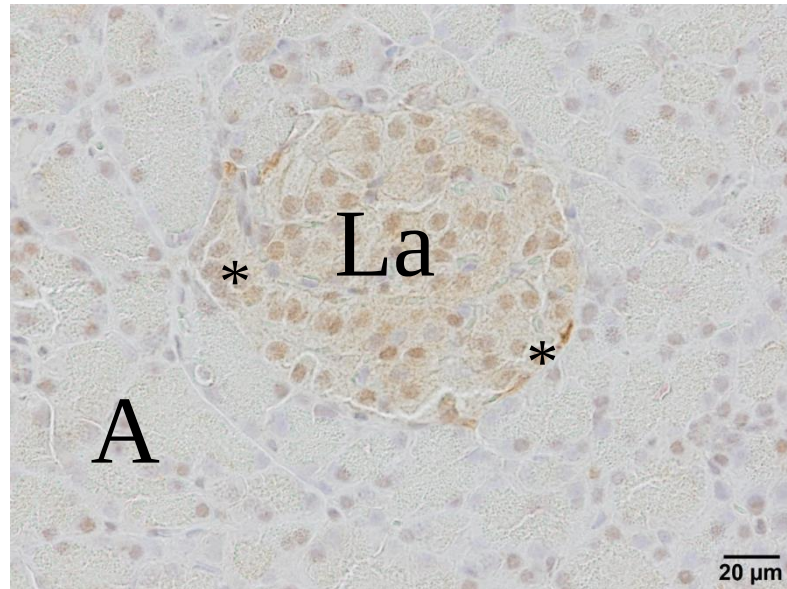


Resim 39. Gallik asit grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20μm.

Beslenmeleri sırasında 4-nonilfenol 125 mg/kg/gün dozda, 2 ml/kg mısır yağı ile karıştırılarak verilen deney grubunda endokrin pankreası oluşturan Langerhans adacıklarının ekzokrin pankreası oluşturan asinar hücrelerine göre daha koyu şekilde boyandığı ve Langerhans adacıkları içerisinde de apoptozun gerçekleştiği hücrelerin, diğer adacık hücrelerine göre daha koyu ve belirgin bir şekilde kahverengiye boyandığı görüldü (Resim 40-41).

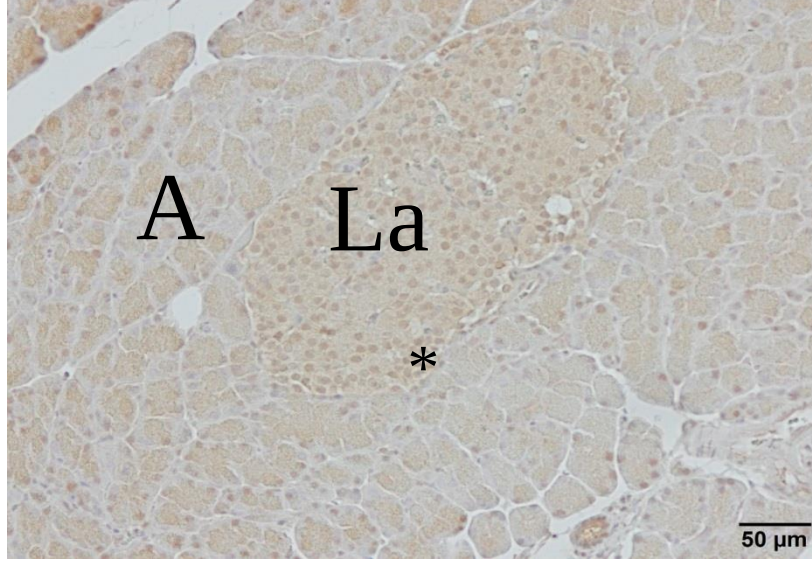


Resim 40. 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.

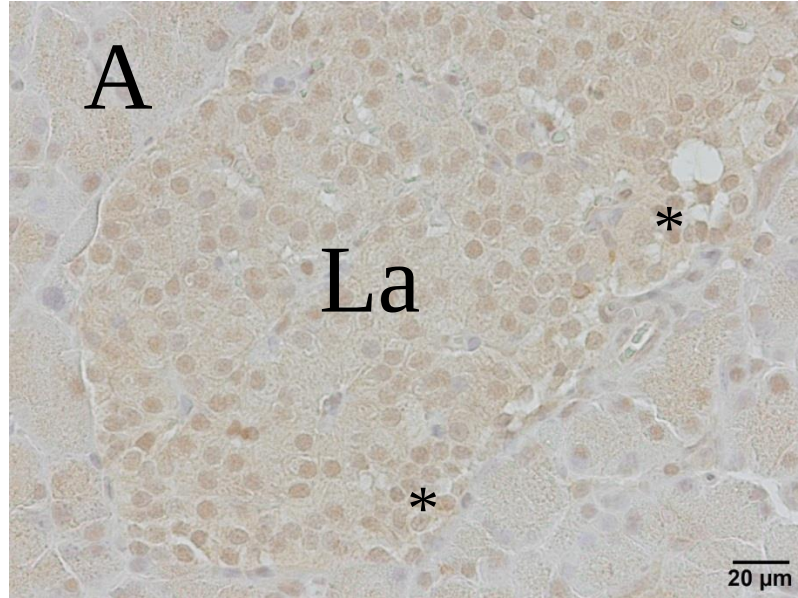


Resim 41. 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.

Beslenmeleri sırasında 10 mg/kg/gün dozda likopen ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta Langerhans adacıklarındaki hücresel dejenerasyonun azaldığı, adacığın genel olarak homojen boyandığı ve apoptotik hücre gruplarının azaldığı ancak özellikle adacık kenarlarında apoptoza uğramış hücre gruplarının halen bulunduğu görüldü. (Resim 42-43).

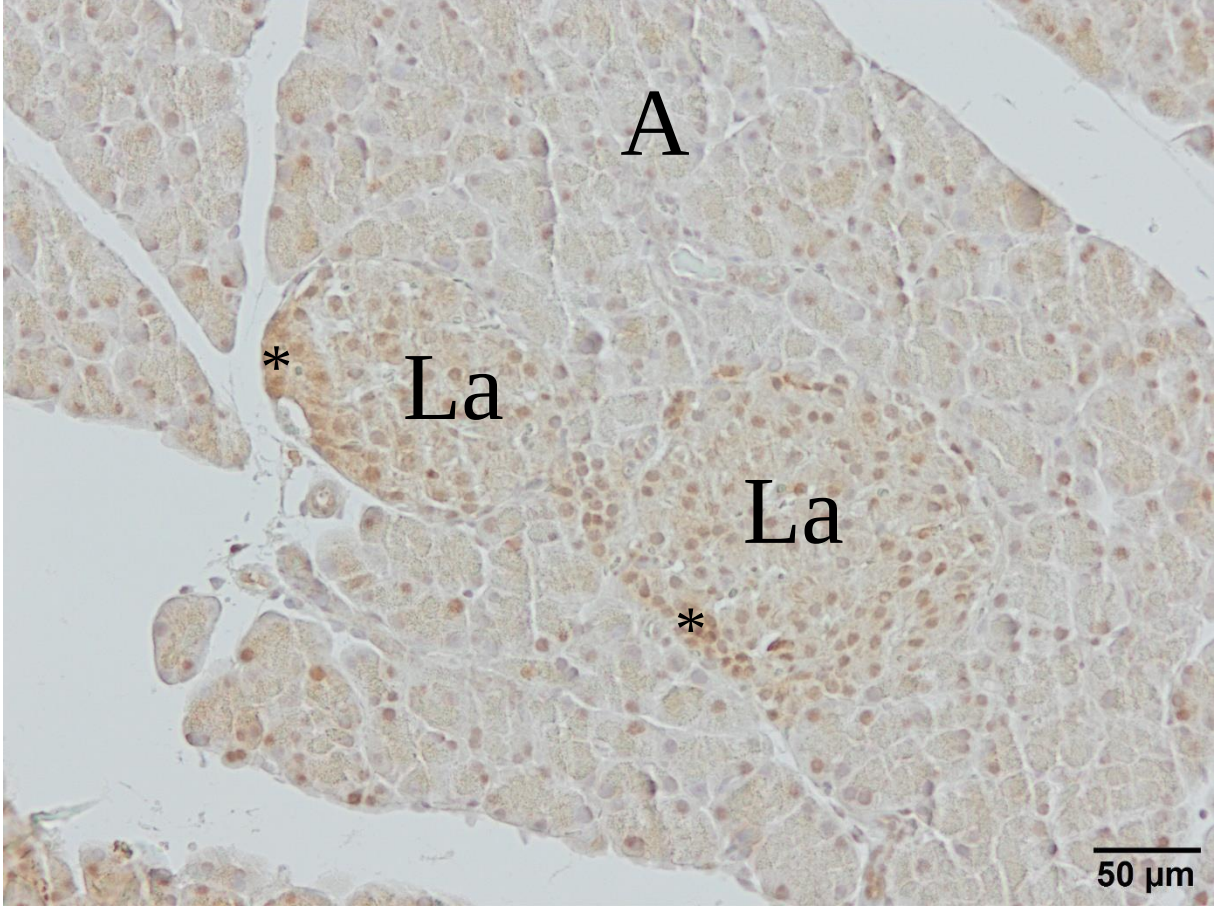


Resim 42. Likopen + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 50µm.

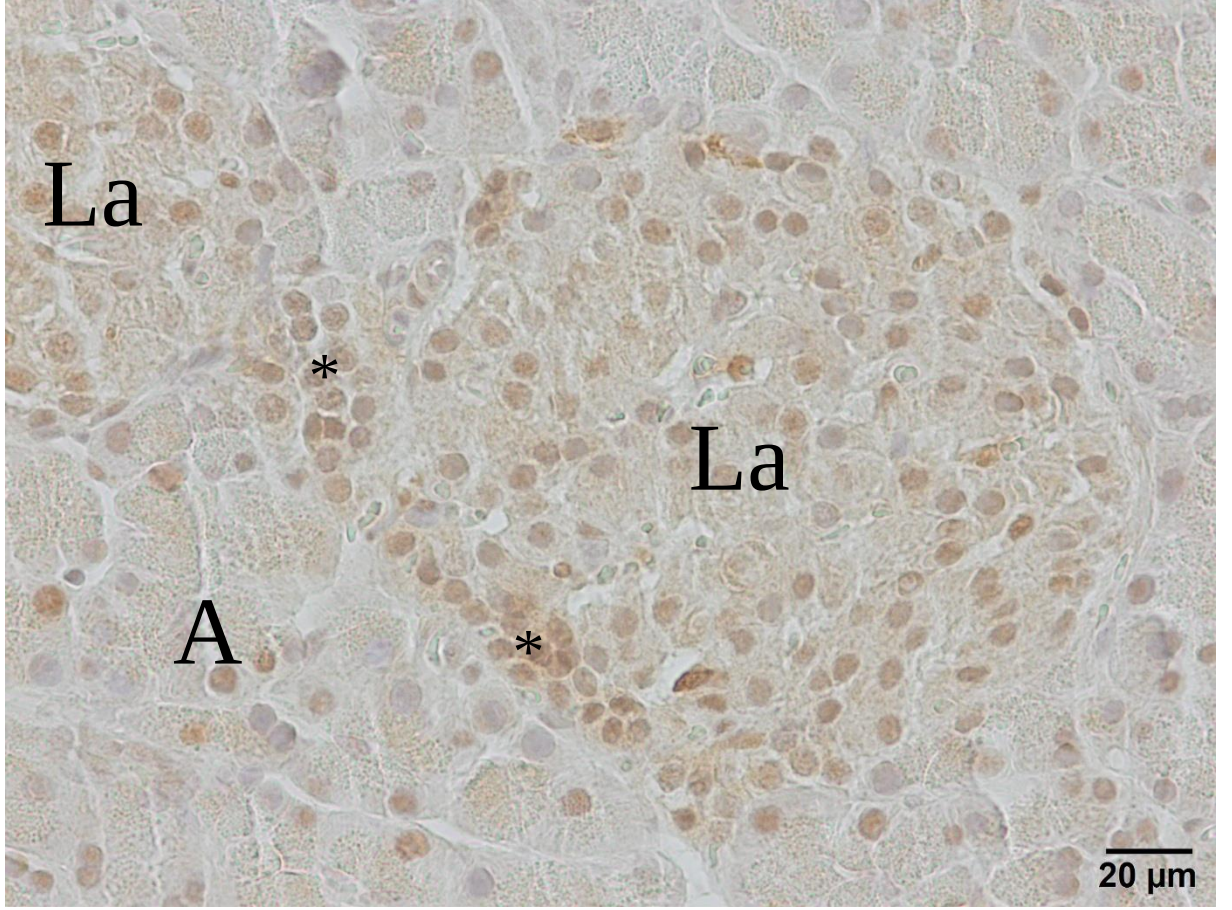


Resim 43. Likopen + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacığı (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.

Beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda gallik asit ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta, likopen ve 4-NF uygulanan gruptaki kesitlerle benzer özellik gösterdiği, Langerhans adacıklarındaki hücresel dejenerasyonun azaldığı, adacık hücrelerinin homojen boyandığı ve apoptotik hücre gruplarının azaldığı ancak özellikle adacık kenarlarında apoptoza uğramış hücre gruplarının halen bulunduğu görüldü (Resim 44-45).



Resim 44. Gallik asit + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacıkları (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 50µm.



Resim 45. Gallik asit + 4-NF grubunda pankreas asinar hücreleri (A), Langerhans adacıkları (La) ve caspase-3 pozitif hücre grupları (*) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.

Deney hayvanlarından elde edilen kesitler caspase-3 antikoruna kullanılarak Streptavidin – peroksidaz boyama metodu uygulanarak boyandıktan sonra Langerhans adacıklarının oluşturduğu endokrin pankreas dokusunda meydana gelen apoptozisin büyüklüğü semi kantitatif olarak da skorlandı. Langerhans adacıklarında meydana gelen apoptozis 0 ile 3 arasında değerlendirildi. Skorlamada; 0= apoptozis yok, 1= hafif, 2= orta ve 3= yoğun düzeyde apoptozis var olarak kabul edildi (Çil ve Kabukçu, 2021). Elde edilen skorlama değerleri Kruskal-Wallis testi ile analiz edilerek aşağıdaki tablo oluşturuldu (Tablo 4).

Tablo 4. Kontrol ve deney gruplarında pankreasın Langerhans adacıklarında caspase-3 immünoaktivitesinin yoğunluk değerleri

Grup	n	Caspase-3 İmmünoaktivitesi ($\bar{x} \pm Sx$)
Kontrol	6	0.80 $\pm$ 0.08 ^c
Likopen	6	0.82 $\pm$ 0.08 ^c
Gallik Asit	6	0.78 $\pm$ 0.08 ^c
4-NF	6	2.67 $\pm$ 0.06 ^a
L+4-NF	6	1.90 $\pm$ 0.08 ^b
GA+4-NF	6	1.73 $\pm$ 0.07 ^b
P		***

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan veriler arasındaki fark istatistiksel açıdan önemlidir.

4-NF: 4- Nonilfenol, L: Likopen, GA: Gallik asit

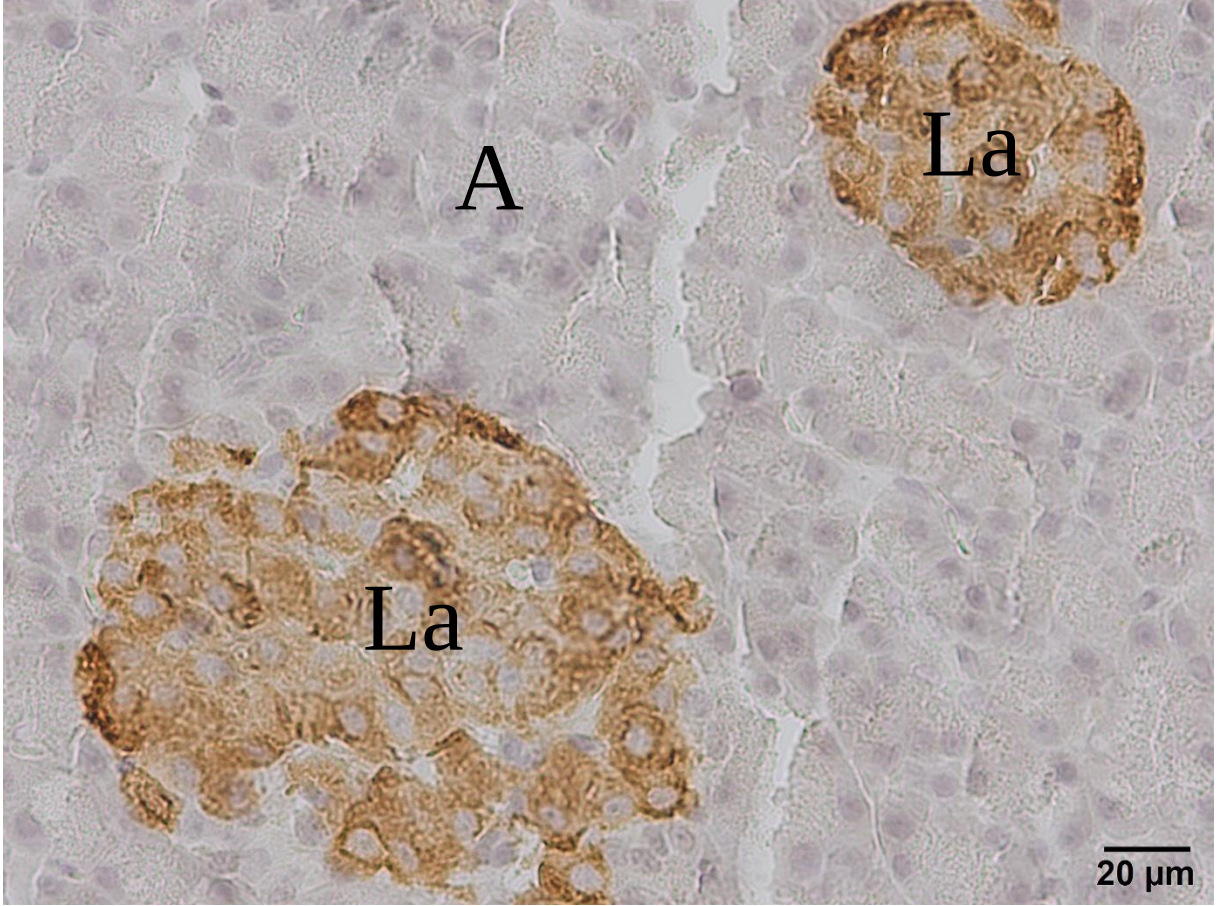
***: $P < 0.001$, n: rat sayısı, $\bar{x}$: ortalama, $S\bar{x}$: standart hata.

Yukarıdaki semi-kantitatif skorlar tablosu incelendiğinde; kontrol, likopen ve gallik asit gruplarındaki ratların hem endokrin pankreas dokularını oluşturan Langerhans adacıklarının hem de ekzokrin pankreas dokularını oluşturan asinar hücrelerinin normal görünümüne sahip olduğu, 4-NF grubundaki ratların endokrin pankreasını oluşturan Langerhans adacıklarında çok belirgin şekilde apoptoz olduğu, ekzokrin pankreasa göre oldukça koyu boyandığı ve bunun tablodaki skorlara yansıdığı, likopen+4-Nonilfenol ve gallik asit+4 nonilfenol gruplarındaki ratların Langerhans adacıklarında yer yer apoptozun olduğu ancak 4-NF grubuna göre bu apoptozun oldukça sınırlı olduğu tespit edildi.

4.2.2. Streptavidin-peroksidaz Boyama Metodu – İnsülin

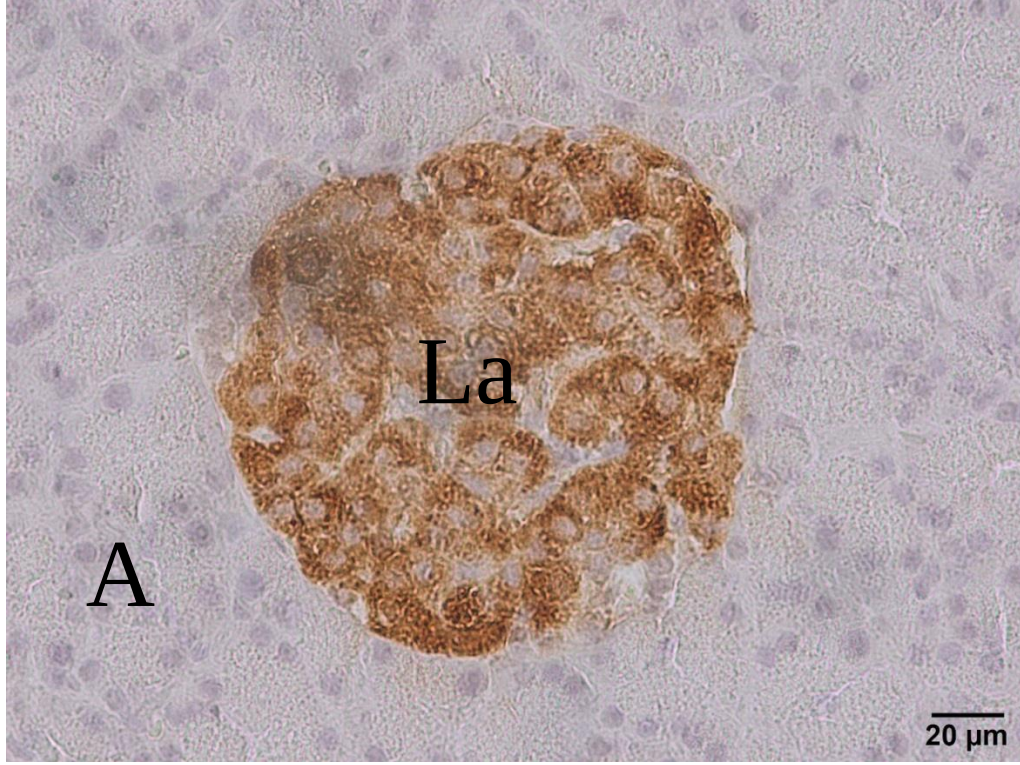
Deneyde kullanılan rat pankreaslarındaki Langerhans adacıklarındaki değişimin durumunu belirlemek amacıyla streptavidin-peroksidaz metodu ile insulin antikoru kullanılarak boyama yapıldı. Boyanan kesitler ışık mikroskopunda incelendi. Langerhans adacıklarının sayısı, adacık çapı ve adacık alanı hesaplandı. Langerhans adacık sayısı 10x büyütme ile on farklı mikroskobik görüntüleme alanında sayıldı. Kesitlerde sayılan tüm

Langerhans adacıklarının çapı ve adacık alanı 20x büyütmede ölçülerek hesaplandı. Tüm bu ölçüm ve sayım işlemleri DP70 kamera görüntü analiz sistemiyle entegre edilmiş Olympus BX51 ışık mikroskobu ile yapıldı. Kontrol grubu (Resim 46) ve farklı deney gruplarındaki ratlara ait kesitlerin streptavidin-peroksidaz metodu ile insülin antikoru kullanılarak yapılan boyama sonucu elde edilen görüntüler aşağıdaki resimlerde gösterildi.

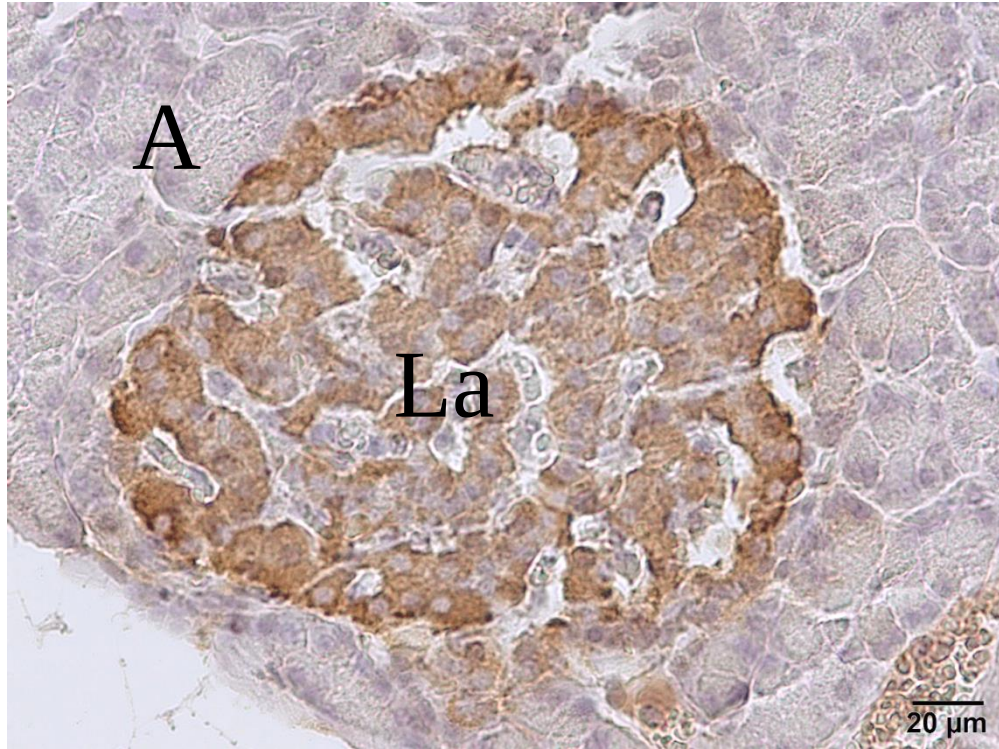


Resim 46. Kontrol grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacıkları (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.

Beslenmeleri sırasında 10 mg/kg/gün dozda likopen, 2 ml/kg mısır yağı ile karıştırılarak verilen grup (Resim 47) ve beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda, 2 ml/kg %0,9'luk serum fizyolojik ile gallik asit karıştırılarak uygulanan deney grubundaki kesitlerin görüntüleri (Resim 48) aşağıda verilmiştir.



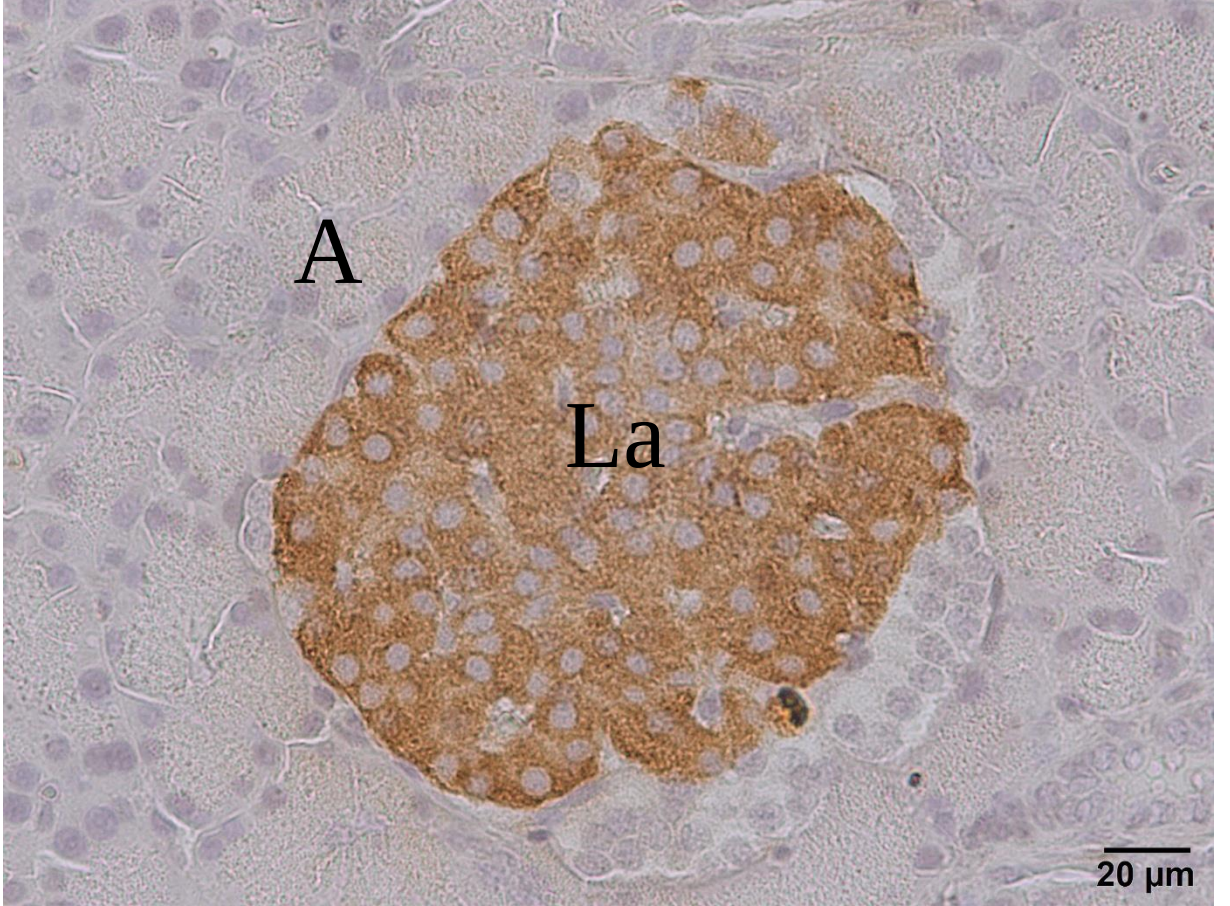
Resim 47. Likopen grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacığı (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.



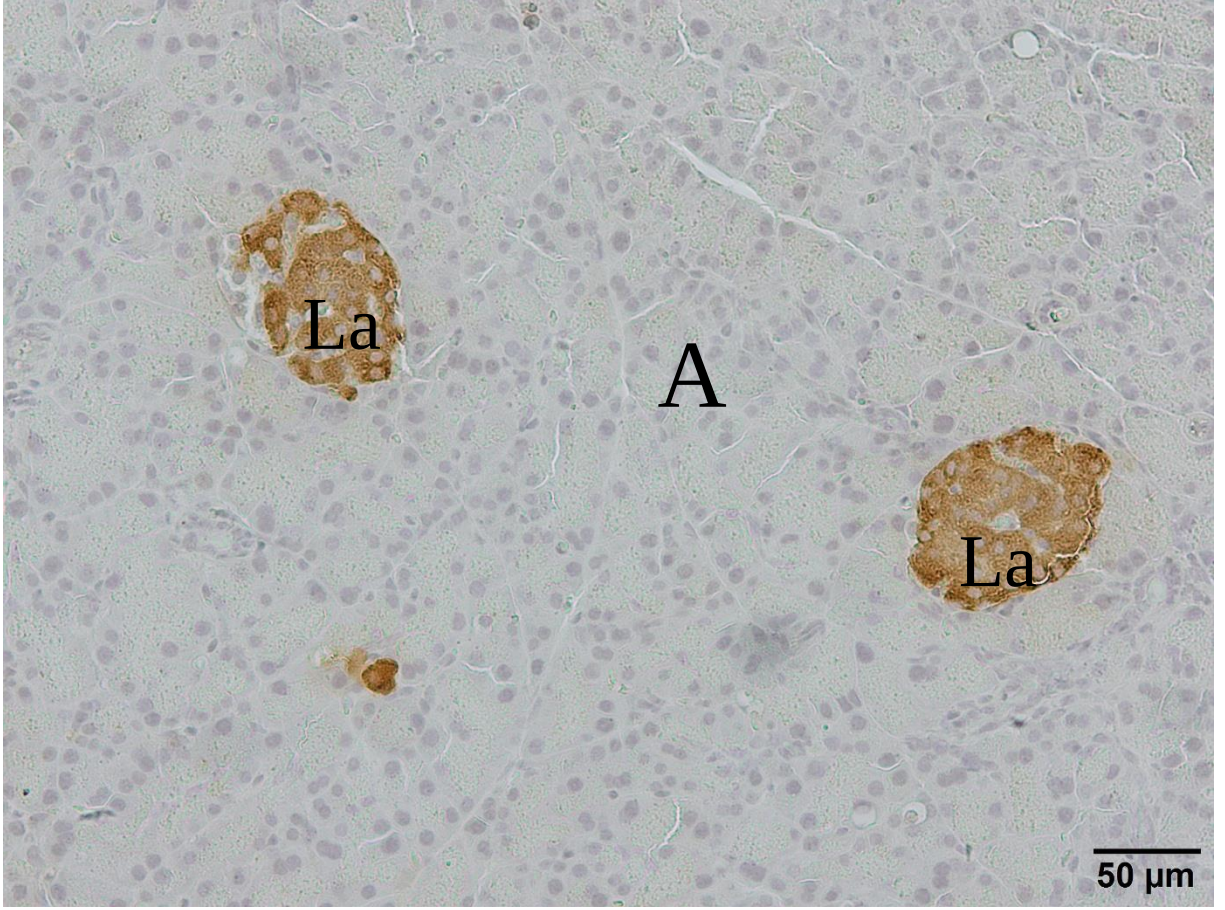
Resim 48. Gallik asit grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacığı (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.

Kontrol, gallik asit ve likopen gruplarına ait kesitler incelendiğinde; kesitlerin birbirine benzer görünümüne sahip olduğu, adacık içlerinin oldukça koyu ve homojen boyandığı, insülin pozitif β hücrelerin oldukça yoğun ve sağlıklı olduğu görülmüştür.

Beslenmeleri sırasında 4-nonilfenol 125 mg/kg/gün dozda, 2 ml/kg mısır yağı ile karıştırılarak verilen deney grubunda Langerhans adacıklarının ve ekzokrin pankreasın görüntüleri (Resim 49-50) aşağıda gösterildi.



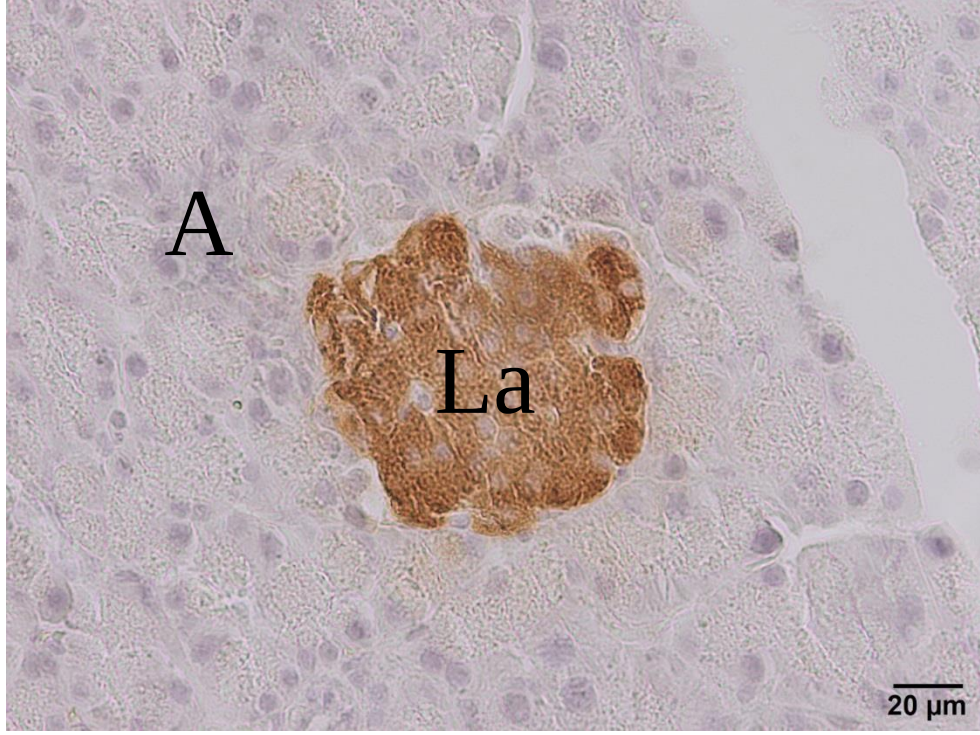
Resim 49. 4-NF grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacığı (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.



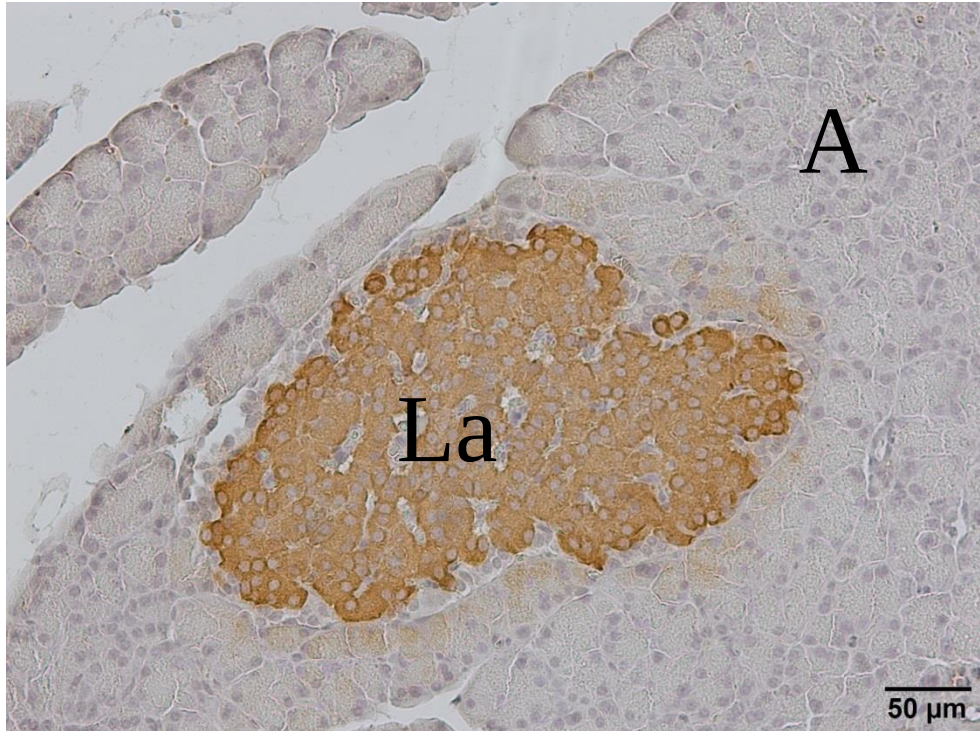
Resim 50. 4-NF grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacıkları (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 50µm.

4-NF gruplarında ki kesitlerde Langerhans adacıklarının boyutu küçülmüş, insülin pozitif β hücreleri Langerhans adacıkları içerisinde düzensiz ve dağılmış halde, adacıklar genel olarak heterojen boyanmış görünümündedir. Bu durum β hücrelerinin 4-NF'nin etkisiyle oksidatif strese uğradığını bu sebeple apoptoza uğramış olabileceğini ve insülin üretiminin azaldığını ya da düzensizleştiğini göstermektedir.

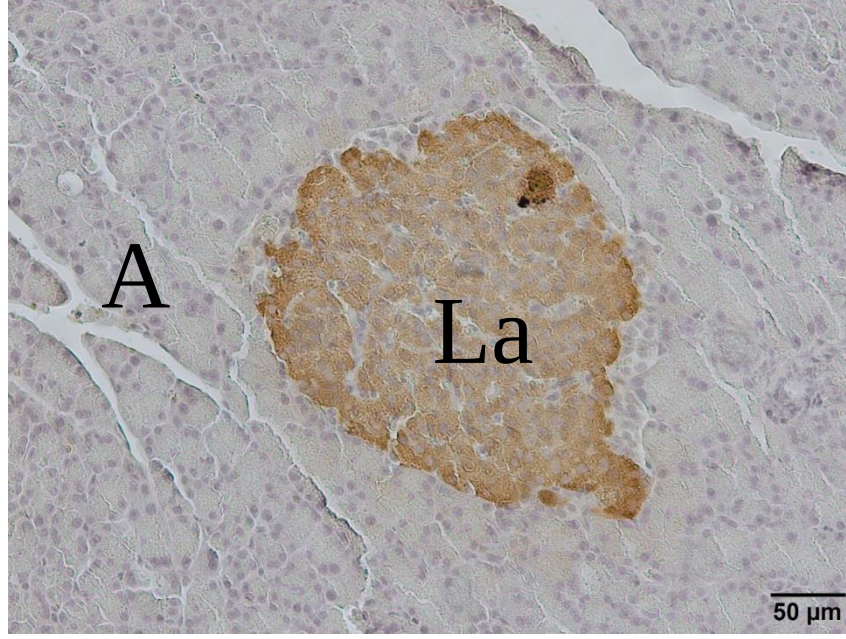
Beslenmeleri sırasında 10 mg/kg/gün dozda likopen ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta (Resim 51-52) ve beslenmeleri sırasında 50 mg/kg/gün dozda gallik asit ve bir saat sonra da 125 mg/kg/gün dozda 4-nonilfenol uygulanan grupta (Resim 53-54) ekzokrin pankreas ve endokrin pankreas görüntüleri aşağıda verildi.



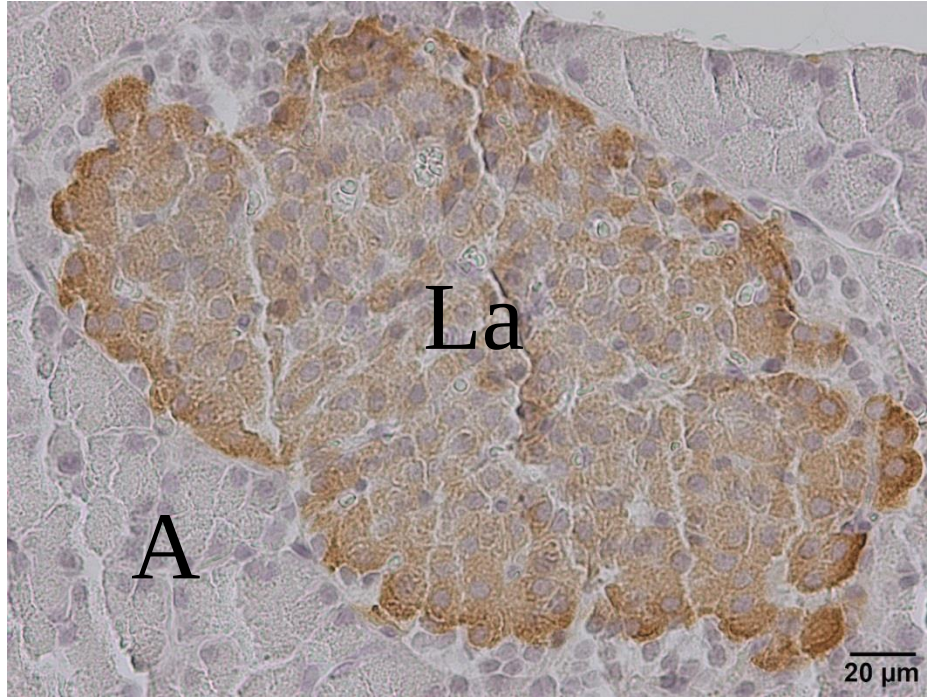
Resim 51. Likopen + 4-NF grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacığı (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.



Resim 52. Likopen + 4-NF grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacığı (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 50µm.



Resim 53. Gallik asit + 4-NF grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacığı (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 50µm.



Resim 54. Gallik asit + 4-NF grubu pankreasında; asinar hücreleri (A) ve insülin pozitif boyanan Langerhans adacığı (La) görüntüsü. Streptavidin-peroksidaz boyama metodu. Bar: 20µm.

Beslenmeleri sırasında 4-NF'den önce gallik asit ve likopen verilen gruptaki ratların pankreas kesitleri incelendiğinde; 4-NF'den önce gallik asit verilen gruptaki kesitlerde Langerhans adacıkları düzgün yapıda, koyu boyanmış ve belirgin görünümde olduğu

görülmüştür. Bu durum gallik asitin antioksidan etkisiyle 4-NF'nin Langerhans adacıklarında oluşturduğu hasarı önlediğini göstermektedir. Likopen+4-NF grubundaki kesitlere bakıldığında; Langerhans adacıklarındaki insülin boyanmasının güçlü olduğu, ancak GA+4-NF grubuna göre kısmen heterojen bir boyanma olduğu görülmüştür. Likopenin, gallik asitte olduğu gibi antioksidan etkisiyle 4-NF'nin toksik etkilerine karşı insülin üreten β hücrelerini koruduğu fakat bu korumanın gallik asite göre biraz daha kısıtlı olduğu tespit edilmiştir.

İnsülin antikoru kullanılarak boyanan kesitlerin incelenmesi aşamasında 36 adet hayvana ait pankreas doku kesitleri 10x büyütmede ve 10 farklı mikroskobik görüntüleme alanında tarandı. Adacık sayıları kaydedilip istatistiksel analiz için tablollaştırıldı. Sonrasında her bir kesitteki Langerhans adacık çapları 3 farklı bölgeden ölçülerek not edildi. Son olarak da DP70 kamera/görüntü analiz sistemi yardımıyla adacık alanları ölçüldü ve yine istatistiksel analiz için kaydedildi.

4.3. Histomorfolojik Bulgular

Kontrol ve deney gruplarında, Streptavidin-peroksidaz metoduyla insulin antikoru kullanılarak yapılan boyamada, pankreas kesitlerinde yer alan Langerhans adacık sayıları, çapları ve alanları, BX51 (Olympus) araştırma mikroskopu ve DP70 kamera/görüntü analiz sistemi ile belirlendi. Elde edilen veriler gerekli istatistiki analizler yapıldıktan sonra, Tablo 5 ve Tablo 6'da verildi.

Tablo 5. Kontrol ve deney gruplarının pankreaslarında Langerhans adacıklarının sayıları

Grup	n	Adacık Sayıları
		($\bar{x} \pm Sx$)
Kontrol	6	2.28±0.18
Likopen	6	2.42±0.16
Gallik Asit	6	2.27±0.20
4-NF	6	1.95±0.17
L+4-NF	6	2.08±0.18
GA+4-NF	6	2.08±0.16
P		ÖD

4-NF: 4- Nonilfenol, L: Likopen, GA: Gallik asit

ÖD: Önemli değil, n: rat sayısı, $\bar{x}$: ortalama, $S\bar{x}$: standart hata.

Tablo 6. Kontrol ve deney gruplarının pankreaslarında Langerhans adacıklarının çap (μm) ve alan (μm^2) değerleri

Grup	n	Adacık Çapı	Adacık Alanı
		($\bar{x} \pm Sx$)	($\bar{x} \pm Sx$)
Kontrol	6	71.68±4.92	4819.29±643.94
Likopen	6	71.04±4.94	4742.15±644.51
Gallik Asit	6	71.99±5.27	4874.63±744.81
4-NF	6	61.37±5.09	3854.64±734.27
L+4-NF	6	70.41±7.58	5693.18±1353.68
GA+4-NF	6	71.90±7.57	6030.70±1435.35
P		ÖD	ÖD

4-NF: 4- Nonilfenol, L: Likopen, GA: Gallik asit

ÖD: Önemli değil, n: rat sayısı, $\bar{x}$: ortalama, $S\bar{x}$: standart hata.

Langerhans adacık sayıları, adacık çapları ve adacık alanları ile ilgili istatistiki tablolar incelendiğinde; sadece gallik asit ve likopen verilen gruptaki kesitlerde adacık sayısı, adacık çapı ve adacık alanlarının referans değer olan kontrol grubu ile benzer oranlara sahip olduğu görüldü. Bu durum likopen ve gallik asitin Langerhans adacıklarındaki β hücrelerine zarar vermediği şeklinde değerlendirildi. 4-NF grubundaki kesitlerde ise 4-NF'nin toksik etkisi ile Langerhans adacıklarındaki β hücrelerinde hücre hasarı ve hücre kaybının olduğu görüldü. Bu sebeple de adacık sayısı, adacık çapı ve adacık alanlarında anlamlı derecede azalma olduğu tespit edildi. Likopen + 4-NF ve gallik asit + 4-NF gruplarında ise likopen ve gallik asitin antioksidan etkisi ile 4-NF'nin Langerhans adacıklarında oluşturduğu toksik etkiye karşı, β hücrelerini büyük ölçüde koruduğu, adacık sayısı, adacık çapı ve adacık alanlarının kontrol grubuna yakın değerlerde olduğu bellirlendi.

5. TARTIŞMA

Alkilfenol etoksilat bileşikleri (AFE) günümüzde oldukça yaygın kullanım alanına sahiptir (Toppari ve diğerleri, 1996; Crisp ve diğerleri, 1998). AFE'lerin bozunumu sonucu ise çoğunlukla zehirli etkiye sahip ve endokrin bozucu özellikte 4-NF oluşmaktadır (Ackermann ve diğerleri, 2002; Hale ve diğerleri, 2000; Nimrod ve Benson, 1996; Shang ve diğerleri, 1999; Kwack ve diğerleri, 2002). Ayrıca 4-NF uzun yarılanma ömrü ve hidrofobik özelliği nedeniyle canlılarda birikerek toksik etki gösterir (Ekelund ve diğerleri, 1990; Björklund ve diğerleri, 2009; Li ve diğerleri, 2017).

Canlıların homeostazisinin sağlanmasında, büyüme, gelişme, üreme ve hücrel metabolizmanın düzenlenmesinde endokrin sistem oldukça önemli görevler yerine getirmektedir (Tsang ve diğerleri, 2016). Endokrin sistemin önemli bir parçası da pankreasır. Pankreas salgılamış olduğu hormonlar ile homeostazinin sağlanmasında oldukça etkilidir. Yapılan bazı çalışmalarda 4-NF'nin pankreas dahil birçok organa zarar verdiği kanıtlanmış ve sağlık üzerinde olumsuz etkilere sahip olan 4-NF'nin kullanımıyla ilgili acil önlemler alınması gerektiği bildirilmiştir (Capaldo ve diğerleri, 2012; Furuta ve diğerleri, 2006; Xi ve diğerleri, 2013; Jie ve diğerleri, 2016; Li ve diğerleri, 2017; Göktepe ve diğerleri, 2023).

Bunun yanında yapılan bazı çalışmalarda gallik asit (Pengelly, 2020; Patel ve Goyal, 2011; Liao ve diğerleri, 2018) ve likopenin (Hasler, 2002; Coşkun, 2005; Sabbağ ve Sürücüoğlu, 2011; Imran ve diğerleri, 2020; Khan ve diğerleri, 2021) antikarsinojen, antienflamatuvar, antihistaminik, antimikrobiyal ve antioksidan özellikli olduğu kanıtlanmıştır.

Sunulan çalışmada, yukarıda antioksidan etkili olduğu belirtilen gallik asit ve likopenin, 4-NF'nin toksik etkisine karşı koruyucu rolünün olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla temin edilen ratlar farklı gruplara ayrılmış ve her bir gruba belli bir süre ve belli bir dozda 4-NF, likopen ve gallik asit verilerek pankreas dokularındaki hasar veya hasarsızlık durumları incelenmiştir. Bu çalışma 4-NF'nin pankreas üzerindeki olumsuz etkisine karşı likopen ve gallik asitin koruyucu etkilerini inceleyen ilk çalışmadır.

Yapılan çalışmada, rat pankreasının genel histolojik görünümünün tespiti için Triple boyama metodu uygulandı. Işık mikroskobu ile alınan görüntüler incelendiğinde; kontrol, likopen ve gallik asit gruplarına ait kesitlerde pankreas dokularının genel histolojik

görünümünün olması gereken özelliklere sahip olduğu, endokrin ve ekzokrin pankreas bölümlerinde normal yapının gözlemlendiği, 4-NF grubuna ait kesitlerde ise ekzokrin ve endokrin pankreas kısımlarında bariz dejenerasyonların olduğu, gallik asit+4-NF ve likopen+4-NF gruplarına ait kesitlerdeki pankreas dokusunun birbirine benzer histolojik görünüme sahip olduğu ekzokrin ve endokrin pankreas dokusu içerisinde yer yer dejenerasyonların olduğu ancak bu dejenerasyonların 4-NF grubuna göre oldukça az olduğu tespit edildi. 4-NF grubuna ait kesitlerde endokrin pankreasın özellikle kenar bölgelerindeki hücrel dejenerasyonların daha belirgin olduğu dikkati çekti. Gallik asit+4-NF ve likopen+4-NF gruplarından elde edilen kesitlerde endokrin pankreas kısmındaki hücrel dejenerasyonun ekzokrin pankreasa göre daha az olduğu gözlemlendi. Ayrıca gallik asit+4-NF grubundan elde edilen kesitlerde, likopen+4-NF grubundan elde edilen kesitlere göre özellikle endokrin pankreas kısmında hücrel dejenerasyonun daha az olduğu tespit edildi.

Yapılan literatür taramasında Li ve arkadaşlarının 4-NF'nin pankreas dokusu üzerinde oluşturduğu hasarı tespit etmek amacıyla hematoksilin-eozin ve TUNEL boyama metotlarını kullandığı görülmüş (Li ve diğerleri, 2017), Triple boyama metodunun kullanıldığı herhangi bir çalışmaya ulaşılamamıştır. Bu nedenle 4-NF'nin pankreas dokusu üzerinde oluşturduğu hasarın tespiti ile ilgili yapılacak yeni çalışmalarda Triple boyama metodunun uygulanması gerektiği düşünülmektedir.

Ancak yine bir endokrin bozucu olan ve pankreas dokusu üzerine 4-NF ile benzer etkiler oluşturan Bisfenol A (BFA) (Ropero ve diğerleri 2008) ile ilgili yapılan çalışmalarda Triple boyama metodunun kullanıldığı (Özaydın ve diğerleri, 2018; Yıldız ve diğerleri, 2020) ve her iki çalışmada da elde edilen kontrol grubu ve BFA grubu verilerinin bizim çalışmamızda elde ettiğimiz kontrol grubu ve 4-NF grubu ile uyumlu olduğu görülmüştür.

Triple boyama metodu uygulanan kesitlerdeki, Langerhans adacıklarında meydana gelen hücrel dejenerasyonun büyüklüğünün semi kantitatif skorları incelendiğinde 4-NF grubuna ait ratların Langerhans adacıklarındaki hücrel dejenerasyonun belirgin şekilde arttığı görüldü. İstatistiksel analiz sonucu bu dejenerasyonun tesadüfen oluşamayacak kadar anlamlı olduğu ($P<0,001$) tespit edildi. Diğer gruplardan (kontrol, likopen, gallik asit, likopen + 4-NF ve gallik asit + 4-NF) elde edilen kesitlerde ise hücrel dejenerasyon oranlarının birbirine yakın değerlere sahip olduğu tespit edildi. Buna göre 4-NF'nin pankreasın Langerhans adacıklarında meydana getirdiği hücrel dejenerasyona karşı likopen ve gallik asitin koruyucu etki gösterdiği değerlendirilmektedir. 4-NF'nin pankreas dokusu üzerinde oluşturduğu hasarın tespitinde Triple boyama metodunun kullanıldığı herhangi bir çalışmaya

rastlanılmadığından dolayı elde ettiğimiz verilerin yeni yapılacak çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan çalışmada pankreas dokusunun genel histolojik görünümünü daha doğru tespit etmek amacıyla ratlardan elde ettiğimiz kesitlere Triple boyama metoduna ek olarak Peryodik Asit-Schiff (PAS) boyama metodunu da uyguladık. PAS boyama ile pankreas dokusu içerisinde karbonhidrat içeriğe sahip alanların, sahip oldukları karbonhidrat oranına bağlı olarak pembe mor arası renge boyandıkları görüldü. Epitel hücrelerinin yerleştiği bazal membranın ve arter duvarlarını oluşturan elastik laminanın PAS ile tepkimeye girerek boyanması sayesinde (Altunlu ve diğerleri, 2010) pankreas dokusu içerisinde bulunan damar çaplarını da daha net bir şekilde değerlendirme fırsatı bulduk.

PAS boyama ile pankreas dokusu içerisinde glikojen ve glikoprotein gibi karbonhidratlar içeren damarların bazal membran yapıları ve retiküler lifler mor-menekşe renginde boyanırken zimojen granüller içeren asinar hücrelerin sitoplazmaları ile çekirdeklerinin daha koyu mavi-mor renkle boyandığı görüldü. Bu nedenle endokrin pankreası oluşturan Langerhans adacıkları ekzokrin pankreası oluşturan asinar hücreleri arasında daha soluk boyalı alanlar olarak tespit edildi. Langerhans adacıklarının aralarında mor menekşe renkli boyanan kapillerlerin bulunduğu ve bu kapillerler arasında yer yer birleşmiş hücre kordonlarının olduğu tespit edildi.

Yapılan literatür taramasında 4-NF'nin pankreas dokusu üzerinde oluşturduğu hasarın tespiti amacıyla PAS boyama metodu uygulanmış herhangi bir çalışmaya ulaşamadık. Ancak Abay'ın diyabetli ratlarda selenyum ve taurinin pankreas dokusu üzerine etkilerini araştırdığı çalışmasında, kontrol grubuna ait ratların pankreas dokusunun PAS boyama ile boyandığı görülmüştür (Abay, 2008). Abay'ın çalışmasında sunduğu, kontrol grubuna ait kesitlerin görüntüsü ve elde ettiği bulgular bizim çalışmamızda sunulan kontrol grubuna ait bulgular ve görüntüler ile uyumludur. Her iki çalışmada da ekzokrin pankreas koyu boyanırken endokrin pankreasın soluk renkli boyandığı ve Langerhans adacıkları içerisindeki kapiller damarlar ile hücre kordonlarının belirgin şekilde görüldüğü dikkati çekmektedir.

Gerçekleştirdiğimiz literatür taramasında, sunduğumuz çalışmaya benzer herhangi bir çalışmaya rastlayamadığımız için farklı boyama metotları ile elde ettiğimiz verileri karşılaştırarak bir yargıya varmaya çalıştık. Buna göre PAS boyama metodundan elde ettiğimiz sonuçlar Triple boyama metodundan elde ettiğimiz sonuçlar ile uyumludur. Kontrol, likopen ve gallik asit gruplarından elde ettiğimiz kesitler incelendiğinde hem ekzokrin

pankreas hem de endokrin pankreas dokularında hücrel dejenerasyonun olmadığı, ancak 4-NF grubundan elde ettiğimiz kesitlerde belirgin derecede hücrel dejenerasyon olduğu, hücrel dejenerasyonun özellikle Langerhans adacıklarının kenar bölgelerinde yoğunlaştığı görüldü. Ayrıca PAS boyama metodu ile boyanan 4-NF grubuna ait kesitlerde hem endokrin hem de ekzokrin pankreas dokusundaki arter, vena ve kapıların damar çeperlerinin kalınlaşarak daha koyu boyandığı ve doku içerisinde daha belirgin hale geldikleri görüldü. 4-NF grubundan elde ettiğimiz sonuçlar Yalçın ve ekibinin 4-NF'nin artan dozlarıyla yaptığı çalışma ile uyumludur. Yalçın ve ekibi yaptığı çalışmada 4-NF'nin glomerüler kılcal damarlar etrafındaki kollajen liflerinin dağılımında belirgin bir artış olduğunu bildirmiştir (Yalçın ve diğerleri, 2024).

Yine Triple boyama metodundan elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak beslenmeleri sırasında likopen+4-NF ve gallik asit+4-NF verilen gruplardan elde ettiğimiz kesitlerde ekzokrin ve endokrin pankreas dokularındaki hücrel dejenerasyonun oldukça azaldığı, özellikle gallik asit+4-NF grubunda pankreas dokusundaki dejenerasyonun daha çok azaldığı ve damar kalınlıklarının da kontrol grubuyla benzer yapıda olduğu görüldü. Bu veriler ışığında likopen ve gallik asitin 4-NF'nin toksik etkilerine karşı koruyucu etkisinin olduğu değerlendirilmektedir.

Yapılan çalışmalarda 4-NF'nin zararlı etkileri (Krupiński ve diğerleri, 2014) ile insanlarda obezite, diyabet, organ yetersizliği ve fonksiyon bozuklukları görülmesinin yanı sıra kardiyovasküler, serebrovasküler ve periferik vasküler sistemlerde de hasarlar oluşturduğu tespit edilmiştir (Alemzadeh ve Wyatt, 2002; Saka, 2002; World Health Organization, 1999; Kazemi ve diğerleri, 2016). Yapılan bir başka çalışmada, 4-NF'ye uzun süre maruz kalan ratlarda karaciğerin insülin sinyalleme yollarında meydana gelen bozulmalara bağlı olarak Tip-2 diyabet geliştiği belirtilmiştir (Jubendradass ve diğerleri, 2012b).

Diyabette damar fonksiyonlarının bozulmasında ilk etkili faktör hipergliseminin endotel fonksiyonlarını değiştirmesidir (Brownlee, 2001). Glikoz endotel ve düz kas hücrelerine insülinin bağımsız olarak kolaylaştırılmış difüzyon ile geçmektedir. Düz kas hücrelerinde glikoz geçişleri otoregülatör mekanizmalar ile düzenlenir ancak endotel hücrelerinde ise bu tür mekanizmalar bulunmadığı için kan glikoz seviyesi arttıkça endotel hücrelerine giren glikoz miktarı da artarak birikmeye başlar (Kofler ve diğerleri, 2005).

Deneyisel diyabet çalışmalarında kullanılan streptozotosinin (STZ) pankreasa zarar verdiği, dokularda oksidatif stres oluşturduğu ve nitrik oksit yapılarını bozarak diyabete neden olduğu kanıtlanmıştır (Houslay, 1992). Yine ratlarla yapılan bir başka çalışmada, 4-NF'nin mitokondriyal disfonksiyon ve oksidatif stres yoluyla pankreas hasarına neden olduğu, sonuç olarak insülin salınımını azalttığı ve ratlarda diyabete neden olduğu tespit edilmiştir (Li ve diğerleri, 2017). Diyabetle birlikte artan oksidatif stres ve buna bağlı oluşan patolojik süreçler endotel tabakasında fizyolojik ve morfolojik değişikliklerin meydana gelmesine ve buna bağlı olarak da vasküler komplikasyonların gelişimine neden olmaktadır (ztrk, 2018).

Diyabette glikozilasyonun artması sonucu okside olmaya başlayan proteoglikanlar nedeniyle ortamda serbest oksijen radikalleri oluşur (Akgl ve diğerleri, 1999; Cengiz ve Cengiz, 2014). Oluşan serbest oksijen radikalleri parçalanmaya dayanıklı protein oluşumunda artışa ve damar duvarındaki proteoglikanların yapısında değişime neden olur. Diyabet kapiler bazal membranın yapısında bulunan heparin sülfat, laminin ve fibronektin gibi majör moleküllerin bozulmasına, parçalanmaya dayanıklı hale gelerek kapilar bazal membranın kalınlaşmasına, endotel hücrelerin yapı ve fonksiyon kaybına neden olmaktadır (Barnett, 1993; Aiello ve diğerleri, 1995).

Yine STZ verilen ratların glomerüler bazal membranlarında, laminin ve fibronektin artışı gözlemlendiği (Brees ve diğerleri, 1996), bazal membranda kalınlaşma, atrofi, epitel dökülmesi ve vakuolizasyon olduğu tespit edilmiştir (Ketani ve diğerleri, 2015). Diyabetli kişilerde ve deneyisel diyabet uygulanan deney hayvanlarında nefropati sonucu ekstraselüler matriks bileşenlerinin birikimi sonucu glomerulus ve tübüler bazal membranın kalınlaştığı PAS boyama ile tespit edilmiştir (Cam ve diğerleri, 2003; Lehmann ve Schleicher, 2000; ztrk ve diğerleri, 2005; Singh ve Crook, 2000; Reeves ve Andreoli, 2000; Ketani ve diğerleri, 2015; Kılıç ve diğerleri, 2017).

Yukarıda bahsedilen çalışmalar ve 4-NF verilen gruptaki ratlardan elde ettiğimiz kesitlerdeki görüntüler birlikte değerlendirildiğinde; 4-NF'nin, damarlardaki bazal membranlarda laminin, fibronektin ve heparin sülfat gibi moleküllerin yapısını bozarak birikmesine, bazal membranın kalınlaşmasına, damar endotel hücrelerinin yapı ve fonksiyonunun bozulmasına neden olduğu, bu nedenle de Langerhans adacıklarında üretilen insülin hormonunun kana yeterince salgılanamadığı ve kanda glikoz düzeyinin gittikçe artmaya başlamasıyla insanlarda ve diğer canlılarda diyabete neden olabileceği değerlendirilmektedir. PAS boyamada, 4-NF verilen gruptan elde edilen kesitlerde damarların

daha kalın görülmesinin nedeninin kanda artan glikozun endotel hücrelerine girerek burada birikmesi ve bazal membranın kalınlaşmasından kaynaklandığı değerlendirilmektedir.

Sunulan çalışmada pankreas dokusunun genel histolojik görünümünün net değerlendirilebilmesi için diğer boyama metotlarının yanı sıra hematoksilin-eozin (HE) boyama metodunu da uyguladık. HE boyama metodu ile pankreasın asiner hücrelerinin, Langerhans adacıklarındaki endokrin hücrelerin ve kanal hücrelerinin çekirdekleri hematoksilin sayesinde mavi-mor renge boyanırken, asinar hücrelerin sitoplazması, bağ doku lifleri, kanallar ve damarlar eozin sayesinde pembe-kırmızımsı (koyu pembe) renge boyandı. Endokrin pankreası oluşturan Langerhans adacıkları ekzokrin pankreasa göre daha az protein granüller içerdiği için soluk pembe renge boyandı. Böylece Langerhans adacıkları koyu pembe boyanmış ekzokrin pankreas dokusu içerisinde açık pembe alanlar şeklinde tespit edildi.

Hematoksilin-eozin boyama metodundan elde ettiğimiz sonuçlar Triple boyama metodu ve PAS boyama metodundan elde ettiğimiz sonuçlar ile oldukça uyumludur. Ayrıca Li ve ekibinin yaptığı çalışmadaki HE boyama metodu ile elde ettikleri kontrol grubu ışık mikroskobu görüntüsü (Li ve diğerleri, 2017) ile Yu ve ekibinin gerçekleştirdiği çalışmadaki HE boyama metodu ile elde ettikleri kontrol grubu ve çok düşük düzey (0.02 µg/kg/gün) NF verilen grubun ışık mikroskobu görüntüsü (Yu ve diğerleri, 2018) çalışmamızda sunulan ve HE boyama metodu ile elde edilen kontrol grubu ışık mikroskobu görüntüsü ile benzerdir. Kontrol grubuna ait ekzokrin pankreas dokusunda ve Langerhans adacıklarında diğer çalışmalarla uyumlu olarak (Li ve diğerleri, 2017; Yu ve diğerleri, 2018) hücresel dejenerasyona rastlamadık. Kontrol grubu ile benzer olarak likopen ve gallik asit gruplarından elde ettiğimiz kesitlerde de hem endokrin hem de ekzokrin pankreas dokusunda hücresel dejenerasyona rastlamadık. Ancak 4-NF grubundan elde ettiğimiz kesitlerde belirgin derecede hücresel dejenerasyon olduğu görüldü. Bu durum yukarıda anılan çalışmalarla benzerlik göstermektedir (Li ve diğerleri, 2017; Yu ve diğerleri, 2018). Li ve ekibinin yaptığı çalışmada 90 gün boyunca günlük 20 mg/kg, 60 mg/kg ve 180 mg/kg artan dozlarda 4-NF verilmesi ekzokrin ve endokrin pankreas üzerinde doza bağlı olarak artan derecede hücresel dejenerasyon oluşturduğunu kanıtlamıştır. Ayrıca Li ve ekibinin yaptığı çalışmada 60 mg/kg ve 180 mg/kg dozlarda uygulanan 4-NF sonucu pankreas dokusunda oluşan hücresel dejenerasyonun bizim çalışmamızdakine göre fazla olduğu görülmüştür. Bunun nedeninin uygulanan doz süresinin daha fazla olmasından kaynaklandığı düşünülmektedir (Li ve diğerleri, 2017). Yine Yu ve ekibinin yaptığı çalışmada da 180 gün boyunca günlük 0,2 µg/kg

(NP-M-ND) ve 2 µg/kg/ (NP-H-ND) 4-NF verilen gruplardan elde edilen görüntülere çalışmamızda sunulan görüntüler benzerlik göstermektedir. Bunun nedeninin ratlara verilen 4-NF'nin düşük doz olmasına rağmen uygulama süresinin uzunluğundan kaynaklandığı tahmin edilmektedir (Yu ve diğerleri, 2018).

Özellikle Langerhans adacıklarının çevresinde ve ekzokrin pankreas dokusu içerisinde hücrel dejenerasyonun yoğunlaştığı tespit edildi. Bu bulgumuz da diğer çalışmalar (Li ve diğerleri, 2017; Yu ve diğerleri, 2018) ve Triple boyama metodu ile PAS boyama metodundan elde ettiğimiz sonuçlarla uyumludur.

Benzer şekilde likopen+4-NF ve gallik asit+4-NF verilen gruplardan elde ettiğimiz kesitlerde pankreas dokusundaki hücrel dejenerasyonun oldukça azaldığı, özellikle de gallik asit+4-NF grubunda hücrel dejenerasyona neredeyse hiç rastlanmadığı ve kontrol grubuyla benzer görünümde olduğu tespit edildi. Yaptığımız literatür taramasında 4-NF'in pankreas dokusu üzerine zararlı etkilerine karşı likopen ve gallik asitin koruyucu etkisini araştıran herhangi bir çalışmaya veya histomorfolojik veriye rastlayamadık. Ancak gallik asit (Akbari, 2020; Sohrabi ve diğerleri, 2020; Lee ve diğerleri, 2013; Jang ve diğerleri, 2008; Umadevi ve diğerleri, 2014; Hussein ve diğerleri, 2020; Çakır ve diğerleri, 2023) ve likopenin (Cadenas, 1996; Sabbağ ve Sürücüoğlu, 2011; Imran ve diğerleri, 2020; Khan ve diğerleri, 2021) antioksidan, antialerjik, antimikrobiyal, antikanser, antiinflamatuvar, kardiyoprotektif, nöroprotektif, antidiyabetik ve hepatoprotektif etkileri ile pankreas, karaciğer, kalp ve akciğer gibi birçok organ üzerinde kanser önleyici ve hasar giderici özelliklerinin olduğu tespit edilmiştir. Yaptığımız çalışmadan elde edilen veriler, bu bilgiler ışığında değerlendirildiğinde likopen ve gallik asitin, 4-NF'nin pankreas dokusunda oluşturduğu toksik hasara karşı koruyucu etki gösterdiğini akla getirmektedir.

GA'nın likopene göre 4-NF'nin toksik etkilerine karşı daha koruyucu olmasını ise şu şekilde açıklayabiliriz. Yapılan çalışmalarda likopenin yüksek konsantrasyonlarda alınmasının hücrelerde pro-oksidan, düşük konsantrasyonlarda alınmasının ise antioksidan özellik gösterdiği tespit edilmiştir (Bowen ve diğerleri, 2002; Şahin ve diğerleri, 2019). Ayrıca likopenin pro-oksidan aktivitesinin dokulardaki likopen ve oksijen konsantrasyonuna, diğer antioksidanlarla olan etkileşimine ve daha birçok hücrel unsura bağlı olduğu bildirilmiştir (Caseiro ve diğerleri, 2020; Palozza, 1998). Yine yapılan çalışmalarda yüksek konsantrasyonlarda alınan likopenin, hücrelerdeki pro-oksidan etkisiyle reaktif oksijen türlerinin üretimini arttırdığı ve bu durumun da hücre hasarına neden olduğu belirtilmiştir (Caseiro ve diğerleri, 2020). Sunduğumuz çalışmada günlük 10 mg/kg dozda sadece likopen

verilen grubun pankreas dokusu histomorfolojik olarak incelendiğinde herhangi bir hasar olmadığı, kontrol grubu ile benzer özellik gösterdiği, ancak aynı dozda likopenin, likopen+4-NF grubunda, 4-NF'nin etkisiyle kısmi pro-oksidan özellik göstererek 4-NF'nin oluşturduğu hasarı tam olarak tamir edemediği tahmin edilmektedir. Yapılan çalışmalarda birçok çevresel kirleticinin hücrelerin prooksidan/antioksidan dengesini bozduğu ve böylece oksidatif strese neden olduğu bildirilmiştir (Ho ve diğerleri, 1998). Pro-oksidan etkili C vitamini ile ilgili yapılan çalışmalarda, C vitaminin pro-oksidan etkisinin, endokrin bozucu moleküller (NF, OF ve BFA) ile arttığı, buna bağlı olarak karaciğer (Korkmaz ve diğerleri, 2010), böbrek (Korkmaz ve diğerleri, 2011) ve erkek üreme sisteminde (Aydoğan ve diğerleri, 2010) doku hasarına neden olduğu bildirilmiştir. Bizim çalışmamızda likopen hasarı arttırmamış olsa da NF ile birlikte göstermiş olduğu pro-oksidan etkisi nedeniyle tam bir iyileşme sağlayamadığı düşünülmektedir. Yine de farklı boyama metotları ile elde ettiğimiz bu tür histomorfolojik bulguların yapılacak ek çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Kontrol ve deney gruplarından elde edilen kesitlerde pankreas dokusunda apoptozis durumunun tespiti ve dejenerasyon büyüklüğünün anlaşılması amacıyla Streptavidin-biotin peroksidaz boyama metodu kullanılarak, caspase-3 primer antikoru ile boyama yapıldı ve sonrasında Langerhans adacıklarında meydana gelen apoptozun boyutu subjektif olarak değerlendirildi. Caspase-3 aktivitesi ile apoptozisin indüklendiği ve bu durumun hücrede kromatin yoğunlaşması ve DNA parçalanması gibi morfolojik değişikliklere neden olduğu bildirilmiştir (Liu ve diğerleri, 1997; Kudo ve diğerleri, 2004). Ayrıca 4-NF maruziyetinin de caspase-3 aktivasyonunu arttırarak, kromatin yoğunlaşması ve DNA parçalanmasını indüklediği bilinmektedir (Kudo ve diğerleri, 2004; Ceylan ve diğerleri, 2023). Gong ve ekibinin sertoli hücrelerinde 4-NF'nin etkisini araştırdığı çalışmasında; 4-NF'nin sertoli hücrelerinde hücre içi Ca^{2+} homeostazisini bozduğunu, endoplazmik retikulumda (ER) yapısal değişiklikler oluşturduğunu, buradan hareketle 4-NF'nin rat sertoli hücrelerinde ER stresine neden olabileceğini ve bunun da sertoli hücrelerini apoptoza sürükleyebileceğini belirtmişlerdir (Gong ve diğerleri, 2009).

Caspase-3 ile boyanan kesitlerde immünohistokimyasal olarak yapılan genel değerlendirmede; Langerhans adacıklarının, çevresindeki asinar hücrelere göre daha koyu alanlar şeklinde boyandığı görüldü. Kontrol grubundaki kesitlerde apoptoza uğramış hücreler ve hücresel dejenerasyona rastlamadık. Elde ettiğimiz bu veriler Li ve ekibinin çalışmasından elde ettiği veriler ile uyumludur (Li ve diğerleri, 2017). Benzer şekilde likopen ve gallik asit gruplarından elde ettiğimiz kesitlerin de kontrol grubu ile benzer özellik gösterdiği, önceki

boyama metotlarından elde ettiğimiz sonuçlarla uyumlu olarak belirgin yoğunlukta apoptoza uğramış hücreler ile hücrel dejenerasyonun bulunmadığı görüldü.

Beslenmeleri sırasında 4-NF verilen gruplara ait kesitler incelendiğinde, caspase-3 ekspresyonu açısından Langerhans adacıklarının ekzokrin pankreasa göre daha koyu boyandığı bu nedenle Langerhans adacıkları içerisinde belirgin bir şekilde apoptoza uğramış birçok hücrenin olduğu, bu hücrelerin diğer adacık hücrelerine göre daha koyu kahverengiye boyandığı görüldü. 4-NF ile gerçekleştirilen benzer çalışmalarda, 4-NF'nin ratlarda doza bağımlı olarak mitokondriyal fonksiyon bozuklukları ve oksidatif stres yoluyla pankreas dokusuna zarar verdiği ve apoptozu arttırdığı, TUNEL boyama metodu (Li ve diğerleri; 2017) ve transmisyon elektron mikroskobu görüntüsü ile (Tao ve diğerleri, 2022) tespit etmişlerdir. Söz konusu çalışmalardan elde edilen veriler çalışmamızdaki 4-NF grubundan elde ettiğimiz veriler ile uyumludur. Ayrıca 4-NF'nin farklı dokularda apoptozu indüklediğine dair çalışmalar da mevcuttur. Yao ve ekibinin yaptığı çalışmaya göre de 4-NF rat timositlerinde apoptozu indüklemekte ve immün sistemi olumsuz etkilemektedir (Yao ve diğerleri, 2005). Bizim çalışmamız ve yapılan diğer çalışmalar 4-NF'nin hücrelerde apoptozu teşvik ettiğini göstermektedir. Bunun yanında yapılan bazı çalışmalarda 4-NF'nin kandaki insülin seviyesini ve glikoz metabolizmasını değiştirebileceğini bildirilmiştir. Ancak Li ve ekibinin tespitine göre sunulan veriler arasında çelişkiler bulunmaktadır. Buna göre; Jubendradass ve ekibi yaptığı çalışmalarda kısa süreli 4-NF maruziyetinin kan glikoz seviyelerini düşürdüğünü ve serum insülin seviyelerini artırdığını (Jubendradass ve diğerleri, 2011) ancak uzun süreli 4-NF maruziyetinin hem kan glikoz hem de serum insülin seviyelerini artırdığını bildirmiştir (Jubendradass ve diğerleri, 2012b). Bununla birlikte Song ve ekibi, 4-NF'ye kısa süreli maruziyetin kan glikozunda artışa ve serum insülininde azalmaya yol açtığını belirtmiştir (Song ve diğerleri, 2012). Adachi ve ekibi ise, 4-NF'ye uzun süreli maruziyetin insülin salgılanmasını artırdığını, ancak kısa süreli maruziyetin insülin salgılanmasını değiştirmediğini iddia etmişlerdir (Adachi ve diğerleri, 2005). Li ve ekibi yukarıdaki tespitlerinden sonra 4-NF'nin yağda çözünmesi ve uzun yarı ömrü nedeniyle canlılarda kolayca birikebilmekte olduğunu ve toksik etkilere neden olduğunu, ancak uzun süreli 4-NF maruziyetinin, insülin salınımı, pankreas hasarı ve pankreas fonksiyonları üzerindeki olumsuz etkilerinin doğrulanması gerektiğini belirtmişlerdir (Li ve diğerleri, 2017). Sunulan çalışmada 4-NF'nin pankreas fonksiyonlarında oluşturduğu bozulmalar ve insülin salınımı üzerindeki etkileri araştırılmamıştır. Ancak Li ve ekibinin bulgularıyla uyumlu olarak 4-NF'nin pankreas doku hasarına neden olduğu tespit edilmiştir.

Beslenmeleri sırasında likopen+4-NF ve gallik asit+4-NF verilen guruplarından elde edilen kesitler caspase-3 ile boyandığında, her iki grubun da endokrin ve ekzokrin pankreas dokularının birbiri ile benzer görünümüne sahip olduğu görüldü. Her iki gruptaki dokuların kontrol grubu ile yakın benzer görünümüne sahip oldukları, Langerhans adacıklarının ekzokrin pankreasa göre bir miktar daha koyu ve adacık hücrelerinin genel olarak homojen boyandığı ancak adacık kenarlarında apoptoza uğramış hücre gruplarının yer yer var olduğu, buna rağmen apoptotik hücre gruplarının oldukça azaldığı tespit edildi. Caspase-3 ekspresyonu hakkında likopen+4-NF ve gallik asit+4-NF gruplarından elde ettiğimiz sonuçlar diğer boyama metotlarından elde ettiğimiz sonuçlarla oldukça uyumludur. Buna göre; 4-NF'nin pankreas dokusu üzerine olan zararlı etkisine karşı likopen ve gallik asitin koruyucu etkisi olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, 4-NF'ye maruz kalan ratların pankreas dokusunda caspase-3 immünoaktivitesinin arttığını gözlemledik. Bu durum, 4-NF'ye maruz kalmanın pankreas hücrelerinde apoptozuna neden olabileceğini göstermektedir. 4-NF+Likopen ve 4-NF+Gallik asit grubundaki ratların pankreas doku örneklerinde caspase-3 immünoaktivitesinin azaldığını gözlemledik. Böylece likopen ve gallik asitin, 4-NF'nin etkisiyle pankreas dokusunda artan apoptoza karşı koruyucu olduğunu tespit ettik.

Yaptığımız literatür taramasında, likopen ve gallik asitin, 4-NF'nin pankreas dokusunda neden olduğu apoptoza karşı koruyucu etkisini konu edinen herhangi bir çalışmaya rastlayamadık. Bu nedenle elde ettiğimiz verilerin yapılacak yeni çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç duyulmaktadır.

Kontrol ve deney gruplarının pankreas kesitleri caspase-3 antikoruyla immünohistokimyasal olarak boyandıktan sonra endokrin pankreas dokusunda meydana gelen apoptozisin büyüklüğü ile ilgili semi-kantitatif skorlama değerleri incelendi ve kontrol, likopen ile gallik asit gruplarındaki ratların endokrin pankreas dokularının normal görünümüne sahip olduğu, 4-NF grubuna ait ratların endokrin pankreaslarında apoptozisin arttığı ve elde edilen istatistiki bulgunun ($P<0,001$) istatistiksel olarak çok güçlü ve anlamlı olduğu belirlendi. Likopen +4-NF ve gallik asit+4NF gruplarındaki ratların endokrin pankreas dokularındaki apoptozisin kontrol grubuna göre fazla ancak 4-NF grubuna göre daha az olduğu ve bu değerlerin de anlamlı olduğu görüldü ($P<0,001$). Elde edilen bu verilere göre de 4-NF grubu pankreasın Langerhans adacıklarında apoptozisi indüklemekte olduğu, buna karşın likopen ve gallik asitin koruyucu etki gösterdiği düşünüldü.

Streptavidin-peroksidaz boyama metoduyla pankreasta insülin ekspresyonu incelendiğinde; kontrol ve deney gruplarından elde ettiğimiz histomorfolojik bulgular Li ve

ekibinin insulin antikoru boyamasından elde ettiği bulgular ile uyumludur. Çalışmamızda kontrol grubundan elde ettiğimiz mikroskopik görüntüler ile Li ve ekibinin kontrol grubundan elde ettiği mikroskopik görüntüler uyuşmaktadır. Yine çalışmamızda sunduğumuz likopen ve gallik asit grubundan elde ettiğimiz mikroskopik görüntüler Li ve ekibinin kontrol grubundan elde ettikleri mikroskopik görüntüler ile benzer yapıdadır. Ayrıca bu veriler önceki boyama metotlarından elde ettiğimiz veriler ile uyumludur. Çalışmamızda sunduğumuz 4-NF grubuna ait Langerhans adacıklarının mikroskopik görüntüleri Li ve ekibinin 90 gün boyunca ratlara farklı dozlarda (20 mg/kg, 60 mg/kg ve 180 mg/kg) uyguladığı 4-NF gruplarına ait mikroskopik görüntüler ile benzemektedir. Hem bizim mikroskopik görüntülerimizde hem de Li ve ekibinin mikroskopik görüntülerinde Langerhans adacıklarında bariz dejenerasyonlar olduğu ve adacıkların küçüldüğü görülmektedir. Ancak Li ve ekibinin elde ettiği mikroskopik görüntülerde adacıklardaki dejenerasyon ve küçülme bizim elde ettiğimiz görüntülerdeki adacık dejenerasyonu ve küçülmesine göre oldukça fazladır (Li ve diğerleri, 2017). Bu durumun ratlara uygulanan 4-NF süresinin ve 180 mg/kg'lık grupta doz miktarının fazlalığı olduğu düşünülmektedir.

İnsulin antikorumun immünohistokimyasal bulgularına ait istatistikî analizler sonucu elde edilen veriler incelendiğinde, 4-NF grubunda adacık sayısının kontrol grubuna göre azaldığı, adacık çap ve alan değerlerinin ise kontrol grubuna göre küçüldüğü tespit edilmiştir. Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler daha önce gerçekleştirilen benzer çalışmalar (Li ve diğerleri, 2017; Yu diğerleri, 2018) ile uyumludur. Li ve ekibi yaptığı çalışmada Langerhans adacık çap ve alanlarının doza bağlı bir şekilde azaldığını, özellikle günlük 60 mg/kg ve 180 mg/kg dozda 4-NF verilen gruplarda bu azalmanın önemli ölçüde olduğu bildirmiştir (Li ve diğerleri, 2017). Yine Yu ve ekibi yaptığı çalışmada orta (günlük 0,2 µg/kg (NP-M-ND)) ve yüksek (günlük 2 µg/kg/ (NP-H-ND)) dozlarda 180 gün boyunca 4-NF verilen ratlardan elde ettikleri kesitlerde Langerhans adacık sayısı ve adacık boyutunda küçülmeler olduğunu bildirmişlerdir (Yu ve diğerleri, 2018).

Sunduğumuz çalışmada likopen ve gallik asit gruplarının kontrol grubu ile yakın değerlerde adacık sayısına sahip olduğu, bunun yanında likopen+4-NF ve gallik asit+4-NF gruplarında adacık sayısının, 4-NF grubundan fazla, kontrol grubundan az olduğu tespit edilmiştir. Bu durum likopen ve gallik asitin 4-NF'nin Langerhans adacıkları üzerindeki olumsuz etkisine karşı adacık sayısını ve boyutunu korumaya yardımcı olduğunu göstermektedir. Sunduğumuz çalışmada, farklı boyama metotları ile elde ettiğimiz veriler, insulin antikoruyla yapılan boyama yöntemi ile elde ettiğimiz bulguları desteklemektedir.

4-NF'nin pankreas dokusunda oluşturduğu toksik etkiye karşın likopen ve gallik asitin koruyucu etkisi ile ilgili herhangi bir çalışma olmadığından likopen+4-NF ve gallik asit+4-NF gruplarından elde ettiğimiz verileri başka çalışmalar ile kıyaslayamadık. Bu nedenle elde ettiğimiz verilerin, 4-NF'nin pankreas dokusunda oluşturduğu toksikasyona karşı, farklı doz ve sürelerde likopen ve gallik asit kullanılarak yapılacak yeni çalışmalarla desteklenmesine ihtiyaç vardır.

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

Sunulan tez çalışmasında, özellikle gıda ve temizlik alanlarında yaygın olarak maruz kalınan 4-NF'ye bağlı pankreas hasarı histolojik, histomorfolojik, immunohistokimyasal ve istatistiksel olarak belirlendi. Çalışmada; kontrol, gallik asit ve likopen gruplarının benzer histomorfolojik görünüme sahip olduğu, 4-NF grubuna ait dokularda ise bariz hücresel dejenerasyonların olduğu, buna karşın gallik asit + 4-NF ve likopen + 4-NF gruplarında hücresel dejenerasyon ve hücre kayıplarının, 4-NF grubuna göre oldukça azaldığı hem histomorfolojik hem de immünohistokimyasal olarak görüldü. Buna göre; 4-NF'nin neden olduğu toksikasyona karşı likopen ve gallik asitin, pankreas dokusu üzerinde koruyucu etkisinin olduğu tespit edildi. Özellikle gallik asitin likopene göre 4-NF'nin pankreas dokusunda oluşturduğu hasara karşı daha koruyucu olduğu sonucuna ulaşıldı. Likopen ve gallik asitin kullanım süresine ve dozuna bağlı olarak metabolik olumsuz etkilerinin de olabileceği öngörüldüğünden, bu maddelerin 4-NF gibi endokrin bozuculara karşı, farklı doz ve sürelerde kullanımı ile ilgili daha kapsamlı ek çalışmalar yapılması gerekmektedir.

KAYNAKLAR

- Abarikwu, S. O., Simple, G., Onuoha, S. C., Mokwenye, I., & Ayogu, J. F. Evaluation of the protective effects of quercetin and gallic acid against oxidative renal toxicity in rats.
- Abay, N. F. (2008). *Streptozotosin ile diyabet oluşturulan farelerde selenyum ve taurinin pankreas üzerine etkisinin ışık ve elektron mikroskopik düzeyde incelenmesi* (Master's thesis, Sağlık Bilimleri Enstitüsü).
- Ackermann, G. E., Schwaiger, J., Negele, R. D., & Fent, K. (2002). Effects of long-term nonylphenol exposure on gonadal development and biomarkers of estrogenicity in juvenile rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Aquatic toxicology*, 60(3-4), 203-221.
- Adachi, T., Yasuda, K., Mori, C., Yoshinaga, M., Aoki, N., Tsujimoto, G., & Tsuda, K. (2005). Promoting insulin secretion in pancreatic islets by means of bisphenol A and nonylphenol via intracellular estrogen receptors. *Food and Chemical Toxicology*, 43(5), 713-719.
- Agarwal, A., Shen, H., Agarwal, S., & Rao, A. V. (2001). Lycopene content of tomato products: its stability, bioavailability and in vivo antioxidant properties. *Journal of medicinal food*, 4(1), 9-15.
- Ahel, M., Hršak, D., & Giger, W. (1994). Aerobic transformation of short-chain alkylphenol polyethoxylates by mixed bacterial cultures. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 26, 540-548.
- Aiello, L. P., Northrup, J. M., Keyt, B. A., Takagi, H., & Iwamoto, M. A. (1995). Hypoxic regulation of vascular endothelial growth factor in retinal cells. *Archives of ophthalmology*, 113(12), 1538-1544.
- Akbari, G. (2020). Molecular mechanisms underlying gallic acid effects against cardiovascular diseases: An update review. *Avicenna journal of phytomedicine*, 10(1), 11.
- Akgül, E., İlhan, N., İlhan, N., & Halifeoğlu, İ. (1999). Tip II Diabetes mellitusta lipid peroksidasyonu ve eritrosit antioksidan enzim aktiviteleri. *Türk Biyokimya Dergisi*, 3, 28-33.

- Alemzadeh, R., & Wyatt, D. (2002). *Diabetes Mellitus in Children* (R. Behrman, R. Kliegman, & H. Jenson, Eds.; 17th ed.). Philadelphia: WB Saunders Company, 1947-70.
- Altun, N. E. (1984). *Pankreas Hastalıkları*. Anadolu Üniversitesi Yayınları (Ders Kitabı), s.143-1999.
- Altun, G. (2008). Tip 1 Diabetes mellitus tanılı çocuklarda damar fonksiyon bozukluklarının ultrasonografik olarak değerlendirilmesi. *İstanbul Üniversitesi Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları AD Uzmanlık Tezi*, 1-3.
- Altunlu, E., Koç, A., Kozlu, T., Bozkurt, Y. A., & Ateş, S. (2010). Sıçanlarda Prenatal, Postnatal ve Erişkin Dönemlerde Glandula Parotis' in Gelişimi Üzerinde Histokimyasal ve Işık Mikroskopik Çalışmalar. *Atatürk Üniversitesi Veteriner Bilimleri Dergisi*, 5(3), 129-139.
- Arıncı, K., & Elhan, A. (1997). Anatomi (Cilt 1), 2. Baskı, Ankara, Güneş Kitabevi, 341.
- Arıncı, K., & Elhan, A. (2006). Anatomi, 1. cilt. 4. baskı. Ankara: Güneş Kitabevi, 261-265.
- Aydoğan, M., Korkmaz, A., Barlas, N., & Kolankaya, D. (2010). Pro-oxidant effect of vitamin C coadministration with bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol on the reproductive tract of male rats. *Drug and Chemical Toxicology*, 33(2), 193-203.
- Balakrishnan, B., Thorstensen, E., Ponnampalam, A., & Mitchell, M. D. (2011). Passage of 4-nonylphenol across the human placenta. *Placenta*, 32(10), 788-792.
- Banting, F. G., & Best, C. H. (2007). The internal secretion of the pancreas. *Indian Journal of Medical Research*, 125(3), L251.
- Banting, F. G., Best, C. H., Collip, J. B., Campbell, W. R., & Fletcher, A. A. (1922). Pancreatic extracts in the treatment of diabetes mellitus. *Canadian Medical Association Journal*, 12(3), 141.
- Barnett, A. H. (1993). Origin of the microangiopathic changes in diabetes. *Eye*, 7(2), 218-222.
- Baynal, Ö. F. (2012). Likopen. *Bitirme Tezi*, Erciyes Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Kayseri.
- Belibağlı, P., & Uysal, Y. Çevrede Nonilfenol; Oluşumu, Akıbeti, Toksisitesi ve Atıksularda Arıtımı Nonylphenol in the Environment: Occurrence, Fate, Toxicity and Treatment Methods from Wastewater.

- Bernard, C. (1949). *An Introduction to the Study of Experimental Medicine*. originally published in 1865. *Reprinted New York, NY, Henry Schuman Inc.*
- Bhattacharya, S., Muhammad, N., Steele, R., Peng, G., & Ray, R. B. (2016). Immunomodulatory role of bitter melon extract in inhibition of head and neck squamous cell carcinoma growth. *Oncotarget*, 7(22), 33202.
- Bigsby, R., Chapin, R. E., Daston, G. P., Davis, B. J., Gorski, J., Gray, L. E., ... & vom Saal, F. S. (1999). Evaluating the effects of endocrine disruptors on endocrine function during development. *Environmental health perspectives*, 107(suppl 4), 613-618.
- Birnbaum, L. S., & Fenton, S. E. (2003). Cancer and developmental exposure to endocrine disruptors. *Environmental health perspectives*, 111(4), 389-394.
- Björklund, K., Cousins, A. P., Strömvall, A. M., & Malmqvist, P. A. (2009). Phthalates and nonylphenols in urban runoff: Occurrence, distribution and area emission factors. *Science of the total environment*, 407(16), 4665-4672.
- Bliss, M., Banting, F. G., BEST, C. H., & Collip, J. B. S. (1982). Banting's, Best's, and Collip's accounts of the discovery of insulin. *Bulletin of the History of Medicine*, 56(4), 554-568.
- Bolger, R., Wiese, T. E., Ervin, K., Nestich, S., & Checovich, W. (1998). Rapid screening of environmental chemicals for estrogen receptor binding capacity. *Environmental health perspectives*, 106(9), 551-557.
- Bonner-Weir, S. (1991). Anatomy of the islet of Langerhans. *The endocrine pancreas*, 15-27.
- Bouwmeester, H., Hollman, P. C., & Peters, R. J. (2015). Potential health impact of environmentally released micro-and nanoplastics in the human food production chain: experiences from nanotoxicology. *Environmental science & technology*, 49(15), 8932-8947.
- Bowen, P., Chen, L., Stacewicz-Sapuntzakis, M., Duncan, C., Sharifi, R., Ghosh, L., ... & Breemen, R. V. (2002). Tomato sauce supplementation and prostate cancer: lycopene accumulation and modulation of biomarkers of carcinogenesis. *Experimental Biology and Medicine*, 227(10), 886-893.
- Böhm, F., Edge, R., Burke, M., & Truscott, T. G. (2001). Dietary uptake of lycopene protects human cells from singlet oxygen and nitrogen dioxide–ROS components from cigarette smoke. *Journal of Photochemistry and Photobiology B: Biology*, 64(2-3), 176-178.

- Brees, D. K., Hutchison, F. N., Cole, G. J., & Williams Jr, J. C. (1996). Differential effects of diabetes and glomerulonephritis on glomerular basement membrane composition. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 212(1), 69-77.
- Brees, D. K., Hutchison, F. N., Cole, G. J., & Williams Jr, J. C. (1996). Differential effects of diabetes and glomerulonephritis on glomerular basement membrane composition. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 212(1), 69-77.
- Brownlee, M. (2001). Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*, 414(6865), 813-820.
- Brunner, P. H., Capri, S., Marcomini, A., & Giger, W. (1988). Occurrence and behaviour of linear alkylbenzenesulphonates, nonylphenol, nonylphenol mono-and nonylphenol diethoxylates in sewage and sewage sludge treatment. *Water Research*, 22(12), 1465-1472.
- Bryden, M.M., Evans, H.E., & Binns, W. (1972). Embryology of the sheep. I. Extraembryonic membranes and the development of body form. *Journal of Morphology*, 138(2), 169-85.
- Büyükuslu, N. (2019). İştah-Doygunluk Metabolizmasını Etkileyen Faktörler. *Klinik Tıp Pediatri Dergisi*, 11(1), 22-28.
- Cadenas, E. (1996). Preface. Handbook of Antioxidants, Cadenas, E. and Packer, L.(eds), M.
- Cam, M., Yavuz, Ö., Güven, A., Ercan, F., Bukan, N., & Üstündağ, N. (2003). Protective effects of chronic melatonin treatment against renal injury in streptozotocin-induced diabetic rats. *Journal of pineal research*, 35(3), 212-220.
- Canene-Adams, K., Campbell, J. K., Zaripheh, S., Jeffery, E. H., & Erdman Jr, J. W. (2005). The tomato as a functional food. *The Journal of nutrition*, 135(5), 1226-1230.
- Cannon, W. B. (1932). Homeostasis. *The wisdom of the body*. Norton, Newyork.
- Capaldo, A., Gay, F., Valiante, S., De Falco, M., Sciarrillo, R., Maddaloni, M., & Laforgia, V. (2012). Endocrine-disrupting effects of nonylphenol in the newt, *Triturus carnifex* (Amphibia, Urodela). *Comparative Biochemistry and Physiology Part C: Toxicology & Pharmacology*, 155(2), 352-358.
- Carlson, B. M. (1996). *Patten's foundations of embryology* (p. 338). New York: McGraw-Hill.

- Carney, E. W., Hoberman, A. M., Farmer, D. R., Kapp Jr, R. W., Nikiforov, A. L., Bernstein, M., ... & Cagen, S. Z. (1997). Estrogen modulation: tiered testing for human hazard evaluation. *Reproductive toxicology*, 11(6), 879-892.
- Caseiro, M., Ascenso, A., Costa, A., Creagh-Flynn, J., Johnson, M., & Simões, S. (2020). Lycopene in human health. *Lwt*, 127, 109323.
- Cemek, K., Anar, B. C., Zenger, O., & Peşint, G. B. (2022). Gallik Asit Saflaştırılması için PHEMA Temelli Polimerik Partiküllerin Sentezlenmesi. *Artibilim: Adana Alparslan Türkeş Bilim ve Teknoloji Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi*, 5(1), 20-32.
- Cengiz, M., & Cengiz, S. (2014). Tip 2 diyabetli hastalarda C vitamini uygulamasının eritrosit glutasyon ve HbA1c düzeyleri üzerine etkisi. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 31(4).
- Cengizler, İ. (2020). Omurgalı Hayvanlarda Gastroenteropankreatik (GEP) Sisteme Bir Bakış.
- Ceylan, T., Akin, A. T., Karabulut, D., Tan, F. C., Taşkıran, M., & Yakan, B. (2023). Therapeutic effect of thymoquinone on brain damage caused by nonylphenol exposure in rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 37(11), e23471.
- Chen, M. L., Chang, C. C., Shen, Y. J., Hung, J. H., Guo, B. R., Chuang, H. Y., & Mao, I. F. (2008). Quantification of prenatal exposure and maternal-fetal transfer of nonylphenol. *Chemosphere*, 73(1), S239-S245.
- Chokwe, T. B., Okonkwo, J. O., & Sibali, L. L. (2017). Distribution, exposure pathways, sources and toxicity of nonylphenol and nonylphenol ethoxylates in the environment. *Water Sa*, 43(4), 529-542.
- Choubey, S., Varughese, L. R., Kumar, V., & Beniwal, V. (2015). Medicinal importance of gallic acid and its ester derivatives: a patent review. *Pharmaceutical patent analyst*, 4(4), 305-3
- Christiansen, T., Korsgaard, B., & Jespersen, Å. (1998). Induction of vitellogenin synthesis by nonylphenol and 17 β -estradiol and effects on the testicular structure in the eelpout *Zoarces viviparus*. *Marine Environmental Research*, 46(1-5), 141-144.
- Clinton, S. K. (1998). Lycopene: chemistry, biology, and implications for human health and disease. *Nutrition reviews*, 56(2), 35-51.

- Clinton, S. K., Emenhiser, C., Schwartz, S. J., Bostwick, D. G., Williams, A. W., Moore, B. J., & Erdman Jr, J. W. (1996). Cis-trans lycopene isomers, carotenoids, and retinol in the human prostate. *Cancer epidemiology, biomarkers & prevention: a publication of the American Association for Cancer Research, cosponsored by the American Society of Preventive Oncology*, 5(10), 823-833.
- Cook, J. C., Kaplan, A. M., Davis, L. G., & O'connor, J. C. (1997). Development of a Tier I screening battery for detecting endocrine-active compounds (EACs). *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 26(1), 60-68.
- Coşkun, H. (2013). Radyasyona bağlı gelişen özefajiti önlemede likopenin etkinliği.
- Coşkun, T. (2005). Fonksiyonel besinlerin sağlığımız üzerine etkileri. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi*, 48(1), 61-84.
- Cox, C. (2003). Nonyl Phenol And Related Chemicals. *Journal Of Pesticide Reform*, 16(1). (corrected 4/2003).
- Crisp ari, J., Larsen, J. C., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillette Jr, L. J., ... & Skakkebæk, N. E. (1996). Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environmental health perspectives*, 104(suppl 4), 741-803.
- Crisp, T. M., Clegg, E. D., Cooper, R. L., Wood, W. P., Anderson, D. G., Baetcke, K. P., ... & Patel, Y. M. (1998). Environmental endocrine disruption: an effects assessment and analysis. *Environmental health perspectives*, 106(suppl 1), 11-56.
- Çağlar, V. (2011). Multi-Dedektör bilgisayarlı tomografi ile pankreasta yaşa bağlı hacimsel değişikliklerin stereolojik yöntemle tespiti ve vücut kompozisyonu ile korelasyonu.
- Çağlar, V., Gönül, Y., & Songur, A. (2014). Pankreas Anatomisi ve Varyasyonları. *Uluslararası Klinik Araştırmalar Dergisi*, 2(2), 77-82.
- Çakır, H. K., Bayrakdar, A. N., Sarıoğlu, E., Öztürk, S., Güngördü, Ş., Kocabaş, K. S., & Eroğlu, O. (2023). Meme Kanseri Tedavisinde Potansiyel Bir Antineoplastik Ajan: Gallik Asit. *Osmangazi Tıp Dergisi*, 45(5), 834-843.
- Çelik, E., & Çelik, G. Y. (2007). Bitki uçucu yağlarının antimikrobiyal özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 5(2), 1-6.
- Çil, N., & Kabukçu, C. (2021). Vitamin D uygulamasının endometrium üzerine etkisi. *Pamukkale Medical Journal*, 14(1), 175-183.

- Darbre, P. D. (2006). Environmental oestrogens, cosmetics and breast cancer. *Best practice & research clinical endocrinology & metabolism*, 20(1), 121-143.
- Davies, K. J. (2016). Adaptive homeostasis. *Molecular aspects of medicine*, 49, 1-7.
- De Jager, C., Bornman, M. S., & Oosthuizen, J. M. C. (1999a). II. The effect of p-nonylphenol on the fertility potential of male rats after gestational, lactational and direct exposure. *Andrologia*, 31(2), 107-113.
- De Jager, C., Bornman, M. S., & Van der Horst, G. (1999b). I. The effect of p-nonylphenol, an environmental toxicant with oestrogenic properties, on fertility potential in adult male rats. *Andrologia*, 31(2), 99-106.
- De, A., De, A., Sharma, R., Suo, W., & Sharma, M. (2020). Sensitization of carboplatinum- and taxol-resistant high-grade serous ovarian cancer cells carrying p53, BRCA1/2 mutations by *Emblica officinalis* (Amla) via multiple targets. *Journal of Cancer*, 11(7), 1927.
- Dorniani, D., Saifullah, B., Barahuie, F., Arulselvan, P., Hussein, M. Z. B., Fakurazi, S., & Twyman, L. J. (2016). Graphene oxide-gallic acid nanodelivery system for cancer therapy. *Nanoscale research letters*, 11, 1-9.
- Dorović, J., Marković, J. M. D., Stepanić, V., Begović, N., Amić, D., & Marković, Z. (2014). Influence of different free radicals on scavenging potency of gallic acid. *Journal of molecular modeling*, 20, 1-9.
- Dyce, K. M., Sack, W. O., & Wensing, C. J. G. (1987). *Textbook of veterinary anatomy*. WB Saunders Co..
- Ekelund, R., Bergman, Å., Granmo, Å., & Berggren, M. (1990). Bioaccumulation of 4-nonylphenol in marine animals—a re-evaluation. *Environmental Pollution*, 64(2), 107-120.
- Elbe, H., Öztürk, F., Taşlıdere, E., Çetin, A., Doğan, Z., Avcı, S., & Türköz, Y. (2015). Wistar Albino Sıçanlarda Streptozotocin ile Oluşan Diyabetik Pankreas Hasarında Caffeic Acid Phenethyl Ester (Cape)'in Tedavi Edici Etkileri. *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi*, 2(1), 22-29.
- Epplé, A., & Brinn, J. E. (2012). *The comparative physiology of the pancreatic islets* (Vol. 21). Springer Science & Business Media.

- Ergün, S. S. (2013). Nonilfenol ve Bisfenol A'nın Sığırlarda Gamet Fizyolojisine Olan Etkileri.
- Ergün, S. S., Üstüner, B., Alçay, S., Sağırkaya, H., & Uğuz, C. (2014). The effects of nonylphenol on gamete physiology in bovine. *Journal of Applied Biological Sciences*, 8(2), 32-38.
- Erten, F. (2022). Likopenin Hücresel Etkileri. *Fen Bilimleri ve Matematikte Güncel Araştırmalar*, 1916.
- Eyiler, E., & Öztan, A. (2006). Et Ürünlerinde Domates Tozunun Antioksidan Etkisinin İncelenmesi, Türkiye 9. *Gıda Kongresi*, 165-168.
- Fernandes, F. H. A., & Salgado, H. R. N. (2016). Gallic acid: review of the methods of determination and quantification. *Critical reviews in analytical chemistry*, 46(3), 257-265.
- Freeny, P. C., Lavvson, T. C., & Putman, C. E. (1994). The pancreas textbook of diagnostic imaging.
- Furuta, M., Funabashi, T., Kawaguchi, M., Nakamura, T. J., Mitsushima, D., & Kimura, F. (2006). Effects of p-nonylphenol and 4-tert-octylphenol on the anterior pituitary functions in adult ovariectomized rats. *Neuroendocrinology*, 84(1), 14-20.
- Ganong, WF. (2001). Tıbbi Fizyoloji (Çev. Ed. Türk Fizyolojik Bilimler Derneği) 20. baskı. *Ankara: Nobel tıp kitabevleri*, 323-483.
- Gao, Q. T., Wong, Y. S., & Tam, N. F. (2017). Antioxidant responses of different microalgal species to nonylphenol-induced oxidative stress. *Journal of Applied Phycology*, 29, 1317-1329.
- Gärtner, C., Stahl, W., & Sies, H. (1997). Lycopene is more bioavailable from tomato paste than from fresh tomatoes. *The American journal of clinical nutrition*, 66(1), 116-122.
- Gesamp, G. (2016). Sources, fate and effects of microplastics in the marine environment: part two of a global assessment. *IMO London*, 220.
- Ghiaci, M., Kalbasi, R. J., & Abbaspour, A. (2007). Adsorption isotherms of non-ionic surfactants on Na-bentonite (Iran) and evaluation of thermodynamic parameters. *Colloids and Surfaces A: Physicochemical and Engineering Aspects*, 297(1-3), 105-113.

- Gong, Y., Wu, J., Huang, Y., Shen, S., & Han, X. (2009). Nonylphenol induces apoptosis in rat testicular Sertoli cells via endoplasmic reticulum stress. *Toxicology letters*, 186(2), 84-95.
- Gordon, M. H. (2001). The development of oxidative rancidity in foods. In *Antioxidants in food* (pp. 7-21). Woodhead Publishing.
- Gökmen, F. G. (2003). Sistematiik anatomi. *İzmir: Güven Kitabevi*, 97(8), 147.
- Göktepe, O., Önder, G. O., Çetindağ, E., Bitgen, N., Mat, O. C., Suna, P. A., ... & Yay, A. (2023). The effect of different doses of nonylphenol on the blood-testicular barrier integrity, hormone level, and DNA damage in the testes of rats. *Food and Chemical Toxicology*, 177, 113816.
- Gray, H., Standring, S., Ellis, H., & Berkovitz, B. K. B. (2008). Gray's anatomy: the anatomical basis of clinical practice. (No Title).
- Guyton, A. C., & Hall, J. E. (2006). Textbook of Medical Physiology. 11. baskı. *Pennsylvania: Insevier inc*, 961-976.
- Güleş, Ö., Kum, Ş., Yıldız, M., Boyacıoğlu, M., Ahmad, E., Naseer, Z., & Eren, Ü. (2019). Protective effect of coenzyme Q10 against bisphenol-A-induced toxicity in the rat testes. *Toxicology and Industrial Health*, 35(7), 466-481.
- Gürsoy, E., & Koptagel, E. (1977). *Embriyoloji Atlası*. Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Hadley, C. W., Miller, E. C., Schwartz, S. J., & Clinton, S. K. (2002). Tomatoes, lycopene, and prostate cancer: progress and promise. *Experimental Biology and Medicine*, 227(10), 869-880.
- Hale, R. C., Smith, C. L., de Fur, P. O., Harvey, E., Bush, E. O., La Guardia, M. J., & Vadas, G. G. (2000). Nonylphenols in sediments and effluents associated with diverse wastewater outfalls. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(4), 946-952.
- Han, X. D., Tu, Z. G., Gong, Y., Shen, S. N., Wang, X. Y., Kang, L. N., ... & Chen, J. X. (2004). The toxic effects of nonylphenol on the reproductive system of male rats. *Reproductive Toxicology*, 19(2), 215-221.

- Hasler, C. M. (2002). Functional foods: benefits, concerns and challenges—a position paper from the American Council on Science and Health. *The Journal of nutrition*, 132(12), 3772-3781.
- Hättenschwiler, S., & Vitousek, P. M. (2000). The role of polyphenols in terrestrial ecosystem nutrient cycling. *Trends in ecology & evolution*, 15(6), 238-243.
- He, Z., Chen, A. Y., Rojanasakul, Y., Rankin, G. O., & Chen, Y. C. (2016). Gallic acid, a phenolic compound, exerts anti-angiogenic effects via the PTEN/AKT/HIF-1 α /VEGF signaling pathway in ovarian cancer cells. *Oncology reports*, 35(1), 291-297.
- Hekimoğlu, A. (2010). Likopenin Antikarsinogenik Etki Mekanizmaları. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 25(1), 57-62.
- Ho, Y. S., Magnenat, J. L., Gargano, M., & Cao, J. (1998). The nature of antioxidant defense mechanisms: a lesson from transgenic studies. *Environmental health perspectives*, 106(suppl 5), 1219-1228.
- Holman, P. C., Hertog, M. G., & Katan, M. B. (1996). Analysis and health effects of flavonoids. *Food chemistry*, 57(1), 43-46.
- Houslay, M. D. (1992). ‘Crosstalk’: a pivotal role for protein kinase C in modulating relationships between signal transduction pathways. *EJB Reviews 1991*, 1-19.
- Huang, P. C., Kuo, P. L., Chou, Y. Y., Lin, S. J., & Lee, C. C. (2009). Association between prenatal exposure to phthalates and the health of newborns. *Environment International*, 35(1), 14-20.
- Huang, Q., Bu, L., Yang, T., Yang, Y., Huang, S., Yang, J., ... & Liu, C. (2019). Effects of nonylphenol administration on serum, liver and testis estrogen metabolism. *Chemosphere*, 235, 543-549.
- Hussein, R. M., Anwar, M. M., Farghaly, H. S., & Kandeil, M. A. (2020). Gallic acid and ferulic acid protect the liver from thioacetamide-induced fibrosis in rats via differential expression of miR-21, miR-30 and miR-200 and impact on TGF- β 1/Smad3 signaling. *Chemico-biological interactions*, 324, 109098.
- Imran, M., Ghorat, F., Ul-Haq, I., Ur-Rehman, H., Aslam, F., Heydari, M., ... & Rebezov, M. (2020). Lycopene as a natural antioxidant used to prevent human health disorders. *Antioxidants*, 9(8), 706.

- Isaacson, T., Ronen, G., Zamir, D., & Hirschberg, J. (2002). Cloning of tangerine from tomato reveals a carotenoid isomerase essential for the production of β -carotene and xanthophylls in plants. *The Plant Cell*, 14(2), 333-342.
- İmamoğlu, Ş. (2009). Pankreasın Anatomi ve Fizyolojisi. *Editörler: Prof. Dr. Şazi İmamoğlu Prof. Dr. Canan Özyardımcı Ersoy*, 21.
- İşcan, M., Togan, İ. Z., Severcan, F., Uğuz, C., & Ergüven, A. (2005). Sakarya Nehri ve Değirmenderesi'nde alkilfenol kirliliği ve nonilfenolün alabalıklar (Onchoryncus mykiss) üzerine etkileri.
- Jacobsen, P. R., Christiansen, S., Boberg, J., Nellemann, C., & Hass, U. (2010). Combined exposure to endocrine disrupting pesticides impairs parturition, causes pup mortality and affects sexual differentiation in rats. *International Journal of Andrology*, 33(2), 434-442.
- Jang, A., Srinivasan, P., Lee, N. Y., Song, H. P., Lee, J. W., Lee, M., & Jo, C. (2008). Comparison of hypolipidemic activity of synthetic gallic acid–linoleic acid ester with mixture of gallic acid and linoleic acid, gallic acid, and linoleic acid on high-fat diet induced obesity in C57BL/6 Cr Slc mice. *Chemico-Biological Interactions*, 174(2), 109-117.
- Jie, Y., Xuefeng, Y., Mengxue, Y., Xuesong, Y., Jing, Y., Yin, T., & Jie, X. (2016). Mechanism of nonylphenol-induced neurotoxicity in F 1 rats during sexual maturity. *Wiener Klinische Wochenschrift*, 128, 426-434.
- John, D. M., House, W. A., & White, G. F. (2000). Environmental fate of nonylphenol ethoxylates: differential adsorption of homologs to components of river sediment. *Environmental Toxicology and Chemistry: An International Journal*, 19(2), 293-300.
- Jouvet, N., & Estall, J. L. (2017). The pancreas: Bandmaster of glucose homeostasis. *Experimental cell research*, 360(1), 19-23.
- Jubendradass, R., D'cruz, S. C., & Mathur, P. P. (2012b). Long-term exposure to nonylphenol affects insulin signaling in the liver of adult male rats. *Human & experimental toxicology*, 31(9), 868-876.

- Jubendradass, R., D'Cruz, S. C., Rani, S. J. A., & Mathur, P. P. (2012a). Nonylphenol induces apoptosis via mitochondria-and Fas-L-mediated pathways in the liver of adult male rat. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 62(3), 405-411.
- Jubendradass, R., D'Cruz, S. C., & Mathur, P. P. (2011). Short-term exposure to nonylphenol induces pancreatic oxidative stress and alters liver glucose metabolism in adult female rats. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*, 25(2), 77-83.
- Junqueira, L., & Carneiro, J. (2006). *Temel Histoloji* (Editörler). Nobel Tıp Kitabevleri, 328-331.
- Kahkeshani, N., Farzaei, F., Fotouhi, M., Alavi, S. S., Bahramsoltani, R., Naseri, R., ... & Bishayee, A. (2019). Pharmacological effects of gallic acid in health and diseases: A mechanistic review. *Iranian journal of basic medical sciences*, 22(3), 225.
- Karamanou, M., Protogerou, A., Tsoucalas, G., Androutsos, G., & Poulakou-Rebelakou, E. (2016). Milestones in the history of diabetes mellitus: The main contributors. *World journal of diabetes*, 7(1), 1.
- Karacı, A., Arslan-Alaton, I., Bekbolet, M., Ozhan, G., & Alpertunga, B. (2014). H₂O₂/UV-C and Photo-Fenton treatment of a nonylphenol polyethoxylate in synthetic freshwater: Follow-up of degradation products, acute toxicity and genotoxicity. *Chemical Engineering Journal*, 241, 43-51.
- Kasapçopur Özel, G. S., & Birdane, Y. O. (2014). Antioksidanlar.
- Kawamura, Y., Ogawa, Y., & Mutsuga, M. (2017). Migration of nonylphenol and plasticizers from polyvinyl chloride stretch film into food simulants, rapeseed oil, and foods. *Food Science & Nutrition*, 5(3), 390-398.
- Kayalı, H. (1977). *İnsan Embriyolojisi*. Güven Kitapevi.
- Kazemi, S., Feizi, F., Aghapour, F., Joorsaraee, G. A., & Moghadamnia, A. A. (2016). Histopathology and histomorphometric investigation of bisphenol A and nonylphenol on the male rat reproductive system. *North American journal of medical sciences*, 8(5), 215.
- Ketani, M. A., Kadiroğlu, B., & Karakoç, Z. (2015). Deneysel Diyabet Oluşturulan Sıçanlarda Böbreklerin Histolojik Olarak Değerlendirilmesi. *Dicle Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, (2), 30-37.

- Khachik, F., Carvalho, L., Bernstein, P. S., Muir, G. J., Zhao, D. Y., & Katz, N. B. (2002). Chemistry, distribution, and metabolism of tomato carotenoids and their impact on human health. *Experimental biology and medicine*, 227(10), 845-851.
- Khan, U. M., Sevindik, M., Zarrabi, A., Nami, M., Ozdemir, B., Kaplan, D. N., ... & Sharifi-Rad, J. (2021). Lycopene: Food sources, biological activities, and human health benefits. *Oxidative medicine and cellular longevity*, 2021.
- Kıdeys, A. E., Salihoğlu, B., Eraslan, D., Emre, Y., & Jovanovic, B. (2018). Türkiye'nin Akdeniz Sahillerinde Mikro-Plastik Kompozisyonu ve Miktarının Belirlenmesi; Mikro Plastiklerin Deniz Ürünlerinde Olası Biyolojik Birikimi.
- Kılıç, Ü., Çam, M., Güven, A., & Erbaş, M. (2017). Streptozotosinle indüklenen diabetik ratlarda ginkgo biloba (egb 761) ekstrelerinin nefropati üzerine etkileri. *Düzce Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 7(2), 82-88.
- Kılıç, P. A., & Doğan, A. (2020). Akrilamidin İn-vivo Genotoksitesisi Üzerine Fenolik Bileşiklerden Pelargonidin ve Gallik Asidin Etkileri. *Caucasian Journal of Science*, 7(1), 9-27.
- Kirchhof, M., Popat, N., & Malowany, J. (2008). A historical perspective of the diagnosis of diabetes. *UWOMJ*, 78(1), 7-11.
- Kofler, S., Nickel, T., & Weis, M. (2005). Role of cytokines in cardiovascular diseases: a focus on endothelial responses to inflammation. *Clinical science*, 108(3), 205-213.
- Korkmaz, A., Ahbab, M. A., Kolankaya, D., & Barlas, N. (2010). Influence of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced oxidative damages in liver of male rats. *Food and Chemical Toxicology*, 48(10), 2865-2871.
- Korkmaz, A., Aydoğan, M., Kolankaya, D., & Barlas, N. (2011). Vitamin C coadministration augments bisphenol A, nonylphenol, and octylphenol induced oxidative damage on kidney of rats. *Environmental toxicology*, 26(4), 325-337.
- Krupiński, M., Janicki, T., Pałecz, B., & Długoński, J. (2014). Biodegradation and utilization of 4-n-nonylphenol by *Aspergillus versicolor* as a sole carbon and energy source. *Journal of hazardous materials*, 280, 678-684.

- Kudo, C., Wada, K., Masuda, T., Yonemura, T., Shibuya, A., Fujimoto, Y., ... & Kamisaki, Y. (2004). Nonylphenol induces the death of neural stem cells due to activation of the caspase cascade and regulation of the cell cycle. *Journal of neurochemistry*, 88(6), 1416-1423.
- Kwack, S. J., Kwon, O., Kim, H. S., Kim, S. S., Kim, S. H., Sohn, K. H., ... & Park, K. L. (2002). Comparative evaluation of alkylphenolic compounds on estrogenic activity in vitro and in vivo. *Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*, 65(5-6), 419-431.
- Lagos-Cabré, R., & Moreno, R. D. (2012). Contribution of environmental pollutants to male infertility: a working model of germ cell apoptosis induced by plasticizers. *Biological research*, 45(1), 5-14.
- Latshaw, W. K. (1987). *Veterinary developmental anatomy. A clinically orientated approach*. BC Decker Inc., 3228 South Service Road.
- Lee, B. H., Lee, C. C., Cheng, Y. H., Chang, W. C., Hsu, W. H., & Wu, S. C. (2013). Graptopetalum paraguayense and resveratrol ameliorates carboxymethyllysine (CML)-induced pancreas dysfunction and hyperglycemia. *Food and chemical toxicology*, 62, 492-498.
- Lehmann, R., & Schleicher, E. D. (2000). Molecular mechanism of diabetic nephropathy. *Clinica chimica acta*, 297(1-2), 135-144.
- Li, X., Zhou, L., Ni, Y., Wang, A., Hu, M., Lin, Y., ... & Tian, H. (2017). Nonylphenol induces pancreatic damage in rats through mitochondrial dysfunction and oxidative stress. *Toxicology research*, 6(3), 353-360.
- Liao, C. C., Chen, S. C., Huang, H. P., & Wang, C. J. (2018). Gallic acid inhibits bladder cancer cell proliferation and migration via regulating fatty acid synthase (FAS). *Journal of food and drug analysis*, 26(2), 620-627.
- Lima, L. G. (1968). *Manual of histological staining methods of the Armed Forces Institute of Pathology*. McGraw-Hill Book Company.
- Liu, X., Zou, H., Slaughter, C., & Wang, X. (1997). DFF, a heterodimeric protein that functions downstream of caspase-3 to trigger DNA fragmentation during apoptosis. *Cell*, 89(2), 175-184.

- Liu, Z., Li, D., Yu, L., & Niu, F. (2012). Gallic acid as a cancer-selective agent induces apoptosis in pancreatic cancer cells. *Chemotherapy*, 58(3), 185-194.15.
- Lyons, R., Van de Bittner, K., & Morgan-Jones, S. (2014). Deposition patterns and transport mechanisms for the endocrine disruptor 4-nonylphenol across the Sierra Nevada Mountains, California. *Environmental Pollution*, 195, 123-132.
- Mao, Z., Zheng, X. F., Zhang, Y. Q., Tao, X. X., Li, Y., & Wang, W. (2012). Occurrence and biodegradation of nonylphenol in the environment. *International journal of molecular sciences*, 13(1), 491-505.
- Maskar, Ü. (1982). *Embriyoloji Ders Kitabı*. AR.
- McClain, R. M., & Bausch, J. (2003). Summary of safety studies conducted with synthetic lycopene. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 37(2), 274-285.
- Mehtonen, J., Munne, P. (2011). Measures for emission reduction of nonylphenol (NP) and nonylphenol ethoxylates (NPE) in the Baltic sea area. *Cohiba Guidance Document*, 6: 5-7.
- Moore, K. L. (1983). Discover Islam, The Developing Human, Clinicolly Oriented Embryology.
- Moore, K. L., & Dalley, A. F. (2018). *Clinically oriented anatomy*. Wolters kluwer india Pvt Ltd.
- Mortelé, K. J., Rocha, T. C., Streeter, J. L., & Taylor, A. J. (2006). Multimodality imaging of pancreatic and biliary congenital anomalies. *Radiographics*, 26(3), 715-731.
- Muhammad, N., Steele, R., Isbell, T. S., Philips, N., & Ray, R. B. (2017). Bitter melon extract inhibits breast cancer growth in preclinical model by inducing autophagic cell death. *Oncotarget*, 8(39), 66226.
- Naksuriya, O., & Okonogi, S. (2015). Comparison and combination effects on antioxidant power of curcumin with gallic acid, ascorbic acid, and xanthone. *Drug discoveries & therapeutics*, 9(2), 136-141.
- Narisawa, T., Fukaura, Y., Hasebe, M., Nomura, S., Oshima, S., Sakamoto, H., ... & Nishino, H. (1998). Prevention of N-methylnitrosourea-induced colon carcinogenesis in F344 rats by lycopene and tomato juice rich in lycopene. *Japanese journal of cancer research*, 89(10), 1003-1008.

- Nguyen, M. L. (1999). Lycopene: chemical and biological properties. *Food Technol.*, 53, 38-45.
- Nimrod, A. C., & Benson, W. H. (1996). Environmental estrogenic effects of alkylphenol ethoxylates. *Critical reviews in toxicology*, 26(3), 335-364.
- Nur, İ. H., & Yoldaş, A. (2000). Pankreas' in morfolojik gelişimi. *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 6(1-2), 148-157.
- Olmsted, J. M. D., & Olmsted, E. H. (1952). Claude Bernard and the experimental method in medicine. (*No Title*).
- Omoni, A. O., & Aluko, R. E. (2005). The anti-carcinogenic and anti-atherogenic effects of lycopene: a review. *Trends in Food Science & Technology*, 16(8), 344-350.
- Özaydın, T., Öznurlu, Y., Sur, E., Çelik, I., Uluişik, D., & Dayan, M. O. (2018). Effects of bisphenol A on antioxidant system and lipid profile in rats. *Biotechnic & Histochemistry*, 93(4), 231-238.
- Öztürk, F., Iraz, M., Eşrefoğlu, M., Kuruş, M., Gül, M., & Otlu, A. (2005). Deneysel Diyabetin Sıçan Böbreklerinde Meydana Getirdiği Histolojik Değişiklikler+. *Journal of Turgut Ozal Medical Center*, 12(1), 1-4.
- Öztürk, Z. (2018). Diyabet, Oksidatif Stres ve Endotel Disfonksiyonu. *Bezmialem Science*, 6(4).
- Padma, V. V., Sowmya, P., Felix, T. A., Baskaran, R., & Poornima, P. (2011). Protective effect of gallic acid against lindane induced toxicity in experimental rats. *Food and Chemical Toxicology*, 49(4), 991-998.
- Pal, S. M., Avneet, G., & Siddhraj, S. S. (2018). Gallic acid: Pharmacological promising lead molecule: A review. *Int. J. Pharmacogn. Phytochem. Res*, 10(4), 132-138.
- Palozza, P. (1998). Prooxidant actions of carotenoids in biologic systems. *Nutrition reviews*, 56(9), 257-265.
- Patel, S. S., & Goyal, R. K. (2011). Cardioprotective effects of gallic acid in diabetes-induced myocardial dysfunction in rats. *Pharmacognosy research*, 3(4), 239.
- Pengelly, A. (2020). *The constituents of medicinal plants: an introduction to the chemistry and therapeutics of herbal medicine*. Routledge.

- Pokorny, J. (2007). Antioxidants in food preservation. In *Handbook of food preservation* (pp. 277-304). CRC press.
- Raecker, T., Thiele, B., Boehme, R. M., & Guenther, K. (2011). Endocrine disrupting nonyl- and octylphenol in infant food in Germany: considerable daily intake of nonylphenol for babies. *Chemosphere*, 82(11), 1533-1540.
- Rao, A. V., & Agarwal, S. (1999). Role of lycopene as antioxidant carotenoid in the prevention of chronic diseases: a review. *Nutrition research*, 19(2), 305-323.
- Reeves, W. B., & Andreoli, T. E. (2000). Transforming growth factor β contributes to progressive diabetic nephropathy. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 97(14), 7667-7669.
- Ren, L., Marquardt, M. A., & Lech, J. J. (1997). Estrogenic effects of nonylphenol on pS2, ER and MUC1 gene expression in human breast cancer cells-MCF-7. *Chemico-biological interactions*, 104(1), 55-64.
- Rodolfo, K. (2000). What is homeostasis. *Scientific American*, 11.
- Ropero, A. B., Alonso-Magdalena, P., Garcia-Garcia, E., Ripoll, C., Fuentes, E., & Nadal, A. (2008). Bisphenol-A disruption of the endocrine pancreas and blood glucose homeostasis. *International journal of andrology*, 31(2), 194-200.
- Rudel, R. A., & Perovich, L. J. (2009). Endocrine disrupting chemicals in indoor and outdoor air. *Atmospheric Environment*, 43(1), 170-181.
- Sabbağ, Ç., & Sürücüoğlu, M. S. (2011). likopen: insan sağlığında vazgeçilmez bir bileşen. *Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi*, 6(3), 27-41.
- Sadler, T. W. (2022). *Langman's medical embryology*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Saka, N. (2002). *Diabetes Mellitus* (O. Neyzi & T. Ertuğrul, Eds.; 3rd ed.). İstanbul: Nobel Tıp Kitabevi.
- Sapmaz, T., Başol, K., Şevgin, K., & Topkaraoğlu, S. (2023). Ratlarda Over Transplantasyonunda Gallik Asit ve Kurkuminin Akciğer Histolojisi Üzerindeki Etkileri. *Firat Universitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi*, 37(1).
- Sarı, U., Afşin, Y., Özdemir, İ., Özçelik, S. M., & Öztürk, Ş. (2023). Gallik Asidin Rahim Ağzı Kanseri Hücre Hattına (HeLa) Karşı Antikanser Etkisi. *Dicle Tıp Dergisi*, 365-373.

- Savaş, H. B., & Gültekin, F. (2017). İnsülin direnci ve klinik önemi. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 24(3), 116-125.
- Scalfi, L., Fogliano, V., Pentangelo, A., Graziani, G., Giordano, I., & Ritieni, A. (2000). Antioxidant activity and general fruit characteristics in different ecotypes of Corbarini small tomatoes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 48(4), 1363-1366.
- Schieber, A., & Carle, R. (2005). Occurrence of carotenoid cis-isomers in food: Technological, analytical, and nutritional implications. *Trends in Food Science & Technology*, 16(9), 416-422.
- Seike, N., Wanibuchi, H., Morimura, K., Wei, M., Nishikawa, T., Hirata, K., ... & Fukushima, S. (2003). Enhancement of lung carcinogenesis by nonylphenol and genistein in a F344 rat multiorgan carcinogenesis model. *Cancer letters*, 192(1), 25-36.
- Severn, C. B. (1971). A morphological study of the development of the human liver. I. Development of the hepatic diverticulum. *American Journal of Anatomy*, 131(2), 133-158.
- Shan, J., Jiang, B., Yu, B., Li, C., Sun, Y., Guo, H., ... & Ji, R. (2011). Isomer-specific degradation of branched and linear 4-nonylphenol isomers in an oxic soil. *Environmental science & technology*, 45(19), 8283-8289.
- Shang, D. Y., Macdonald, R. W., & Ikonomou, M. G. (1999). Persistence of nonylphenol ethoxylate surfactants and their primary degradation products in sediments from near a municipal outfall in the Strait of Georgia, British Columbia, Canada. *Environmental Science & Technology*, 33(9), 1366-1372.
- Sharma, V. K., Anquandah, G. A., Yngard, R. A., Kim, H., Fekete, J., Bouzek, K., ... & Golovko, D. (2009). Nonylphenol, octylphenol, and bisphenol-A in the aquatic environment: a review on occurrence, fate, and treatment. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 44(5), 423-442.
- Sherwood, L. (2011). *Fundamentals of human physiology*. Cengage Learning.
- Sheweita, S. A., Almasari, A. A., & El-Banna, S. G. (2018). Tramadol-induced hepato-and nephrotoxicity in rats: Role of Curcumin and Gallic acid as antioxidants. *PLoS One*, 13(8), e0202110.
- Shi, J. y Le Maguer, M.(2000). Lycopene in tomatoes: Chemical and physical properties affected by food processing. *Critical Reviews in Biotechnology*, 20(4), 293-334.

- Singh, L. P., & Crook, E. D. (2000). Hexosamine regulation of glucose-mediated laminin synthesis in mesangial cells involves protein kinases A and C. *American Journal of Physiology-Renal Physiology*, 279(4), F646-F654.
- Skandalakis, J. E., Skandalakis, P. N., & Skandalakis, L. J. (2000). Surgical anatomy and technique. *CHIRURG*, 71(8), 954-971.
- Snell, R. S. (2011). *Clinical anatomy by regions*. Lippincott Williams & Wilkins.
- Soares, A., Guieysse, B., Jefferson, B., Cartmell, E., & Lester, J. N. (2008). Nonylphenol in the environment: a critical review on occurrence, fate, toxicity and treatment in wastewaters. *Environment international*, 34(7), 1033-1049.
- Sohrabi, F., Dianat, M., Badavi, M., Radan, M., & Mard, S. A. (2020). Does gallic acid improve cardiac function by attenuation of oxidative stress and inflammation in an elastase-induced lung injury?. *Iranian Journal of Basic Medical Sciences*, 23(9), 1130.
- Song, L., Xia, W., Zhou, Z., Li, Y., Lin, Y., Wei, J., ... & Xu, S. (2012). Low-level phenolic estrogen pollutants impair islet morphology and-cell function in isolated rat islets. *Journal of Endocrinology*, 215(2), 303.
- Songur, A., Çağlar, V., Gönül, Y., & Özen, O. A. (2009). Gallbladder And Biliary Tract Anatomy. Safrakesesi ve safra yolları anatomisi. *Journal Of Surgical Arts/Cerrahi Sanatlar Dergisi*, 2(2), 12-19.
- Sourani, Z., Pourgheysari, B., Beshkar, P., Shirzad, H., & Shirzad, M. (2016). Gallic acid inhibits proliferation and induces apoptosis in lymphoblastic leukemia cell line (C121). *Iranian journal of medical sciences*, 41(6), 525.
- Stahl, W., & Sies, H. (1992). Uptake of lycopene and its geometrical isomers is greater from heat-processed than from unprocessed tomato juice in humans. *The Journal of nutrition*, 122(11), 2161-2166.
- Suttie, A. W., Masson, R., & Schutten, M. (2018). Exocrine pancreas. In *Boorman's Pathology of the Rat* (pp. 107-122). Academic Press.
- Şahin Akkelle, B., & Tutar, E. (2022). Pankreas fizyolojisi ve fonksiyonları. B. Özkan, *İzmir Behçet Uz Çocuk Hastanesi Pediatri*: (s. 885-887), Ankara: Nobel Tıp Kitabevi
- Şahin, K., Orhan, C., Şahin, N., & Küçük, O. (2019). Anticancer properties of lycopene. *Bioactive molecules in food*, 935-969.

- Şahin, P. *Alkolik Olmayan Yağlı Pankreasta Ekzokrin Fonksiyonların İncelenmesi İçin Hayvan Modeli Oluşturma Çalışması*. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, 2022.
- Talsness, C. E., Andrade, A. J., Kuriyama, S. N., Taylor, J. A., & Vom Saal, F. S. (2009). Components of plastic: experimental studies in animals and relevance for human health. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 364(1526), 2079-2096.
- Tamilselvan, P., Langeswaran, K., Revathy, R., Kumar, B. L., & Balasubramanian, M. P. (2014). Lycopene, a carotenoid antioxidant against Bisphenol A (BPA) motivated experimental male infertility. *Journal of Biomedical and Therapeutic Sciences*, 1(1), 41-47.
- Tao, S., Yang, Y., Fan, Y., Chu, K., Sun, J., Wu, Q., ... & Tian, H. (2022). Melatonin protects against nonylphenol caused pancreatic β -cells damage through MDM2-P53-P21 axis. *Toxicology Research*, 11(3), 391-401.
- Tawfik, E. M. (2002). Lycopene content in raw tomato varieties and tomato products. *Food and Nutrition Division, California State University*.
- Toppari, J., Larsen, J. C., Christiansen, P., Giwercman, A., Grandjean, P., Guillette Jr, L. J., ... & Skakkebaek, N. E. (1996). Male reproductive health and environmental xenoestrogens. *Environmental health perspectives*, 104(suppl 4), 741-803.
- Tsang, A. H., Astiz, M., Friedrichs, M., & Oster, H. (2016). Endocrine regulation of circadian physiology. *J endocrinol*, 230(1), R1-R11.
- Türkmen, R., & Özdemir, M. (2015). Klorprifos-Etil uygulanan diyabetli ratlarda likopenin antioksidan ve hipoglisemik etkilerinin araştırılması.
- Uğuz, C., Togan, I., Eroğlu, Y., Tabak, I., Zengin, M., & İşcan, M. (2003). Alkylphenol concentrations in two rivers of Turkey. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 14(1-2), 87-88.
- Umadevi, S., Gopi, V., & Elangovan, V. (2014). Regulatory mechanism of gallic acid against advanced glycation end products induced cardiac remodeling in experimental rats. *Chemico-biological interactions*, 208, 28-36.
- Unlu, N. Z., Bohn, T., Clinton, S. K., & Schwartz, S. J. (2005). Carotenoid absorption from salad and salsa by humans is enhanced by the addition of avocado or avocado oil. *The Journal of nutrition*, 135(3), 431-436.

- Urriola-Muñoz, P., Li, X., Maretzky, T., McIlwain, D. R., Mak, T. W., Reyes, J. G., ... & Moreno, R. D. (2018). The xenoestrogens biphenol-A and nonylphenol differentially regulate metalloprotease-mediated shedding of EGFR ligands. *Journal of cellular physiology*, 233(3), 2247-2256.
- Usman, A. (1973). Şeker Hastalığı, Tanımı ve Tedavisi. *Beslenme ve Diyet Dergisi*, 2(2), 77-96.
- Ünal, E. D. (2021). *Karnosik asit ve gallik asitin PANC-1 pankreas hücrelerinde HNF1A geni üzerine sitotoksik etkilerinin karşılaştırmalı olarak incelenmesi* (Master's thesis, Kocaeli Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü).
- Üstündağ, Ü. V. (2021). *Farklı Dalga Boylarında Işık Yayan Diyotların Pankreas Gelişimi ve Beta Hücre Fonksiyonları Üzerine Etkileri* (Doctoral dissertation, Marmara Üniversitesi (Turkey)).
- Venghaus, D., & Barjenbruch, M. (2017). Microplastics in urban water management. *Technical Transactions*, 114(1), 137-146.
- Voutilainen, S., Nurmi, T., Mursu, J., & Rissanen, T. H. (2006). Carotenoids and cardiovascular health. *The American journal of clinical nutrition*, 83(6), 1265-1271.
- Warhurst, A. M. (1995). An environmental assessment of alkylphenol ethoxylates and alkylphenols. *Friends of the Earth*.
- Widmaier, E., Raff, H., & Strang, K. T. (2022). *Vander's human physiology*. McGraw-Hill US Higher Ed USE.
- Woods, S. C., Lutz, T. A., Geary, N., & Langhans, W. (2006). Pancreatic signals controlling food intake; insulin, glucagon and amylin. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 361(1471), 1219-1235.
- World Health Organization. (1999). *Definition, diagnosis and classification of diabetes mellitus and its complications: report of a WHO consultation. Part 1, Diagnosis and classification of diabetes mellitus* (No. WHO/NCD/NCS/99.2). World health organization.
- Xi, Y., Li, D., & San, W. (2013). Exposure to the endocrine disruptor nonylphenol alters structure and function of thyroid gland in rats. *Regulatory Peptides*, 185, 52-56.

- Yalçın, B., Önder, G. O., Göktepe, O., Suna, P. A., Mat, O. C., Köseoğlu, E., ... & Yay, A. (2024). Enhanced kidney damage induced by increasing nonylphenol doses: impact on autophagy-related proteins and proinflammatory cytokines in rats. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 34(8), 867-876.
- Yao, G., Hu, Y., Liang, J., & Hou, Y. (2005). Nonylphenol-induced thymocyte apoptosis is related to Fas/FasL pathway. *Life sciences*, 77(26), 3306-3320.
- Yeşilkaya, E. (2008). Endokrin bozucular. *Güncel Pediatri*, 6(4), 76-82.
- Yıldız, M., Güleş, Ö., Sandıkçı, M., & Kum, Ş. (2020). Sıçanlarda bisfenol A'nın neden olduğu pankreatik değişimler üzerine koenzim Q10'un etkileri. *Harran Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17(3), 335-341.
- Yılmaz, G., Eren, Ü., Güleş, Ö., & Boyacıoğlu, M. (2025). Investigation of the Effects of Selenium Against 4-Nonylphenol-induced Toxicity in Rat Testis. *Biological Trace Element Research*, 1-15.
- Yu, J., Yang, J., Luo, Y., Mengxue, Y., Li, W., Yang, Y., ... & Xu, J. (2018). The adverse effects of chronic low-dose exposure to nonylphenol on type 2 diabetes mellitus in high sucrose-high fat diet-treated rats. *Islets*, 10(1), 1-9.
- Yurtsever, M. (2015). Mikroplastikler'e genel bir bakış. *Dokuz Eylül Üniversitesi Mühendislik Fakültesi Fen ve Mühendislik Dergisi*, 17(50), 68-83.
- Yücedağ, F., Okur, E., Uğuz, C., Zemheri, F., Kuzu, S., Ayçiçek, A., & Kemal Kahveci, O. (2014). The Effects of Nonylphenol on Hearing in Rats. *Journal of International Advanced Otology*, 10(1).
- Zechmeister, L., & Polgar, A. (1944). Cis—trans isomerization and cis-peak effect in the α -carotene set and in some other stereoisomeric sets. *Journal of the American Chemical Society*, 66(1), 137-144.
- Zemheri, F., & Uğuz, C., (2018). Endokrin bozucu kimyasallar: Nonilfenol ve Bisfenol A. *Marmara Fen Bilimleri Dergisi*, 30(1), 71-76.
- Zengin, F., & Kurt, Ş. (2018). Likopen ve likopenin insan sağlığı açısından önemi.
- Zhang, Y., Maier, W. J., & Miller, R. M. (1997). Effect of rhamnolipids on the dissolution, bioavailability, and biodegradation of phenanthrene. *Environmental science & technology*, 31(8), 2211-2217.

EKLER

Ek 1: Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu (Adü-Hadyek) Onayı



T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
HAYVAN DENEYLERİ YEREL ETİK KURULU
(AYDIN ADÜ-HADYEK)

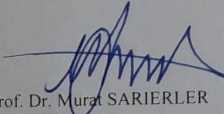


Aydın 24/08/2023

Oturum	: Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu 2023 Yılı VIII. Oturum
Sayı	: 64583101/2023/132
Proje Başlığı	: 4-Nonilfenolün rat pankreasında oluşturduğu toksikasyona karşı gallik asit ve likopenin koruyucu etkileri.
Proje Yürütücüsü	: Şadiye KUM
Proje Ekibi	: Serkan MENDERES

Hayvan Çalışması	Bu çalışmanın hiçbir bölümünde
	İnsan embriyosu ve fötüsü kullanılması
	İnsan embriyosu ve fötüsü dokularının kullanılması
	Diğer insan doku ve hücrelerinin kullanılması
	İnsanlarda araştırma
	İnsan olmayan primatların kullanılması
	Transgenik hayvanların kullanılması
	Hayvanlarda genetik modifikasyon öngörülmemiştir.

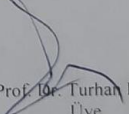
Bu çalışmanın yapılmasında etik açıdan bir sakınca bulunmamaktadır.



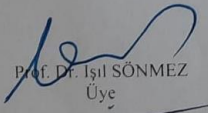
Prof. Dr. Murat SARIERLER
Başkan



Prof. Dr. M. Dinçer BİLGİN
Başkan Yardımcısı



Prof. Dr. Turhan DOST
Üye

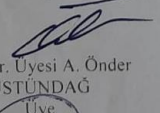


Prof. Dr. Işıl SÖNMEZ
Üye

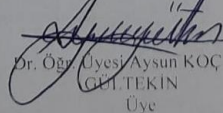


Prof. Dr. Serkan BAKIRCI
Üye

(Yıllık İzinli)
Dr. Öğr. Üyesi Solmaz KARAARSLAN
Üye

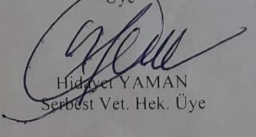


Dr. Öğr. Üyesi A. Önder ÜSTÜNDAĞ
Üye

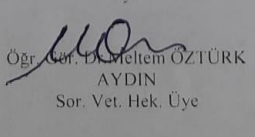


Dr. Öğr. Üyesi Aysun KOÇ
Üye

Dr. Öğr. Üyesi Asude Gülce ORYAŞIN
Sor. Vet. Hek. Üye



Hidayet YAMAN
Serbest Vet. Hek. Üye



Öğr. Gör. Dr. Meltem ÖZTÜRK
AYDIN
Sor. Vet. Hek. Üye

Şenay TEKİNBAS
HAYTAP Üye.

Bu rapor, sadece Adnan Menderes Üniversitesi'nde yapılacak çalışmalar için geçerlidir.

T.C.
AYDIN ADNAN MENDERES ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİLİMSEL ETİK BEYANI

“Rat Pankreasında 4-Nonilfenol Toksikasyonuna Karşı Gallik Asit ve Likopenin Koruyucu Etkisinin Araştırılması” başlıklı Yüksek Lisans tezimdeki bütün bilgileri etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada, bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiz atıf yaptığımı bildiririm. İfade ettiklerimin aksi ortaya çıktığında ise her türlü yasal sonucu kabul ettiğimi beyan ederim.

.....

Serkan MENDERES

14 / 07 / 2025

ÖZ GEÇMİŞ

Soyadı, Adı : MENDERES Serkan
Uyruk : T.C.
Doğum Yeri ve Tarihi : Bozdoğan / 26.02.1980
Yabancı Dil : : İngilizce

EĞİTİM

Derece	Kurum	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı	2022-2025
Lisans + Tezsiz Yüksek Lisans	Selçuk Üniversitesi Eğitim Fakültesi Biyoloji Öğretmenliği Bölümü	1998-2003

PROJELER

Proje Adı	Kurum	Bütçe	Tarih	Görev	Proje Türü
Rat pankreasında 4 -NF toksikasyonuna karşı likopen ve gallik asidin koruyucu etkisinin araştırılması.	Aydın Adnan Menderes Üniversitesi	40.000	21/03/2025	Araştırmacı	BAP

İŞ DENEYİMİ

Yıl	Kurum	Ünvan
2003-2004	Örencik İlkokulu	Sınıf Öğretmeni
2006-2016	Emniyet Genel Müdürlüğü	Polis Memuru
2016-2019	Viranşehir Yunus Emre Anadolu Lisesi	Biyoloji Öğretmeni
2019-2025	Dinar Yavuz Sultan Selim Anadolu Lisesi	Biyoloji Öğretmeni