

Bisfenol Türevleri Daha Güvenli mi? -Bisfenol F ve Bisfenol S'in Toksik Etkileri-

Ünzile SUR^{*,**}, Didem ORAL^{*}, Pınar ERKEKOĞLU^{*}, Belma KOÇER-GÜMÜŞEL^{*,°}

Are Bisphenol Derivatives Safe?

-Toxic Effects of Bisphenol F and Bisphenol S-

SUMMARY

Bisphenols are chemical compounds that contain two hydroxyphenyl functional groups. They are named according to their reactant groups. For instance, bisphenol A (BPA) has acetone as a reactant group, while bisphenol F (BPF) has a formaldehyde reactant group and bisphenol S (BPS) includes a sulfur trioxide reactant group. These substances are used to harden polycarbonate. BPA is a key monomer in production of epoxy resins. Due to its high production volumes and widespread use, BPA is the mostly studied bisphenol analogue and it is a well-known endocrine disruptor. Due to its toxic and endocrine disrupting effects, other bisphenol analogues are now preferred in industry, particularly BPF and BPS. However, these analogues also possess health risks and their toxicity mechanisms were not well-elucidated. Compared to BPA, there are limited number of studies that show the toxicity of these two analogues. In this review, we will mainly focus on the toxic effects of BPF and BPS. Their uses, biotransformation and physiological effects will be discussed. Furthermore, the cytotoxic and endocrine disrupting effects of these chemicals will be explained by mentioning the results of the *in vitro* and *in vivo* studies and by comparing to BPA.

Key Words: Bisphenol S, bisphenol F, bisphenol A, endocrine disrupting chemical, toxicity

Bisfenol Türevleri Daha Güvenli Mi?

-Bisfenol F ve Bisfenol S'in Toksik Etkileri-

ÖZET

Bisfenoller iki hidroksifenil işlevsel grubu içeren kimyasal bileşiklerdir. Reaktan gruplarına göre adlandırılırlar. Örneğin, Bisfenol A (BPA) aseton grubunu reaktan grup olarak içerirken, bisfenol F (BPS) formalehit reaktan grubu, bisfenol S (BPS) ise kükürt trioksit reaktan grubunu içerir. Bu maddeler polikarbonatı sertleştirmek için kullanılır. BPA epoksi reçinelerin üretiminde anahtar monomerdir. Yüksek hacimlerde üretilmesi ve yaygın kullanımı nedeniyle BPA, en çok çalışılan bisfenol türevidir ve iyi bilinen bir endokrin bozucudur. BPA'nin toksik ve endokrin bozucu etkileri nedeniyle, diğer bisfenol türevleri, özellikle de BPF ve BPS şimdilerde endüstride tercih edilmektedir. BPA ile karşılaştırıldığında, bu türevlerin toksik etkilerini gösteren sınırlı sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu derlemede, temel olarak BPF ve BPS'nin toksik etkileri üzerinde durulacaktır. Kullanım alanları, biyotransformasyonları ve fizyolojik etkileri tartışılacaktır. Ayrıca, bu kimyasal maddelerin sitotoksik ve endokrin bozucu etkileri *in vitro* ve *in vivo* çalışmaların sonuçlarından söz edilerek ve BPA karşılaştırılarak açıklanacaktır.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol S, bisfenol F, bisfenol A, endokrin bozucu kimyasal, toksisite

Received: 18.05.2017

Revised: 13.06.2017

Accepted: 19.06.2017

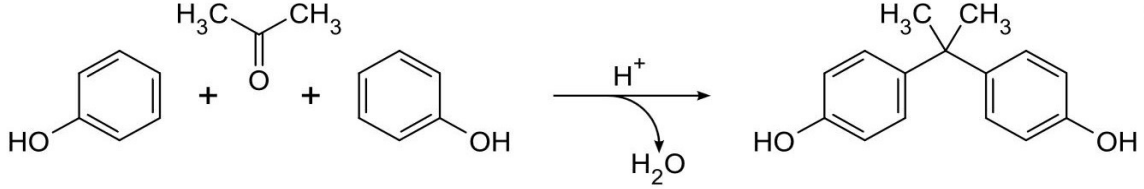
^{*}Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, F.Toksikoloji Anabilim Dalı, Ankara Türkiye
^{**}Atatürk Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, F.Toksikoloji Anabilim Dalı, Erzurum, Türkiye

Hacettepe Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, F.Toksikoloji Anabilim Dalı, Sıhhiye, Ankara Türkiye,
e-mail: belmagumusel@yahoo.com,
Tel: +90 312 305 21 78

GİRİŞ

Bisfenol Türevleri

Bisfenoller iki adet hidroksifenil işlevsel grubu içeren kimyasal bileşiklerdir. Bisfenoller karbon ve diğer kimyasal yapıların oluşturduğu bir köprü ile birbirine bağlanmış iki fenolik halka içerir. Genelde yapıları difenilmetan yapısı üzerine kurulmuştur. Bisfenolle-



Şekil 1. Bisfenol A'nın fenol ve asetondan sentezi (Das et al., 2004).

Bisfenoller çoğunlukla polikarbonat ve epoksi reçinelerin üretiminde materyali sertleştirmek ve dayanıklılığını arttırmak için kullanılır. BPA en yaygın bilinen türedir ve "Tip 7 plastikler" in içinde bulunur. BPA içeren plastikler 1957'den beri satılmaktadır. BPA, 2003 yılında 856,000 ton üretilmiş olup, bunun %72'si polikarbonat üretiminde; %21'i ise epoksi reçine üretiminde kullanılmıştır. 2009 yılında dünyada üretimi 2,2 milyon tonu geçmiştir. 2011 yılında ise, yaklaşık 5 milyon ton üretildiği bildirilmiştir (Staples et al., 1998; Fiege et al., 2000; Lintelmann et al., 2003;). BPA'nın uzun yıllardır endokrin bozucu etkileri araştırılmaktadır. BPA'nın östrojen reseptörlerine (ER) ve östrojenle ilişkili reseptörlere (ERR) afinitesi vardır. Ancak, ER'lere afinitesi 17β-estradiole göre 1000-2000 kat daha azdır (Hejmej et al., 2011). Endokrin bozucu etkilerinin dışında BPA infertilite, metabolik hastalıklar, kanser (nöroblastoma, meme kanseri) ve astım ile ilişkilendirilmiştir (Midoro-Horiuti et al., 2010; Soto and Sonnenschein, 2010; Rochester, 2013;). BPA'nın aynı zamanda kardiovasküler hastalıklar, diyabet ve anormal karaciğer fonksiyonları gibi etkilere de neden olabileceği belirtilmiştir (Ji, Hong et al., 2013; Feng et al., 2016). Bu etkilerinin dışında birçok farklı toksik etkisinin de olabileceği bildirilmektedir. Mart 2010'da Danimarka hükümeti üç yaş altı çocukların kullanabileceği tüm ürünlerde BPA'nın bulunmasını yasaklamıştır. Temmuz 2010'da Fransa, BPA içeren tüm biberonların üretimini, ithalatını ve ihracatını durdurmuştur. Avrupa Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA), 2 Eylül 2010'da BPA'nın günlük 0,05 mg/kg vücut ağırlığı düzeyinde alınımının güvenli olduğunu belirtmiştir (European Commission, 2017). 2011 yılında Avrupa Komisyonu yapılan birçok çalışma ışığında, BPA'nın

rin birçok farklı türevi (analoğu) bulunmaktadır ve bisfenol ifadesinin arkasına gelen büyük harf, içindeki reaktan atomu/bileşeni ifade etmek için kullanılır (Chen ve ark., 2002). Örneğin, bisfenol A (BPA)'da reaktan grup aseton iken, bisfenol F (BPF)'de formaldehit, bisfenol S (BPS)'de kükürt trioksittir (Das et al., 2004). BPA'nın fenol ve asetondan sentezi Şekil 1'de gösterilmiştir.

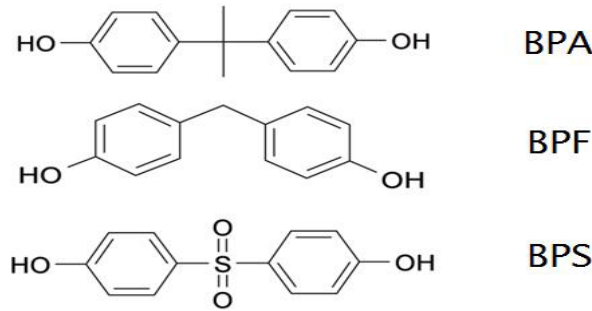
biberonlarda kullanımına kısıtlama getirmiştir (Barroso, 2011). A.B.D'de ise, BPA'nın yasaklanması açısından eyaletler arası farklı uygulamalar yapılmıştır. New York eyaleti 1 Aralık 2010'dan itibaren bebek biberonlar, bebek bardakları ve emziklerinde BPA kullanımını yasaklamıştır. Bebek biberonları ve bebek bardaklarında BPA kullanımı Maryland'de 1 Ocak 2012'de, California'da 1 Temmuz 2013'den itibaren kaldırılmıştır. Bebek mamalarını içeren kaplarda ise BPA kullanımı Maryland'de 1 Temmuz 2014'te yasaklanmıştır. Diğer taraftan, bebek biberonları ve bebek bardaklarında BPA kullanımı Washington'da 3 yaş altı çocukların kullandığı tüm ürünlerde BPA kullanımını 1 Temmuz 2011'de yasaklanmış; 1 Temmuz 2012'den itibaren ise sporcuların kullandığı şişelerde de BPA kullanımını yasalarla engellenmiştir (Consumers Union, 2017). Ülkemizde ise, 2014 yılında yayınlanan "Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri İle Temasta Bulunan Plastik Madde Ve Malzemeler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2011/29)" ile, BPA'nın bebeklerin kullandığı polikarbonat madde ve malzemelerin üretiminde kullanılması yasaklanmıştır (TGK, 2011).

Bisfenol A'nın dünya genelinde birçok ülkede kullanımının yasaklanması veya kullanımının kısıtlanması ve özellikle bebek ürünlerinde ve su damacalarında BPA'sız (BPA-free) plastik/polikarbonat kullanımına yönelmesi ile, BPA'ya alternatif olarak bu ürünlere BPS ve BPF eklenmeye başlanmıştır (Gramac Skledar et al., 2015). BPS ve BPF in kullanımının artması, toksik etkilerinin araştırılması ile ilgili çalışmaların da artmasına neden olmuştur (Liao et al., 2012; Viñas and Watson, 2013; Héliers-Toussaint et al., 2014). Bu çalışmalarda, yaygın tüketim ve ticari kullanım nedeni ile gıda, kişisel bakım ürünleri ve kağıt

ürünleri gibi pek çok gündelik ürünlerde tespit edilen BPS ve BPF'in, BPA'ya eşdeğer konsantrasyonlarda yerüstü, sediment ve kanalizasyon sularında bulunduğu saptanmış ve çevresel bulaş açısından BPA ile aynı etkide oldukları gösterilmiştir (Song et al., 2014; Yang et al., 2014). Ev ya da kapalı ortamlardaki tozlarda BPA düzeyleri 1,33 mg/g iken, BPS ve BPF sırasıyla 0,34 mg/g ve 0,054 mg/g olarak tespit edilmiştir. Aynı çalışmada, tahmini günlük alım düzeyleri (estimated daily intake, EDI) sırasıyla BPS için 1,31g/kg, BPF için 7,46 g/kg, BPA için ise 7.46 g/kg olarak belirlenmiştir. Gıda ürünlerinde ise, ortalama konsantrasyonların BPS için 0,130 ng/g, BPA için 0,929 ng/g ve BPF için 3 ng/g olduğu görülmüştür (Liao and Kannan, 2013). BPS ve BPF'nin çevresel biodegradasyon ve farmakokinetik mekanizmaları açısından BPA ile benzer özelliklere sahip olmaları nedeniyle akut ve kronik toksik etkilerinin de benzer olabileceği düşünülmektedir (Chen et al., 2002; Liao et al., 2012; Eladak et al., 2015). Bundan dolayı, BPS ve BPF'nin akut ve kronik toksik etkileri ile ilgili *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar son yıllarda artış göstermiştir; ancak bu maddelerin toksisite bilgileri henüz yeterli değildir (Lee et al., 2013). BPF ve BPS gibi diğer bisfenol türevleri BPA kadar ciddi yasal düzenlemelere tabi olmamaları sebebiyle, kullanımlarının kontrol altına alınabilmesi için daha fazla veriye ihtiyaç vardır. Bu derleme kapsamında, BPA yerine plastizer olarak kullanılan BPF ve BPS'nin toksisite bilgileri *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarının sonuçları değerlendirilerek sunulacaktır.

Bisfenol Türevlerinin Biyotransformasyonu

Bisfenol türevlerinin hücresel düzeyde toksisitesinin belirlenmesinde ve biyolojik özelliklerinin anlaşılmasında, metabolizması oldukça önemli rol oynamaktadır. BPA, BPF ve BPS'nin yapıları **Şekil 2**'de gösterilmiştir. BPF'nin karaciğer toksisitesi sıçanlarda gösterilmiş olsa da (Higashihara et al., 2007), molekülün metabolik yazgısı ile ilgili hayvan verileri oldukça kısıtlıdır. Gebe ve gebe olmayan sıçanlar ile yapılan ve BPF'nin dağılım ve metabolizmasını göstermeyi amaçlayan bir çalışmada, çok yüksek sayıda metabolit ortaya çıkması, BPF biyotransformasyonunun oldukça karmaşık olduğunu düşündürmüştür ve BPF hidroksilasyonunun BPF metabolizmasındaki ana yolak olduğu da düşünülmektedir (Jaeg et al., 2004). İnsan ve sıçan karaciğer mikrozomları ile yapılan çalışmalarda, BPF'nin sitokrom P450 (CYP450) ile oksidasyona uğradığı ve ana metabolitlerinin orto- ve meta-hidroksil BPF olduğu gözlenmiştir (Atkinson and Roy, 1995a, 1995b; Jaeg et al., 2004; Cabaton et al., 2008). BPF'nin sülfat ve glukuronat konjugatları şeklinde idrardan atılabildiği gösterilmiştir (Cabaton et al., 2006). BPS ve BPA'nın çevresel biodegradasyon ve farmakokinetik mekanizmaları benzerdir. Ancak, BPS'nin BPA'ya göre yarılanma ömrü daha uzundur. BPS'nin BPA'dan daha güçlü dermal penetrasyona sahip olduğu ve bu nedenle de BPA'dan daha uzun süreli ve yüksek birikime veya biyoyararlanıma sahip olduğu belirlenmiştir (Liao et al., 2012; Héliers-Toussaint et al., 2014).



Şekil 2. Bisfenol A, Bisfenol F ve Bisfenol S'nin kimyasal yapısı.

Bisfenol F

Bir endokrin bozucu olan BPA'nın yapısal türevidir olan BPF [bis(4-hidroksifenil)metan] molekül ağırlığı yaklaşık 200,23 g/mol olan, şeffaf ile açık pembe arası renkte katı bir maddedir. BPF, son yıllarda BPA alternatifi olarak özellikle BPA içermeyen ürünlerde olmak üzere, epoksi reçinelerinde, kaplamalarda, yüksek dayanıklılık ve kalınlık istenen su tankları ve su boruları gibi yapı malzemelerinde ve sistemlerde, endüstriyel zemin kaplamalarında, otoyol ve köprü tabiiyelerinde, yapışkanlarda, inşaatta kullanılan sıva ve

kaplamalarda ve elektrik yalıtımında sıklıkla kullanılmaktadır (Fiege et al., 2000). Ayrıca şampuan, duş jeli, makyaj malzemeleri, diş macunları, oje gibi kişisel bakım ürünleri; plastik ev gereçleri, diş dolguları ve gıda paketlerinde de kullanılmaktadır (Rochester and Bolden, 2015). Ev içi tozlarda da ortalama 0,054 µg/g BPF bulunduğu saptanmıştır (Liao et al., 2012). Ayrıca, BPA'dan daha düşük konsantrasyonlarda olsa dahi yerüstü sularında, su dibi çökeltilerde ve lağım sularında da bulunmaktadır (Fromme et al., 2002; Song et al., 2014; Yang et al., 2014). A.B.D'de yapılan bir çalışma-

da, mesleki olarak maruz kalmayan 100 yetişkinden alınan idrar örneklerinin %55'inde ölçülebilir düzeyde BPF saptanmış ve ortalama idrar düzeylerinin 212 ng/ml olduğu belirlenmiştir (Liao et al., 2012).

BPF'nin BPA ile benzer fizyolojik etkilere sahip olabileceği düşünülmektedir. BPA'nın endokrin bozucu etkileri *in vitro* ve hayvan çalışmalarında gösterilmiş (Richter et al., 2007; Wetherill et al., 2007; Vandenberg, 2014), ayrıca çocuklar ve yetişkinler ile yapılan 75'den fazla insan çalışmasında olumsuz etkiler ile BPA maruziyeti ilişkilendirilmiştir. BPF ve diğer bisfenol türevlerinin toksik etkilerinin belirlenmesi için gerçekleştirilmiş az sayıda çalışma bulunmaktadır ve bu çalışmaların pek çoğu *in vitro* çalışmalardır. BPF'nin güvenli doz aralığının belirlenebilmesi için yeterli sayıda hayvan ve insan çalışması bulunmamaktadır. BPF ile yapılan *in vitro* ve *in vivo* çalışmalardan aşağıda söz edilmiştir.

BPF ile Yapılan *İn Vitro* Çalışmalar

BPA ve BPF'nin endokrin bozucu etkinliği olduğu ve ER'lere bağlandığını gösteren çalışmalar mevcuttur (Perez et al., 1998; Kitamura et al., 2005; Cabaton et al., 2009). Sadece üreme sistemi değil, diğer sistemlere de olası istenmeyen etkileri araştırılmaktadır (Bondesson et al., 2009; Braniste et al., 2010).

BPF'nin östrojenik aktivitesinin araştırıldığı çalışmalarda çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. Bazı çalışmalarda BPF'nin mayalarda östrojenik etki gösterdiği ifade edilirken, diğerlerinde östrojenik saptanamamıştır (Hashimoto and Nakamura, 2000; Hashimoto et al., 2001; Chen et al., 2002; Ogawa et al., 2006; Rajasärkkä et al., 2014). Sağlıklı Sprague-Dawley sıçanlarından elde edilen karaciğer mikrozomal enzimleri ile yapılan bir çalışmada ise BPF ve BPS başta olmak üzere 7 BPA analogunun zayıf östrojenik etkisi olduğu gözlenmiştir (Kitamura et al., 2003).

İnsan meme kanseri hücre hattı MCF-7 ve sıçan hipofiz kanseri hücre hattı GH3 kullanılarak yapılan bir çalışmada, BPF'nin 19 analog arasından en düşük östrojenik aktiviteye sahip olduğu ve ayrıca androjenik etkinliği bulunmadığı belirlenmiştir. MCF-7 hücrelerinde BPF için östrojen lusiferaz raportör deneyi sonrasında etkin doz 50 (EC_{50}) değeri 1 mM, BPS için ise 1,1 mM olarak bulunmuştur. Bu değer BPA için 0,63 mM olarak belirlenmiştir (Kitamura et al., 2005). MCF-7 hücrelerinin transfeksiyonu ile elde edilen MELN hücrelerinde yapılan bir başka çalışmada ise, BPF'nin ER'lere bağlanarak östrojenik etki gösterdiği, EC_{50} değerinin $0,98 \pm 0,05$ mM olduğu ve BPS'dan (EC_{50} : $12,10 \pm 0,92$ mM) daha yüksek östrojenik aktivitesinin bulunduğu belirlenmiştir. Ancak, BPF'nin BPA'ya (EC_{50} : $0,47 \pm 0,03$ mM) göre östrojenik aktivitesinin yine de düşük kaldığı bulunmuştur (Molina-

Molina et al., 2013).

MCF-7 ve kemik iliği dendritik hücreleri kullanılarak yapılan bir çalışmada, BPF ve diğer türevlerin östrojenik aktiviteleri ve immün aktivasyona sebep olabilecekleri gösterilmiştir. Ancak, kullanılan diğer östrojenik bileşikler içinde en düşük östrojenik proliferatif etkinin BPF tarafından oluşturulduğu bulunmuştur [nonifenol (NP) > BPA > oktilfenol (OP) > bisfenol B (BPB) > BPF] (Pisapia et al., 2012). İnsan adrenal kortiko-karsinoma hücreleri ile yapılan bir çalışmada, BPA'nın östrojen reseptöründe maksimum cevap oluşturması için gerekli EC_{50} değeri 0,08 mM olarak bulunurken, bu değer BPF için 0,82 mM, BPS için ise 1,17 mM olarak belirlenmiştir. Ancak, BPF'nin östrojenik aktivitenin yanında, H295R steroidogenesis yönteminde 17α -hidroksiprogesteron'a da büyük bir efikasite gösterdiği (BPF için EC_{50} : 20,8 mM; BPS için 14,7 mM) belirlenmiştir. BPS'nin ise BPA'dan daha az östrojenik ve anti-androjenik olduğu belirlenmiştir (Rosenmai et al., 2014). Bir diğer çalışmada ise, MCF-7 hücre hattında BPF'nin hücre proliferasyonu için EC_{50} değeri 84,8 nM, BPS için 410 nM olarak bulunmuştur. Bu değer 17β -estradiol için 0,0045 nM olarak belirlenmiştir. Diğer taraftan, çalışmadaki maddelerin (flavonoidler ve bisfenol türevleri) 17β -estradiol ile kombine uygulamalarında en yüksek proliferatif aktivite 17β estradiol+BPF uygulaması ile belirlenmiştir. Tamoksifen ile çalışmada kullanılan maddelerin bir arada maruziyeti sonucunda ise BPF ile kontrole göre %766 hücre canlılığı belirlenmişken, bu oran BPA için %617, 17β -estradiol için ise %562 olarak bulunmuştur. BPF'nin anti-androjenik etkisinin ise, flavonoidlerden daha düşük olduğu bildirilmiştir (Stroheker, et al., 2004). Ayrıca, BPA ve BPF'nin *in vitro* olarak adinopektin üretimini ve salgılanmasını azalttığı düşünülmektedir (Kidani et al., 2010).

Son yıllarda, tüm bu endokrin bozucu etkileri dışında bisfenollerle ilgili ilgi çeken diğer bir durum, bileşiklerin genotoksik potansiyelidir. Yapılan çalışmalarda, BPA'nın genotoksik potansiyeli hakkında çelişkili sonuçlar elde edilmiştir. BPA'nın *in vivo* olarak DNA katım ürünlerinin oluşumuna neden olduğu (Atkinson and Roy, 1995b; Izzotti et al., 2009; Izzotti et al., 2010), gen mutasyonları (Schweickl et al., 1998; Tsutsui et al., 1998) ve DNA hasarını indüklediği (Iso et al., 2006) belirlenmiştir. Ancak, BPA ile yapılan bazı *in vitro* genotoksisite testlerinde (kromozomal aberasyon testi, mikronükleus testi, comet yöntemi) ve sitotoksik olmayan dozlarda BPA'nın genotoksik etkinliğinin olmadığı gösterilmiştir (Ivett et al., 1989; Ibuki et al., 2008; Tayama et al., 2008). Diğer taraftan, BPF'nin sitotoksik ve genotoksik etkilerinin saptanması amacıyla yapılan bir çalışmada, BPF'nin insan karaciğer kanseri HepG2 hücrelerin-

deki inhibitör konsantrasyon 50 (IC₅₀) değeri 0,080 mM, BPF-digilidil eter (BFDGE)'in ise, 0,796 mM olarak bulunmuştur. Ames testi uygulandığında ise, BPF'nin *Salmonella typhimurium*'un farklı suşlarında bakteriyel mutasyonları (nokta ve kalıp kayması mutasyonları) indüklediği belirlenmiştir. Ayrıca, BPF ile HepG2 hücrelerinde mikronükleus testi ile de negatif sonuçlar elde edilmiştir. Ancak, comet testi ile yüksek konsantrasyonlarda (50 ve 70 mM) HepG2 hücrelerinde DNA hasarını indüklediği belirlenmiştir. Diğer taraftan lusiferaz deneyi sonrasında BPF'nin BFDGE'den daha yüksek östrojenik aktivite gösterdiği belirlenmiştir (Cabaton et al., 2009).

İnsanlardan elde edilen kolon adenokarsinoması hücre hattı (LS174T), insan hepatoma hücre hattı (HepG2) ve böbrek adenokarsinoması hücre hattı (ACHN) ile yapılan bir çalışmada, BPA ve BPF'nin bu hücrelerde yüksek derecede metabolize edildiği belirlenmiştir. Ayrıca, BPF'nin 1-100 µM doz aralığında doz-bağımlı bir şekilde bu üç hücre hattına da sitotoksik olduğu; BPA'ya kıyasla daha düşük sitotoksik potansiyel gösterdiği, kendi metaboliti olan dihidroksibenzofenona göre ise sitotoksiteyi daha düşük dozlarda gösterebildiği belirlenmiştir. Diğer taraftan, aynı çalışmada BPF'nin DNA çift sarmal kırıklarının bir göstergesi olan gH2AX'i doz-bağımlı olarak indüklediği, bu indüksiyonun özellikle 50 ve 100 mM dozlarda belirgin olduğu görülmüştür. BPF'nin BPA'ya kıyasla ise gH2AX'i daha yüksek dozlarda indükleyebildiği belirlenmiştir (Audebert et al., 2011). Başka bir çalışmada, aynı dozlarda BPF'nin DNA hasarını etkilemediği, ancak Ames testinde *Salmonella typhimurium* üzerinde mutajenik aktivitesinin olmadığı, HepG2 hücrelerinde hücre canlılığını 12,5-100 mM aralıkta değiştirmediği gösterilmiştir (Fic et al., 2013).

BPF ile Yapılan *In Vivo* Çalışmalar

BPF'nin olası toksik etkilerinin detaylı olarak belirlenebilmesi ve bu toksik etkilerin altında yatan mekanizmaların anlaşılabilmesi için *in vivo* çalışmaların önemi büyüktür. Ancak, BPF'nin kullanıldığı henüz yeterli sayıda hayvan çalışması bulunmamaktadır. Su piresinde (*Daphnia magna*) yapılan bir çalışmada, 0,1-100 mg/l arasında BPF uygulaması ile 24 saat sonraki EC₅₀ değeri 80 mg/l, 48 saat sonraki EC₅₀ değeri 56 mg/l olarak bulunmuştur ve su piresinde BPF'nin toksisitesinin BPA'dan daha düşük olduğu belirlenmiştir (Chen et al., 2002).

Yapılan bir çalışmada, erkek Crj:CD sıçanlara 10 gün boyunca oral yoldan 0, 50, 200 ve 1,000 mg/kg/gün dozlarda BPF verilmiştir. Bu çalışmada, BPF'nin en düşük istenmeyen etki gözlenen düzeyi (lowest observed adverse effect level, LOAEL) 100 mg/kg olarak belirlenmiş ve 100 mg/kg dozda BPF'nin sıçanların

vücut ağırlığında azalmaya ve spontan hareketlilikte düşüşe neden olduğu belirlenmiştir. Ancak, BPF uygulanan tüm dozlarda rölatif ventral prostat, seminal vezikül, glans penis, bulbocavernosus/levator ani kası ve Cowper bezi ağırlıklarını değiştirmemiştir. Ancak, bir androjen antagonisti olan flutamid [10 mg/kg vücut ağırlığı (vüc. ağı./gün)] ve testosteron propionat (0,2 mg/kg vüc. ağı./gün) ile birlikte uygulanması sonucunda tüm organ rölatif ağırlıklarında önemli azalmalar olduğu belirlenmiştir (Yamasaki et al., 2003). Aynı araştırmacı grubunun yayınladığı bir diğer çalışmada, 3 gün boyunca i.v. 0, 100, 300, ve 1000 mg/kg/gün dozlarda BPF maruziyetinin dişi Crj:CD sıçanlarında 10 günlük uygulama ile vücut ağırlığında bir değişikliğe neden olmadığı; ancak uygulanan tüm dozlarda doz bağımlı olarak absölvü ve rölatif uterus ıslak ve kuru ağırlıklarını arttırdığı gözlenmiştir. Ayrıca, tüm dozlarda etinil estradiol ve tamoksifen ile birlikte BPF uygulamasının benzer şekilde tüm dozlarda doz bağımlı olarak absölvü ve rölatif uterus ıslak ve kuru ağırlıklarını arttırdığı belirlenmiştir (Yamasaki et al., 2004). Aynı bulgu, 4 gün boyunca oral yoldan 0, 25, 50, 100 ve 200 mg/kg vüc. ağı./gün dozlarda BPF'ye maruz kalan sıçanlarda da gözlenmiştir ve etkinin doz bağımlı olduğu görülmektedir. BPF'nin ıslak uterus ağırlığını anlamlı olarak 100 ve 200 mg/kg vüc. ağı./gün uygulama ile, kuru uterus ağırlığını ise anlamlı olarak sadece 200 mg/kg vüc. ağı./gün uygulama ile arttırdığı belirlenmiştir. Aynı çalışmada, BPA'nın uygulanan hiçbir dozda (25, 50, 100 ve 200 mg/kg vüc. ağı./gün) kuru ve ıslak uterus ağırlıklarını arttırmadığı bulunmuştur (Stroheker et al., 2003). Bir diğer çalışmada, 8 haftalık Crj:CD sıçanlar oral yoldan, 28 gün boyunca 0, 20, 100, 500 mg/kg vüc. ağı./gün dozlarda BPF'ye maruz kalmış, erkek sıçanlarda vücut ağırlıkları 12. günde 500 mg/kg vüc. ağı./günden itibaren azalmaya başlamış, dişi sıçanlarda ise aynı etki yine 12. günde başlamasına rağmen daha düşük dozda (100 mg/kg vüc. ağı./gün) belirlenmiştir. Erkek hayvanların yem tüketiminde, 1-28.günler arasında en yüksek doz olan 500 mg/kg vüc. ağı./günde azalma belirlenirken, dişi sıçanlarda yem tüketimindeki düşüş hem 100, hem de 500 mg/kg vüc. ağı./gün uygulamalarda belirlenmiştir. Erkek hayvanlarda, 500 mg/kg vüc. ağı./gün uygulama ile T3 ve T4 hormonlarında düşüşler belirlenirken, bu etki dişilerde 20 ve 100 mg/kg vüc. ağı./günde T4 düzeylerinde azalma, 500 mg/kg vüc. ağı./günde ise, hem T3, hem de T4 düzeylerinde düşüş olarak belirlenmiştir. Erkek hayvanlarda, rölatif karaciğer, tiroid ve beyin ağırlıkları 500 mg/kg vüc. ağı./gün uygulama ile anlamlı bir şekilde artarken; dişilerde 200 mg/kg vüc. ağı./günde rölatif böbrek ağırlığı, 500 mg/kg vüc. ağı./günde ise rölatif karaciğer, böbrek ve beyin ağırlıklarında anlamlı artışlar görül-

müştür. Erkek sıçanlarda, glutamik-okzaloasetik transaminaz (GOT) ve γ -glutamil transpeptidaz (γ -GTP) aktiviteleri 500 mg/kg vüç.ağ./gün dozda artarken, dişilerde aynı dozda sadece γ -GTP aktivitesi artmıştır (Higashihara et al., 2007).

Castro ve ark. (2015) tarafından yapılan bir çalışmada, gebe Wistar sıçanlarına 12 gün boyunca subkutan yoldan 10 μ g/kg/gün dozunda BPA, BPF ve BPS verilmiş ve daha sonra yavrular da 8 yavrudan oluşan gruplara bölünerek ilk günden itibaren aynı dozlarda subkutan olarak BPA, BPF ve BPS'ye 21 gün boyunca maruz bırakılmıştır. BPF'nin testosteronu dihidrotestosterona dönüştüren enzimler olan ve nörosteroidogeneizde önemli bir rolleri bulunan farklı 5 α -redüktaz (5 α -R) izoenzimleri (5 α -R1, 5 α -R2 ve 5 α -R3) üzerindeki etkileri incelenmiştir. 5 α -R1 ve 5 α -R2 erkek fetuslarda ve postnatal hayat boyunca eksprese edilirken, 5 α -R1, 5 α -R3 tüm erişkinlik boyunca eksprese edilir. 5 α -R1'in mRNA düzeylerini hiçbir bisfenol türevinin etkilemediği bulunmuştur. Ancak, tüm bisfenollerin 5 α -R2 ve 5 α -R3 mRNA düzeylerini anlamlı derecede düşürdüğü; BPA'nın bu etkisinin daha belirgin olduğu ve BPA'nın aynı zamanda 5 α -R2 ve 5 α -R3 protein ekspresyonlarını da azalttığı görülmüştür. Gerçek Zamanlı Polimeraz Zincir Reaksiyonu (PCR-RT) sonucu elde edilen ısı haritası (heatmap) çalışması ile 25 genin transkripsiyonunun BPA, 56 genin transkripsiyonunun BPF ve 25 genin transkripsiyonunun BPS ile anlamlı derecede değiştiği belirlenmiştir. Ayrıca, çalışmada kullanılan bisfenol türevlerinin, CYP2D4 enzim indüksiyonu yaparak kortikosteroid sentezi üzerinde değişikliğe sebep olduğu belirtilmiştir (Castro et al., 2015).

Bisfenol S

BPS, son yıllarda sıklıkla kullanılan bir bisfenol türevidir. BPS yüksek ısıdaki stabilitesi ve güneş ışığına dirençli olmasından dolayı epoksi reçineleri, konserve kutuları, kutu içecekler, termal fatura kağıtları, hazır yemek kutuları, bagaj etiketleri, el ilanları ve gazete materyali olarak çeşitli endüstriyel ürünlerde BPA'nın yerine kullanılmaktadır (Vandenberg, 2014).

Liao ve ark. (2012) tarafından yapılan bir çalışmada, Amerika ve Asya ülkelerinde yaşayan popülasyonun %81'nin idrar örneklerinde serbest ve konjuge BPS bulunduğu tespit edilmiştir. Bu çalışmada, Amerika Bileşik Devletleri, Çin, Hindistan, Malezya, Japonya, Kore, Kuveyt ve Vietnam dahil olmak üzere 7 Asya ülkesinden toplam 315 idrar örneği toplanmış ve ölçülen idrar konsantrasyonlarına göre potansiyel BPS maruziyet değerleri hesaplanmıştır. Buna göre ortalama günlük BPS maruziyet değeri 0,930 mg/gün olarak bulunmuştur (Liao et al., 2012). Ye ve ark.'nın yaptıkları benzer bir çalışmada, 2000-2014 yılları ara-

sında 616 yetişkin gönüllüden toplanan idrar örneklerinde BPS konsantrasyonlarının geometrik ortalamaları hesaplanmış ve 2010-2014 yılları arasında artma eğiliminde olduğu tespit edilmiştir. 2000 yılında bireylerin ortalama %25'nin idrarında BPS saptanırken, 2014 yılında bu oran %75'e çıkmıştır. BPS in idrardaki konsantrasyon artışının son yıllarda BPA'ya alternatif olarak kullanımından kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır (Liao et al., 2012). BPS, BPA ile karşılaştırıldığında çevresel çözünebilirlik açısından daha dirençli olmasına rağmen, plastik materyal teması ile doğrudan maruziyete yol açabilir ve potansiyel risk oluşturabilir (Viñas and Watson, 2013). Yapılan araştırmalarda BPS'in özellikle çevresel sulara yoğun olarak dağıldığı tespit edilmiştir (Öman and Hynning, 1993). Kienhuis ve ark.'nın yaptıkları araştırmada, nehir sularında 3 mg/L ye varan miktarlarda BPS tespit edilmiştir (Kienhuis and Geerdink, 2000).

Gerek çevredeki bulunuşunun artışı, gerekse insan temasındaki belirgin artış nedeniyle, BPS'nin son yıllarda akut ve kronik toksik etkileri ile ilgili *in vitro* ve *in vivo* çalışmalarda artış olmuştur (Liao et al., 2012). Yapılan çalışmalar, BPS'nin akut toksisite, genotoksisite ve östrojenik aktivite açısından BPA'ya benzer etkilere sahip olduğunu destekler niteliktedir (Chen et al., 2002; Eladak et al., 2015). Aşağıda, BPS'nin toksik etkilerinin incelendiği *in vitro* ve *in vivo* çalışmalar özetlenmiştir.

BPS ile Yapılan *In Vitro* Çalışmalar

Chen ve ark. (2012) tarafından yapılan ve yukarıda sözü edilen çalışmada, Umu testi ile *Saccharomyces cerevisiae*' de BPS'in mutajenik ve östrojenik etkisinin diğer bisfenollere oranla daha düşük olduğu tespit edilmiştir (Chen et al., 2002). BPS'nin steroidegenез üzerindeki endokrin bozucu etkisini ve hücre toksisitesini araştırmak amacı yapılan bir diğer çalışmada, H295R adenokarsinoma hücrelerine 24, 48 ve 72 saatlik sürelerde 10-500 mM konsantrasyonlarda BPS uygulanmış, hücre canlılığı ve steroid hormon sentezi değerleri ölçülmüştür. Sitotoksik etkinin maruziyet süresi ve doz-bağımlı olarak arttığı belirlenmiştir. Hücre canlılığı 24 saatlik maruziyet sonrasında %62,6; 48 saatlik maruziyet sonrasında % 32,3 ve 72 saatlik maruziyet sonrasında %33,3 olarak belirlenmiştir. Letal konsantrasyon 50 (LC50) değeri 72 saat için 159,6 mM olarak hesaplanmıştır. 72 saat sonrasında uygulanan maddelerin sitotoksitesileri şu şekilde sıralanmıştır: BPAF > BPA > BPS > BPF. Kortizol sentezinde de doz bağımlı azalma görülmüş; 30 μ M konsantrasyonda BPS'nin hücrelere uygulanması ile de %55,9'luk azalma belirlenirken, 50mM BPS ile %71,7 ve 70 mM BPS uygulaması ile %79,0'luk bir düşüş saptanmıştır. Ayrıca, hücreler aynı konsantrasyonlarda BPA'ya maruz bırakılmış, 30 mM BPA uygulaması ile

kortizol sentezi %32,3, 50 mM uygulama ile %53,6 ve 70 uM uygulama ile %68 oranında azalmıştır. BPS uygulaması ile testosteron üretimindeki azalma 1-70 uM arasındaki konsantrasyonlarda incelenmiş; 1 mM konsantrasyonda % 34.0 oranında azalma görülürken, 70 mM konsantrasyonda bu azalma %86.6 olarak belirlenmiştir (Feng et al., 2016).

Roelfods ve ark. (2015) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada, BPS'nin MA-10 Leydig hücrelerinde steroid sentezi ve rekombinant maya hücrelerinde glukokortikoid (GR) ve androjenik reseptörlere (AR) antagonistik etkisi diğer BP türevleri ile karşılaştırılmalı olarak çalışılmıştır. BPS'nin diğer BP analoglarının aksine rekombinant maya hücrelerinde androjenik reseptörlere ve GR'lere antagonistik etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca, bu çalışma kapsamında MA-10 Leydig hücrelerine BPS ve diğer bisfenol türevlerinin uygulanması sonrasında testosteron sekresyonundaki değişiklikler de incelenmiştir. Tetrabromobisfenol A (TBBPA) ile testosteron sekresyonunda bir artış belirlenmiştir. Ancak, BPS uygulaması ile 0-30 mM aralığında bir değişim gözlenmemiştir. BPS maruziyeti sonucu MA-10 Leydig hücrelerinde steroid sentezinin başlangıcında progesteron seviyelerinin arttığı da saptanmıştır (Roelofs et al., 2015).

Lee ve ark.(2013)'nin BPA ve türevlerinin genotoksik potansiyellerini incelediği bir çalışmada, DNA onarım mekanizmaları mutant olan tavuk DT40 (homolog rekombinasyon mekanizması mutant RAD54^{-/-}, baz eksizyon onarımı mutant Pol β ^{-/-}, nükleotid eksizyon onarımı mutant XPA^{-/-}, non-homolog eksizyon onarımı mutant Ku70^{-/-} ve translezyon DNA sentez mutasyonuna sahip REV3^{-/-}) hücreleri kullanılmıştır. Mutant hücreler ve yabanıl tip (wild type) DT40 hücreleri belli konsantrasyonlarda ve sürelerde maruziyet sonucu incelenmiştir. BPF'nin (0-120 mM) Pol β ^{-/-} ve Ku70^{-/-} mutant hücreler hariç tüm DT40 hücre tiplerinde hücre canlılığında azalmaya neden olduğu, BPA'nın ise özellikle RAD54^{-/-} ve XPA^{-/-} DT40 hücrelerinde 15 mM'dan itibaren hücre canlılığında ciddi azalmalara neden olduğu belirlenmiştir. BPS'nin (0-250 mM) etkisi mutant ve yabanıl tip ile karşılaştırıldığında homolog rekombinasyon onarım genleri mutant RAD54^{-/-} hücrelerde hücre proliferasyonunu 9 kat daha fazla azaltarak sitotoksik etki gösterdiği saptanmıştır. BPF ve BPS'nin BPA'dan daha az genotoksik potansiyele sahip olduğu; BPP'nin ise BPA'dan daha potent genotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Ayrıca, BPF'nin 62,5 mM, BPA'nın ise 31,3 mM konsantrasyonlarda kromozomal aberasyonları arttırdığı; ancak BPA'nın (31,3 mM) gH2AX'i indüklerken, BPF'nin (125 mM) indükmediği belirlenmiştir. Sonuçta RAD 54^{-/-} mutant hücrelerin BPA'f haricindeki tüm bisfenollere karşı hassas olduğu ve bisfenollerin

homolog rekombinasyon yolu ile onarılan genotoksikiteye neden oldukları önerilmiştir (Lee et al., 2013).

Bisfenol türevlerinin etkilerini değerlendirmek üzere yapılan çalışmaların bir kısmının obezite ile ilişkili olduğu görülmektedir. Bisfenol türevlerinin obezite üzerindeki etkileri ile ilgili çalışmalar son yıllarda artış göstermektedir. Bu konuda *in vitro* ve *in vivo* araştırmalar BPS maruziyetinin de obeziteye neden olabilecek etmenlerden biri olduğunu işaret eder niteliktedir (Héliès-Toussaint et al., 2014; Regnier and Sargis, 2014). Toussaint ve ark.'nın HepG2 (insan hepatosit hücreleri) ve 3T3-L1 (Fare adiposit hücreleri) hücre serileri ile yaptıkları bir çalışmada düşük dozlardaki BPS'nin glikoz alımı, lipit metabolizması, lipit birikimi ve diğer endokrin işlevler üzerindeki etkileri incelenmiş ve bu etkiler BPA'nın etkileri ile karşılaştırılmıştır. 1 mM, 1 nM ve 1 fM BPS ve BPA içeren medyumlarda 4 gün boyunca HepG2 ve 10 gün boyunca da 3T3-L1 hücreleri inkübe edilmiştir. Daha sonra hücreler sitotoksikite, glukoz alımı, protein, trigliserit, leptin sentezi ve lipoliz açısından değerlendirilmiştir. Elde edilen veriler BPS'nin 3T3-L1 hücrelerinde intrasellüler trigliserit üretimini indüklediğini, düşük dozlardaki BPS'nin gelişen yağ hücrelerinde intrasellüler trigliserit birikimine yol açtığını, aynı zamanda BPA ile BPS arasında ölçülen bu parametreler açısından belirgin bir fark olmadığını göstermiştir. Ayrıca, BPS'nin lipolizi azalttığı ve glikoz alımını önemli ölçüde arttırdığı da belirlenmiştir. Leptin sekresyonu açısından incelendiğinde, BPS'nin 3T3-L1 hücrelerinde yüksek oranda leptin üretimine neden olduğu, BPA'nın ise kontrol grubuna göre önemli bir etkisinin olmadığı saptanmıştır. BPS ve BPA'nın adipositlerdeki gen ekspresyonları [Sterol regülatör elemanı-bağlayıcı transkripsiyon faktörü 1c (SREBP-1c), peroksizom prolifer edici aktive reseptör g2 (PPARg2) ve adipocyte protein 2 (aP2) genleri] üzerindeki etkisi incelendiğinde, BPS'nin gen ekspresyonlarında herhangi bir değişikliğe neden olmadığı, BPA'nın ise erken dönemde hafif düzeyde bu genlerin transkripsiyonu artırdığı görülmüştür. Ayrıca BPS'nin 1 pM dozda ERR α ekspresyonunun etkilemediği; ancak ERRg ekspresyonunu azalttığı belirlenmiştir. Diğer taraftan, BPS'nin enerji dengesini düzenleyen genler üzerinde de etkisinin olduğu, PPARg koaktivatör α (PGC-1 α) genini upregüle ettiği belirlenmiştir. Ayrıca, BPA'nın ERR α ifadesini arttırdığı, BPS'nin ise azalttığı tespit edilmiştir. HepG2 hücrelerine aynı BPS ve BPA uygulandığında ise, her iki bisfenol türevinin de hepatositlerde trigliserit birikimine yol açtığı, düşük doz BPS'nin glikoz alımını indüklerken, BPA'nın böyle bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Yapılan çalışmadan elde edilen veriler doğrultusunda BPS ve BPA'nın obezite ve steatoziste farklı mekanizmalarla etkili olabileceği belirtilmiştir

(Peyre et al., 2014). Boucher ve ark. (2016)'nın kadın gönüllülerden elde edilen preadipositler üzerine yaptıkları çalışmada, bu hücrelerde BPS'nin adipogenez üzerindeki etkisi incelenmiştir. BPS'nin preadipositlerde lipit akümülyasyonunu indüklediği, mRNA ve protein düzeylerini artırdığı görülmüştür. Aynı zamanda BPS'nin PPARg'nin transkripsiyonel aktivitesini de artırdığı rapor edilmiştir (Boucher et al., 2016).

Pekçok kimyasal maddenin vücutta çeşitli mekanizmalarla absorbe edildikten sonra metabolize edildiği ve bazı metabolitlerinin ana maddeden farklı kimyasal özelliklere ve toksik potense sahip olduğu bilinmektedir. Araştırmalar BPS metabolitlerinin östrojenik aktiviteye sahip olabileceklerini göstermiştir (Grignard, Lapenna, & Bremer, 2012). Kang ve ark.'nın MCF-7 hücre serisine östrojen spesifik genleri transfeke edilmesi ile oluşturulan MVLN hücrelerinde yaptıkları bir çalışmada EC₅₀ değerleri BPA için 1,09 x10⁻⁶ M ve BPS için 1,75x10⁻⁵ M olarak belirlenmiştir. BPS, BPA ve polietersülfon (PES)'in östrojenik aktiviteyi artırdığı saptanmıştır. Bu çalışmada ayrıca çeşitli konsantrasyonlardaki (0,000, µM-5 mM) BPS'nin S9 fraksiyonu ile 72 saat boyunca inkübe edilmesiyle elde edilen BPS metabolitleri 20 ve 40 dakikalık sürelerde MVLN hücreleriyle inkübe edilmiştir. BPS ve metabolitlerinin doz-bağımlı olarak östrojenik aktiviteyi artırdığı saptanmış; bu nedenle BPS'nin BPA'ya uygun bir alternatif olmadığı belirtilmiştir (Kang, Choi, Kim, Lee, & Park, 2014). BPS in östrojenik aktivitesi ile ilgili diğer bir çalışma MCF-7 hücrelerine östrojen duyarlı yeşil floresan protein (green fluorescent protein, GFP) gen transfeksiyonu ile elde edilen ERE-GFP-MCF-7 hücrelerinde yapılmış ve östrojenik aktiviteyi artırıcı özellikte olduğu gösterilmiştir (Kuruto-Niwa et al., 2005).

Grignard ve ark. (2012)'nin yaptıkları ve BPS ve BPA'nın östrojenik aktivitelerinin karşılaştırıldığı bir diğer *in vitro* çalışmada, MCF-7 hücrelerine östrojenden sorumlu gen (ERE-_{Glob} Luc SV Neo) transfeksiyonu ile elde edilen MELN hücreleri kullanılmıştır. Pozitif kontrol olarak 17β-estradiolün kullanıldığı ve yukarıda BPF için özetlenen bu çalışmada, BPF'nin yanısıra BPS de kullanılmış ve bu bileşiklerin östrojenik aktiviteleri lusiferaz yöntemiyle değerlendirilmiştir. Çalışmaların sonucunda, BPA ve BPS'nin referans olarak kullanılan 17β-estradiolden daha düşük, ancak birbirlerine yakın poteste östrojenik aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir (Grignard et al., 2012). MELN hücreleriyle inkübasyonu sonunda östrojenik aktivasyonda görevli reseptörler olan h ERα, ERβ, androjen reseptörü (AR) ve pregnan X reseptörü (PXR)'a büyük oranda bağlandıkları ve özellikle hERα ve hERβ ya yüksek afinite gösterdikleri görülmüştür (Molina-Molina et al., 2013).

Son yıllarda, bisfenol türevlerinin endokrin bozucu etkileri ve karsinojenik etkilerinin yanı sıra immün sistem üzerindeki etkilerinin de incelendiği çalışmalar hız kazanmıştır. Mokra ve ark.'nın insan periferel kan mononükleer (PMN) hücreleriyle yaptıkları bir çalışmada, BPS'nin 0.1-100 mg/ml konsantrasyonlarda doz-bağımlı olarak kaspaz-3, kaspaz-8 ve kaspaz-9 u aktive ettiği; sitozolik kalsiyum iyonu düzeylerinin arttığı ve apoptozun indüklediği gösterilmiştir (Mokra, Kocia ve Michałowicz, 2015). İnsan PMN hücreleriyle yapılan bir başka çalışmada, bisfenol türevlerinin ATP düzeylerini değiştirme, reaktif oksijen türleri (ROS) ve hidroksi radikali oluşumuna neden olma, protein ve lipit hasarı oluşturma potansiyelleri araştırılmıştır. Artan konsantrasyonlarda (0,06-0,5 mM) BPS uygulaması ile 1 saatlik inkübasyon sonucunda ATP sentezinde azalma görülmüştür. BPS'nin neden olduğu ROS ve hidroksi radikallerinin oluşumunun doz bağımlı olduğu; ancak ciddi bir ROS artışına neden olmadığı belirlenmiştir. Tüm bu parametrelerin diğer bisfenollerle (BPAF, BPA ve BPF ile) karşılaştırılması sonucunda BPS'nin insan PMN hücreleri üzerinde daha az toksik etkiye neden olduğu görülmüştür (Michałowicz et al., 2015).

BPS'nin nongenomik aktivitesini tanımlamak amacıyla düşük dozlarda uygulanması ile sıçan prolaktinoma hücrelerindeki (GH3/B6/F10) etkileri incelenmiştir. Bu hücreler ekstranükleer ERα'yı (mERα) yüksek miktarda ifade etme yeteneğine sahip oldukları için belirgin nongenomik sinyal elde etmek amacı ile tercih edilmiştir. BPS konsantrasyonları çevresel kaynaklarda ve idrarda bulunan konsantrasyonlara eşdeğer olarak hazırlanmış; böylece çok düşük konsantrasyonların etkisinin belirlenmesi hedeflenmiştir. Çok düşük konsantrasyonlarda BPS'nin (10⁻¹⁵ - 10⁻⁷ M arası) 17β-estradiole benzer bir şekilde protein kinaz RNA (PKR) benzeri ER kinaz (PERK) yanıtını stimüle ettiği, 10⁻⁹ M konsantrasyonda 17β estradiolün neden olduğu PERK aktivasyonunu BPS'nin çok daha düşük konsantrasyonlarda sağladığı, doz ve cevap arasında ters orantılı bir ilişki olduğu görülmüştür. Ayrıca, BPS'nin 10⁻¹⁴ M konsantrasyonda pJNK'yı aktive etmemesine rağmen, aynı konsantrasyondaki 17β-estradiole ile kombinasyonunda önemli derecede pJNK aktivasyonuna neden olduğu gözlenmiştir (Viñas and Watson, 2013).

BPS ile Yapılan *In Vivo* Çalışmalar

Son yıllarda endüstride özellikle polikarbonat üretiminde BPA'nın yerini BPS'nin alması bu maddenin yaygın üretim ve kullanımını beraberinde getirmiştir. Bu da BPS'nin toksisitenin araştırıldığı hayvan deneylerinin de artmasına neden olmuştur.

Chen ve ark. (2012) tarafından yapılan ve yukarı-

da da özetlenen çalışmada, BPA ve diğer bisfenollerin su piresi üzerindeki akut toksik etkileri araştırılmıştır. BPA'nın 24 ve 48 saatlik maruziyetteki EC₅₀ değerleri sırasıyla 24 mg/L ve 10 mg/L iken, BPS için EC₅₀ değerlerinin aynı saatlerde sırasıyla 76 mg/L ve 55 mg/L olduğu ve BPS'in akut toksik etkisinin BPA'ya oranla çok daha düşük olduğu gösterilmiştir (Chen et al., 2002).

Naderi ve ark. (2014)'nın yaptıkları bir çalışmada BPS'nin üreme potansiyeli ve hormon dengesi üzerindeki etkilerini zebra balığında (*Danio rerio*) göstermişlerdir. Bu çalışmada yabancı tip olgun erkek ve dişi zebra balıkları 2 hafta boyunca temiz suda beslenmiş, fertilizasyonlarının ardından oluşan embriyolar 2 hafta sonra alınmış, önce 2 gün boyunca normal beslenme ile temiz suda bakılmış ve daha sonra 75 gün boyunca artan konsantrasyonlardaki gruplar halinde (0, 0.1, 1, 10 ve 100 mg/L) BPS içeren suda yaşatılmışlardır. 75 günlük maruziyet süresinin sonunda dişi ve erkek balıklar cinsiyetlerine göre ayrılmış, ayrılan erkek ve dişi balıklar 2 hafta boyunca temiz suda bakılmış, 7 günün sonunda her bir konsantrasyon grubunun yumurtaları toplanarak sayılmıştır. Aynı zamanda balıkların gonad, karaciğer ve vücut ağırlıkları tartılmış ve vücut uzunlukları ölçülmüştür. 17β-estradiol, testosteron, T₃ ve T₄ değerleri ELISA yöntemi ile ölçülmüştür. Deneylerin sonucunda, BPS'nin yüksek dozlarında (100 mg/L) mortalitede artış görülmüş, BPS'nin boy uzunluğu, vücut ağırlığı ve hepatosomatik indeksi etkilediği saptanmıştır. Özellikle, erkek balıkların boylarının dişi balıklara göre daha kısa olduğu ve 100 mg/L BPS konsantrasyonunun yüksek oranda boy kısalığına yol açtığı saptanmıştır. Vücut ağırlığının doz artışından belirgin bir şekilde etkilenmediği, ancak erkek balıkların daha az ağırlığa sahip oldukları görülmüştür. Gonado-somatik indekste dozlar arasında fark görülmez iken, erkek balıklarda önemli oranda düşüş gözlenmiştir. Hepatosomatik indeksin dişilerde doz bağımlı olarak yükseldiği; erkeklerde ise 100 mg/L konsantrasyon grubunda kontrol grubuna göre anlamlı farklılık gösterdiği tespit edilmiştir. Erkeklerde kontrol grubuna göre testosteron değerlerinde önemli oranda düşüş görülmüştür. Ayrıca, plazma tiroid hormon seviyelerinin (T₃ ve T₄) erkeklerde önemli oranlarda düştüğü görülürken, dişilerde anlamlı bir değişiklik olmadığı belirlenmiştir. Plazma estradiol seviyelerine bakıldığında ise, hem erkek hem de dişilerde doz bağımlı olarak arttığı görülmüştür. Bu çalışmanın sonucunda, balıklarda embriyo veya larva dönemlerinde düşük dozlarda bile maruziyette BPS'nin östrojeni taklit ederek yaşamlarının daha sonraki evrelerinde fizyolojik bozukluklara yol açabileceği; gelişimsel toksisiteye, hormonal dengesizliğe ve üreme bozukluklarına neden olabileceği iddia edil-

miştir (Naderi et al., 2014).

Üreme süreci hipotalamus-epifiz-gonadal (HPG) aks ile eşey organlarında steroidogenez sonucu üretilen steroid hormonları arasındaki etkileşimlerle düzenlenir. Çevresel kontaminasyon sonucu bu aksdaki steroid genlerin ekspresyonu ve hormonların konsantrasyonları olumsuz etkilenecek, endokrin sistem fonksiyonları bozulabilmekte ve üreme kapasitesi azalabilmektedir. Ji ve ark.'nın zebra balıkları ile yaptıkları bir çalışmada, BPS'nin HPG aksı ve üreme fonksiyonları üzerindeki etkileri incelenmiştir. 21 gün boyunca 0,5 mg/L, 5 mg/L ve 50 mg/L konsantrasyonlarında BPS'ye maruz bırakılan olgun dişi ve erkek zebra balıkların beyin somatik indeks, hepatik somatik indeks ve gonadal somatik indeksleri hesaplanmıştır. Aynı zamanda östrojen ve testosteron hormon seviyeleri ölçülmüştür. Gonadal somatik indeksin erkek ve dişide önemli ölçüde azaldığı, hepatik somatik indeks ve beyin somatik indeksinde anlamlı bir değişikliğin olmadığı görülmüştür. 17β-estradiol plazma konsantrasyonları erkek ve dişide önemli ölçüde artış göstermiştir. Testosteron seviyeleri erkeklerde önemli derecede düşerken, dişilerde herhangi bir değişim saptanmamıştır. 17β-estradiol/testosteron oranlarına bakıldığında ise, hem erkek hem de dişilerde önemli derecede artış gösterdiği belirlenmiştir (Ji et al., 2013).

BPA'nın obezite ve kanser gelişiminde etkileri çok sayıda çalışma ile incelenmiştir. Son yıllarda ise, anksiyete ve hiperaktivite gibi çocukluk çağı nörolojik hastalıklarında da rol oynadığı düşünülmektedir (Tian et al., 2010). BPS'nin BPA'ya yapıca benzerliği ve benzer fizyolojik etkilere yol açmasına rağmen, nörolojik etkileri konusundaki bilgiler yeterli değildir. Kinch ve ark.'nın zebra balıkları ile yaptıkları çalışmada BPS in hipotalamik nörogenizde normal gelişim sürecinden önce gelişime ve hiperaktif davranışlara neden olduğu gösterilmiştir. Çalışmada embriyonik zebra balığına BPA'nın benzer etki gösterdiği çok düşük dozlarda BPS (0,0068 mM, insanın günlük maruz kaldığı belirtilen dozun 1000 kat altı bir doz) verilmiştir ve nöronal gelişimin %240 oranında hızlandığı, %160 oranında lökomotor aktivitede artışa neden olduğu saptanmıştır (Kinch, et al., 2015). BPS'nin nörolojik etkilerini araştırmak amacıyla sıçanlar üzerinde yapılan başka bir çalışmada ise, BPS'ye 10 mg/kg/gün olarak 21 gün boyunca maruziyetinin steroid 5α-redüktaz (5α-R3) mRNA düzeylerinde düşüğe neden olduğu, dopamin ve serotonin genlerinin regülasyonunu da etkilediği gösterilmiştir (Castro et al., 2015).

SONUÇ

Çoğunlukla polikarbonat ve epoksi reçinelerin üretiminde yaygın olarak kullanılan BPA, 1957'den beri kullanımdadır (Liao et al., 2012; Gramsc Skledar

et al., 2015). BPA uzun yıllardır üzerinde çok fazla çalışma yapılan bir endokrin bozucudur. Ayrıca infertilite, metabolik hastalıklar, kanser (nöroblastoma, meme kanseri), astım, kardiyovasküler hastalıklar, diyabet ve anormal karaciğer fonksiyonları gibi patolojik durumlarla da ilişkilendirilmektedir. Son yıllarda başta çocuk ürünleri olmak üzere, birçok üründe BPA'nın kullanımı yasaklanmış veya kısıtlanmıştır (Ji et al., 2013; Feng et al., 2016). Bu yasaklamaların sonucu olarak, diğer bisfenol türevleri ve özellikle BPS ve BPF ticari reçine, plastik, gıda ve kağıt ürünleri üretiminde kullanılmaya başlanmıştır. Özellikle "BPA içermeyen, BPA'sız" etiketi ile satılan birçok üründe BPS ve BPF kullanıldığı bugün bilinmektedir (Rochester and Bolden, 2015).

BPS ve BPF'nin çevresel biodegradasyon ve biyoakümülyasyon açısından BPA ile benzer özelliklere sahip oldukları bilinmektedir. Ayrıca, bilhassa son on yıldır yaygın tüketim ve ticari kullanım nedeni ile yerüstü sularında, sediment ve kanalizasyon sularında BPA'ya yakın konsantrasyonlarda buldukları ve BPA'ya yakın miktarlarda çevresel kontaminasyona neden oldukları gösterilmiştir. BPF ve BPS'nin toksik etkileri ile ilgili çalışmalar son yıllarda artış gösterse de, henüz elde edilen bilgiler yeterli olmayıp daha fazla çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır (Eladak et al., 2015; Grignard et al., 2012; Rochester and Bolden, 2015). Bu maddelerle yapılan gerek *in vitro* gerekse *in vivo* çalışmaların sonuçları, BPF ve BPS'nin akut toksisite, genotoksisite ve östrojenik aktivite açısından BPA'ya benzer etkilere sahip olduğunu destekler niteliktedir (Boucher et al., 2016; Chen et al., 2002; Eladak et al., 2015; Kinch et al., 2015). Bu nedenle, gündelik yaşamda bu maddeler sıklıkla maruz kalmanın, özellikle bebekler ve çocuklar gibi toplumun hassas alt gruplarında oluşturabileceği toksik etkilerin iyi değerlendirilmesi gerekmektedir. BPA için olduğu gibi, BPF ve BPS için de güvenli alım dozlarının belirlenmesi ve düzenleyici kuruluşların bu dozları temel alarak bu maddelerin kullanımını sınırlandırmaları gerekmektedir. Yapılan sınırlı sayıda çalışmadan görüldüğü üzere, BPS ve BPF'nin BPA için iyi alternatifler olmadığı ve hatta toksik etkilerinin benzer mekanizmalarla ve benzer düzeylerde olduğu belirlenmiştir. Ayrıca, BPA, BPF ve BPS yerine endüstride kullanılacak endokrin bozucu etkisi ya da biyolojik aktivitesi olmayan maddelerin kullanılması için yeni arayışlar içine girilmelidir.

KAYNAKLAR

Atkinson, A., & Roy, D. (1995a). In vitro conversion of environmental estrogenic chemical bisphenol A to DNA binding metabolite (s). *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 210(2), 424-433.

Atkinson, A., & Roy, D. (1995b). In vivo DNA adduct formation by bisphenol A. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 26(1), 60-66.

Audebert, M., Dolo, L., Perdu, E., Cravedi, J.-P., & Zalko, D. (2011). Use of the γ H2AX assay for assessing the genotoxicity of bisphenol A and bisphenol F in human cell lines. *Archives of Toxicology*, 85(11), 1463-1473.

Barroso, J. (2011). Commission Directive 2011/8/EU of 28 January 2011 amending Directive 2002/72/EC as regards the restriction of use of bisphenol A in plastic infant feeding bottles. *Official Journal of the European Union*.

Bondesson, M., Jönsson, J., Pongratz, I., Olea, N., Cravedi, J.-P., Zalko, D., . . . Behl, C. (2009). A CASCADE of effects of bisphenol A. *Reproductive Toxicology*, 28(4), 563-567.

Boucher, J. G., Ahmed, S., & Atlas, E. (2016). Bisphenol S induces adipogenesis in primary human preadipocytes from female donors. *Endocrinology*, 157(4), 1397-1407.

Braniste, V., Jouault, A., Gaultier, E., Polizzi, A., Buissou-Brenac, C., Leveque, M., . . . Houdeau, E. (2010). Impact of oral bisphenol A at reference doses on intestinal barrier function and sex differences after perinatal exposure in rats. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(1), 448-453.

Cabaton, N., Chagnon, M.-C., Lhuguenot, J.-C., Cravedi, J.-P., & Zalko, D. (2006). Disposition and metabolic profiling of bisphenol F in pregnant and nonpregnant rats. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 54(26), 10307-10314.

Cabaton, N., Dumont, C., Severin, I., Perdu, E., Zalko, D., Cherkaoui-Malki, M., & Chagnon, M.-C. (2009). Genotoxic and endocrine activities of bis (hydroxyphenyl) methane (bisphenol F) and its derivatives in the HepG2 cell line. *Toxicology*, 255(1), 15-24.

Cabaton, N., Zalko, D., Rathahao, E., Canlet, C., Delouis, G., Chagnon, M.-C., . . . Perdu, E. (2008). Biotransformation of bisphenol F by human and rat liver subcellular fractions. *Toxicology in Vitro*, 22(7), 1697-1704.

Castro, B., Sánchez, P., Torres, J. M., & Ortega, E. (2015). Bisphenol A, bisphenol F and bisphenol S affect differently 5 α -reductase expression and dopamine-serotonin systems in the prefrontal cortex of juvenile female rats. *Environmental Research*, 142, 281-287.

Chen, M. Y., Ike, M., & Fujita, M. (2002). Acute toxicity, mutagenicity, and estrogenicity of bisphenol-A and other bisphenols. *Environmental Toxicology*, 17(1), 80-86.

ConsumersUnion. (2017). Policy & Action from Consumer Reports. State laws on BPA. İnternet Adresi: <http://consumersunion.org/research/progress-in-protecting-our-children/>. Son Erişim Tarihi: 15 Haziran 2017.

- Das, D., Lee, J-F, Cheng, S. (2004). Selective synthesis of Bisphenol-A over mesoporous MCM silica catalysts functionalized with sulfonic acid groups. *Journal of Catalysis*, 223, 152–160.
- Eladak, S., Grisin, T., Moison, D., Guerquin, M.-J., N'Tumba-Byn, T., Pozzi-Gaudin, S., . . . Habert, R. (2015). A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. *Fertility and Sterility*, 103(1), 11-21.
- European Commission - PRESS RELEASES - Press release - Bisphenol A: EU ban on use in baby bottles enters into force next week. (2017).
- Feng, Y., Jiao, Z., Shi, J., Li, M., Guo, Q., & Shao, B. (2016). Effects of bisphenol analogues on steroidogenic gene expression and hormone synthesis in H295R cells. *Chemosphere*, 147, 9-19.
- Fic, A., Žegura, B., Sollner Dolenc, M., Filipič, M., & Peterlin Mašič, L. (2013). Mutagenicity and DNA damage of bisphenol A and its structural analogues in HepG2 cells. *Archives of Industrial Hygiene and Toxicology*, 64(2), 189-200.
- Fiege, H., Voges, H. W., Hamamoto, T., Umemura, S., Iwata, T., Miki, H., . . . Paulus, W. (2000). Phenol derivatives. *Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry*.
- Fromme, H., Kuchler, T., Otto, T., Pilz, K., Müller, J., & Wenzel, A. (2002). Occurrence of phthalates and bisphenol A and F in the environment. *Water Research*, 36(6), 1429-1438.
- Gramec Skledar, D., Troberg, J., Lavdas, J., Peterlin Mašič, L., & Finel, M. (2015). Differences in the glucuronidation of bisphenols F and S between two homologous human UGT enzymes, 1A9 and 1A10. *Xenobiotica*, 45(6), 511-519.
- Grignard, E., Lapenna, S., & Bremer, S. (2012). Weak estrogenic transcriptional activities of Bisphenol A and Bisphenol S. *Toxicology in Vitro*, 26(5), 727-731.
- Hashimoto, Y., Moriguchi, Y., Oshima, H., Kawaguchi, M., Miyazaki, K., & Nakamura, M. (2001). Measurement of estrogenic activity of chemicals for the development of new dental polymers. *Toxicology in Vitro*, 15(4), 421-425.
- HASHIMOTO, Y., & NAKAMURA, M. (2000). Estrogenic activity of dental materials and bisphenol-A related chemicals in vitro. *Dental Materials Journal*, 19(3), 245-262.
- Hejmej, A., Kotula-Balak, M., & Bilińska, B. (2011). Antiandrogenic and estrogenic compounds: Effect on development and function of male reproductive system. *Steroid-Clinical Aspect, HA (ed). InTech: Rijeka*, 51-82.
- Héliès-Toussaint, C., Peyre, L., Costanzo, C., Chagnon, M.-C., & Rahmani, R. (2014). Is bisphenol S a safe substitute for bisphenol A in terms of metabolic function? An in vitro study. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 280(2), 224-235.
- Higashihara, N., Shiraishi, K., Miyata, K., Oshima, Y., Minobe, Y., & Yamasaki, K. (2007). Subacute oral toxicity study of bisphenol F based on the draft protocol for the "Enhanced OECD Test Guideline no. 407". *Archives of Toxicology*, 81(12), 825-832.
- Ibuki, Y., Tani, Y., & Toyooka, T. (2008). UVB-exposed chlorinated bisphenol A generates phosphorylated histone H2AX in human skin cells. *Chemical Research in Toxicology*, 21(9), 1770-1776.
- Iso, T., Watanabe, T., Iwamoto, T., Shimamoto, A., & Furuichi, Y. (2006). DNA Damage Caused by Bisphenol A and Estradiol through Estrogenic Activity (Highlighted paper selected by Editor-in-chief, Analytical Biochemistry). *Biological & Pharmaceutical Bulletin*, 29(2), 206-210.
- Ivett, J., Brown, B., Rodgers, C., Anderson, B., Resnick, M., & Zeiger, E. (1989). Chromosomal aberrations and sister chromatid exchange tests in Chinese hamster ovary cells in vitro. IV. Results with 15 chemicals. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 14(3), 165-187.
- Izzotti, A., Kanitz, S., D'Agostini, F., Camoirano, A., & De Flora, S. (2009). Formation of adducts by bisphenol A, an endocrine disruptor, in DNA in vitro and in liver and mammary tissue of mice. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 679(1), 28-32.
- Izzotti, A., Longobardi, M., Cartiglia, C., D'Agostini, F., Kanitz, S., & De Flora, S. (2010). Pharmacological modulation of genome and proteome alterations in mice treated with the endocrine disruptor bisphenol A. *Current Cancer Drug Targets*, 10(2), 147-154.
- Jaeg, J. P., Perdu, E., Dolo, L., Debrauwer, L., Cravedi, J.-P., & Zalko, D. (2004). Characterization of new bisphenol a metabolites produced by CD1 mice liver microsomes and S9 fractions. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52(15), 4935-4942.
- Ji, K., Hong, S., Kho, Y., & Choi, K. (2013). Effects of bisphenol S exposure on endocrine functions and reproduction of zebrafish. *Environmental Science & Technology*, 47(15), 8793-8800.
- Kang, J. S., Choi, J.-S., Kim, W.-K., Lee, Y.-J., & Park, J.-W. (2014). Estrogenic potency of bisphenol S, polyethersulfone and their metabolites generated by the rat liver S9 fractions on a MVLN cell using a luciferase reporter gene assay. *Reproductive Biology and Endocrinology*, 12(1), 102.
- Kidani, T., Kamei, S., Miyawaki, J., Aizawa, J., Sakayama, K., & Masuno, H. (2010). Bisphenol A downregulates Akt signaling and inhibits adiponectin production and secretion in 3T3-L1 adipocytes. *Journal of Atherosclerosis and Thrombosis*, 17(8), 834-843.

- Kienhuis, P. G., & Geerdink, R. B. (2000). Liquid chromatography–tandem mass spectrometric analysis of surface and waste water with atmospheric pressure chemical ionisation: II. Applications I For Part I, see Ref.[15] 1. *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 19(7), 460-474.
- Kinch, C. D., Ibhazehiebo, K., Jeong, J.-H., Habibi, H. R., & Kurrasch, D. M. (2015). Low-dose exposure to bisphenol A and replacement bisphenol S induces precocious hypothalamic neurogenesis in embryonic zebrafish. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(5), 1475-1480.
- Kitamura, S., Sanoh, S., Kohta, R., Suzuki, T., Sugihara, K., Fujimoto, N., & Ohta, S. (2003). Metabolic activation of proestrogenic diphenyl and related compounds by rat liver microsomes. *Journal of Health Science*, 49(4), 298-310.
- Kitamura, S., Suzuki, T., Sanoh, S., Kohta, R., Jinno, N., Sugihara, K., . . . Ohta, S. (2005). Comparative study of the endocrine-disrupting activity of bisphenol A and 19 related compounds. *Toxicological Sciences*, 84(2), 249-259.
- Kuruto-Niwa, R., Nozawa, R., Miyakoshi, T., Shiozawa, T., & Terao, Y. (2005). Estrogenic activity of alkylphenols, bisphenol S, and their chlorinated derivatives using a GFP expression system. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 19(1), 121-130.
- Lee, S., Liu, X., Takeda, S., & Choi, K. (2013). Genotoxic potentials and related mechanisms of bisphenol A and other bisphenol compounds: a comparison study employing chicken DT40 cells. *Chemosphere*, 93(2), 434-440.
- Liao, C., & Kannan, K. (2013). Concentrations and profiles of bisphenol A and other bisphenol analogues in foodstuffs from the United States and their implications for human exposure. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 61(19), 4655-4662.
- Liao, C., Liu, F., Alomirah, H., Loi, V. D., Mohd, M. A., Moon, H.-B., . . . Kannan, K. (2012). Bisphenol S in urine from the United States and seven Asian countries: occurrence and human exposures. *Environmental Science & Technology*, 46(12), 6860-6866.
- Liao, C., Liu, F., Guo, Y., Moon, H.-B., Nakata, H., Wu, Q., & Kannan, K. (2012). Occurrence of eight bisphenol analogues in indoor dust from the United States and several Asian countries: implications for human exposure. *Environmental Science & Technology*, 46(16), 9138-9145.
- Liao, C., Liu, F., & Kannan, K. (2012). Bisphenol S, a new bisphenol analogue, in paper products and currency bills and its association with bisphenol A residues. *Environmental Science & Technology*, 46(12), 6515-6522.
- Lintelmann, J., Katayama, A., Kurihara, N., Shore, L., & Wenzel, A. (2003). Endocrine disruptors in the environment (IUPAC Technical Report). *Pure and Applied Chemistry*, 75(5), 631-681.
- Michałowicz, J., Mokra, K., & Bąk, A. (2015). Bisphenol A and its analogs induce morphological and biochemical alterations in human peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Toxicology in Vitro*, 29(7), 1464-1472.
- Midoro-Horiuti, T., Tiwari, R., Watson, C. S., & Goldblum, R. M. (2010). Maternal bisphenol A exposure promotes the development of experimental asthma in mouse pups. *Environmental Health Perspectives*, 118(2), 273.
- Mokra, K., Kocia, M., & Michałowicz, J. (2015). Bisphenol A and its analogs exhibit different apoptotic potential in peripheral blood mononuclear cells (in vitro study). *Food and Chemical Toxicology*, 84, 79-88.
- Molina-Molina, J.-M., Amaya, E., Grimaldi, M., Sáenz, J.-M., Real, M., Fernández, M. F., . . . Olea, N. (2013). In vitro study on the agonistic and antagonistic activities of bisphenol-S and other bisphenol-A congeners and derivatives via nuclear receptors. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 272(1), 127-136.
- Naderi, M., Wong, M. Y., & Gholami, F. (2014). Developmental exposure of zebrafish (*Danio rerio*) to bisphenol-S impairs subsequent reproduction potential and hormonal balance in adults. *Aquatic Toxicology*, 148, 195-203.
- Ogawa, Y., Kawamura, Y., Wakui, C., Mutsuga, M., Nishimura, T., & Tanamoto, K. (2006). Estrogenic activities of chemicals related to food contact plastics and rubbers tested by the yeast two-hybrid assay. *Food Additives and Contaminants*, 23(4), 422-430.
- Öman, C., & Hynning, P.-Å. (1993). Identification of organic compounds in municipal landfill leachates. *Environmental Pollution*, 80(3), 265-271.
- Perez, P., Pulgar, R., Olea-Serrano, F., Villalobos, M., Rivas, A., Metzler, M., . . . Olea, N. (1998). The estrogenicity of bisphenol A-related diphenylalkanes with various substituents at the central carbon and the hydroxy groups. *Environmental Health Perspectives*, 106(3), 167.
- Peyre, L., Rouimi, P., de Sousa, G., Héliers-Toussaint, C., Carré, B., Barcellini, S., . . . Rahmani, R. (2014). Comparative study of bisphenol A and its analogue bisphenol S on human hepatic cells: a focus on their potential involvement in nonalcoholic fatty liver disease. *Food and Chemical Toxicology*, 70, 9-18.
- Pisapia, L., Del Pozzo, G., Barba, P., Caputo, L., Mita, L., Viggiano, E., . . . Bencivenga, U. (2012). Effects of some endocrine disruptors on cell cycle progression and murine dendritic cell differentiation. *General and Comparative Endocrinology*, 178(1), 54-63.
- Rajasärkkä, J., Koponen, J., Airaksinen, R., Kiviranta, H., & Virta, M. (2014). Monitoring bisphenol A and estrogenic chemicals in thermal paper with yeast-based bioreporter assay. *Analytical and Bioanalytical Chemistry*, 406(23), 5695-5702.

- Regnier, S. M., & Sargis, R. M. (2014). Adipocytes under assault: environmental disruption of adipose physiology. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 1842(3), 520-533.
- Richter, C. A., Birnbaum, L. S., Farabollini, F., Newbold, R. R., Rubin, B. S., Talsness, C. E., . . . vom Saal, F. S. (2007). In vivo effects of bisphenol A in laboratory rodent studies. *Reproductive Toxicology*, 24(2), 199-224.
- Rochester, J. R. (2013). Bisphenol A and human health: a review of the literature. *Reproductive Toxicology*, 42, 132-155.
- Rochester, J. R., & Bolden, A. L. (2015). Bisphenol S and F: a systematic review and comparison of the hormonal activity of bisphenol A substitutes. *Environmental Health Perspectives (Online)*, 123(7), 643.
- Roelofs, M. J., van den Berg, M., Bovee, T. F., Piersma, A. H., & van Duursen, M. B. (2015). Structural bisphenol analogues differentially target steroidogenesis in murine MA-10 Leydig cells as well as the glucocorticoid receptor. *Toxicology*, 329, 10-20.
- Rosenmai, A. K., Dybdahl, M., Pedersen, M., van Vugt-Lussenburg, B. M. A., Wedebye, E. B., Taxvig, C., & Vinggaard, A. M. (2014). Are structural analogues to bisphenol a safe alternatives? *Toxicological Sciences*, kfu030.
- Schweikl, H., Schmalz, G., & Rackebrandt, K. (1998). The mutagenic activity of unpolymerized resin monomers in *Salmonella typhimurium* and V79 cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 415(1), 119-130.
- Song, S., Song, M., Zeng, L., Wang, T., Liu, R., Ruan, T., & Jiang, G. (2014). Occurrence and profiles of bisphenol analogues in municipal sewage sludge in China. *Environmental Pollution*, 186, 14-19.
- Soto, A. M., & Sonnenschein, C. (2010). Environmental causes of cancer: endocrine disruptors as carcinogens. *Nature Reviews Endocrinology*, 6(7), 363-370.
- Staples, C. A., Dome, P. B., Klecka, G. M., Oblock, S. T., & Harris, L. R. (1998). A review of the environmental fate, effects, and exposures of bisphenol A. *Chemosphere*, 36(10), 2149-2173.
- Stroheker, T., Chagnon, M.-C., Pinnert, M.-F., Berges, R., & Canivenc-Lavier, M.-C. (2003). Estrogenic effects of food wrap packaging xenoestrogens and flavonoids in female Wistar rats: a comparative study. *Reproductive Toxicology*, 17(4), 421-432.
- Stroheker, T., Picard, K., Lhuguenot, J., Canivenc-Lavier, M., & Chagnon, M. (2004). Steroid activities comparison of natural and food wrap compounds in human breast cancer cell lines. *Food and Chemical Toxicology*, 42(6), 887-897.
- Tayama, S., Nakagawa, Y., & Tayama, K. (2008). Genotoxic effects of environmental estrogen-like compounds in CHO-K1 cells. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 649(1), 114-125.
- Tian, Y. H., Baek, J. H., Lee, S. Y., & Jang, C. G. (2010). Prenatal and postnatal exposure to bisphenol a induces anxiolytic behaviors and cognitive deficits in mice. *Synapse*, 64(6), 432-439.
- TGK (Türk Gıda Kodeksi). (2011). Türk Gıda Kodeksi Gıda Maddeleri ile Temasta Bulunan Plastik Madde Ve Malzemeler Tebliğinde Değişiklik Yapılması Hakkında Tebliğ (Tebliğ No: 2011/29). İnternet Adresi: <http://www.resmigazete.gov.tr/eskiler/2011/06/20110610-8.htm>. Son Erişim Tarihi: 15 Haziran 2017.
- Tsutsui, T., Tamura, Y., Yagi, E., Hasegawa, K., Takahashi, M., Maizumi, N., . . . Barrett, J. C. (1998). Bisphenol-A induces cellular transformation, aneuploidy and DNA adduct formation in cultured Syrian hamster embryo cells. *International Journal of Cancer*, 75(2), 290-294.
- Vandenberg, L. N. (2014). Non-monotonic dose responses in studies of endocrine disrupting chemicals: bisphenol a as a case study. *Dose-response*, 12(2), dose-response. 13-020. Vandenberg.
- Viñas, R., & Watson, C. S. (2013). Bisphenol S disrupts estradiol-induced nongenomic signaling in a rat pituitary cell line: effects on cell functions. *Environmental Health Perspectives (Online)*, 121(3), 352.
- Wetherill, Y. B., Akingbemi, B. T., Kanno, J., McLachlan, J. A., Nadal, A., Sonnenschein, C., . . . Belcher, S. M. (2007). In vitro molecular mechanisms of bisphenol A action. *Reproductive Toxicology*, 24(2), 178-198.
- Yamasaki, K., Noda, S., Imatanaka, N., & Yakabe, Y. (2004). Comparative study of the uterotrophic potency of 14 chemicals in a uterotrophic assay and their receptor-binding affinity. *Toxicology letters*, 146(2), 111-120.
- Yamasaki, K., Takeyoshi, M., Sawaki, M., Imatanaka, N., Shinoda, K., & Takatsuki, M. (2003). Immature rat uterotrophic assay of 18 chemicals and Hershberger assay of 30 chemicals. *Toxicology*, 183(1), 93-115.
- Yang, Y., Lu, L., Zhang, J., Yang, Y., Wu, Y., & Shao, B. (2014). Simultaneous determination of seven bisphenols in environmental water and solid samples by liquid chromatography-electrospray tandem mass spectrometry. *Journal of Chromatography A*, 1328, 26-34.

