




Endokrin Bozucu Kimyasal Maddelerin Nöroendokrin Bozucu ve Nörogelişimsel Etkileri

The Neuroendocrine and Neurodevelopmental Effects of Endocrine Disrupting Chemicals

 Anıl YİRÜN,^{a,b}
 Pınar ERKEKOĞLU,^a
 Belma KOÇER GÜMÜŞEL^a

^aFarmasötik Toksikoloji AD,
Hacettepe Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi,
Ankara

^bFarmasötik Toksikoloji AD,
Çukurova Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi,
Adana

Received: 25.01.2018
Received in revised form: 18.03.2018
Accepted: 21.03.2018
Available online: 11.04.2018

Correspondence:
Belma KOÇER GÜMÜŞEL
Hacettepe Üniversitesi
Eczacılık Fakültesi,
Farmasötik Toksikoloji AD,
Ankara,
TÜRKİYE/TURKEY
belmagumusel@yahoo.com

ÖZET Yaşamın değişik dönemlerinde endokrin bozucu kimyasal madde (EBK)'lere maruziyet, organizmada santral sinir sistemi dahil olmak üzere pek çok sistem üzerinde istenmeyen etkilere yol açabilmektedir. Özellikle anne karnındaki maruziyet ile çocukluk dönemindeki maruziyetin etkilerinin çok daha önemli olabileceği ve ciddi sonuçlara yol açabileceği üzerinde durulmaktadır. Son yıllarda, EBK'lere temas ile bilişsel eksiklikler, yavaş nörogelişim, agresyon ve depresyon insidansında artış, hiperaktivite ve dikkat sorunlarını ilişkilendiren çalışmalar bulunmaktadır. Santral sinir sistemi tüm nörotransmitter, nöropeptid ve nörohormon sistemleri ile denge durumunda işlemektedir. EBK'ler mevcut duygudurum dengesini bozarak duygusal, sosyal, davranışsal değişimlere veya nörodejeneratif hasarlara, öğrenme ve hafıza bozukluklarına neden olabilmektedirler. Maruziyetin sonuçları maruz kalınan doza, maruziyet zamanına ve maruz kalınan maddenin karakteristik özelliklerine göre değişim göstermektedir. Nöronal hasarlar özellikle sinir sisteminin gelişme döneminde meydana gelen maruziyetlerde daha belirgin olmaktadır. Belirtiler (öğrenme güçlüğü, otizm, dikkat eksikliği, hiperaktivite, nörodejeneratif hastalıklar) çoğunlukla birden fazla mekanizmanın birlikte etkilenmesiyle ortaya çıkmakta ve özellikle karışım hâlinde EBK'lere maruziyet sonucunda daha belirgin etkiler oluşabileceği öngörülebilmektedir. Bu çalışmada, çevrede çok yaygın olarak bulunan ve endokrin bozucu etkileri bilinen bisfenol A ve ftalatların nöroendokrin sistem ve nörogelişim üzerindeki toksik etkilerinin incelenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A; nörodavranış; nöroendokrin bozucu; nörogelişim; ftalatlar; cinsel dimorfizm

ABSTRACT Endocrine disrupting chemicals (EDCs) can cause undesirable effects on many systems, including the central nervous system, in exposed organisms at different periods of life. It can be emphasized that the effects of maternal and childhood exposure may be more important and may lead to serious consequences. In recent years, EDC exposure has been associated with cognitive deficits, slow neurodevelopment, increased incidence of aggression and depression, hyperactivity and attention problems. The central nervous system operates in balance with all neurotransmitters, neuropeptide and neurohormone systems. EDCs may cause emotional, social and behavioral changes or neurodegenerative damage, learning and memory disorders by disturbing the current state of mood balance. The results of EDC exposure vary according to dose, time of exposure and the characteristics of the substance. Neuronal damage is more pronounced in exposures that occur during the developmental stages of the nervous system. Symptoms (learning disability, autism, attention deficit, hyperactivity, neurodegenerative diseases) are often the consequences of multiple mechanisms being affected together, and it can be suggested that symptoms may be more significant, particularly as a result of exposure to EDCs in mixtures. In this review, the effects of bisphenol A and phthalates (which are abundant in the environment and are known to have endocrine disrupting effects) on the neuroendocrine system and neurodevelopment will be examined.

Keywords: Bisphenol A; neurobehavior; neuroendocrine disruptor; neurodevelopment; phthalates; sexual dimorphism

Endokrin bozucu kimyasal madde (EBK)'ler, hormonların sentezini ve/veya biyotransformasyonunu (metabolizma, atılımı) değiştirmek, hormon reseptörlerini aktive/antagonize etmek gibi çeşitli mekanizmalar yoluyla hormonların biyolojik etkilerini engelleyen, taklit eden ve vücudun normal endokrin işlevlerini bozan genelde ekzojen olan kimyasal maddelerdir. Bu maddeler, altta yatan mekanizma ne olursa olsun sonuçta maruz kalan bireyin endokrin fenotipini değiştirmektedir.¹ Bisfenol A [bisphenol A (BPA)] ve di(2-etilhekzil)ftalat (DEHP) çevrede oldukça yaygın olarak bulunan EBK'dir.² Bu maddelerin santral sinir sistemi (SSS)'ne, özellikle de öğrenme ve hafıza üzerine ters etkileri olduğu bildirilmiştir.³

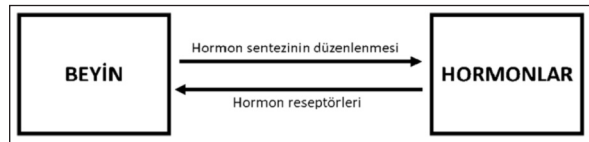
Bisfenoller, polikarbonat ve epoksi reçineleri üretmek için kullanılan geniş bir kimyasal ailesidir. En sık kullanılan türevleri BPA'dır.⁴ Önceki çalışmaların sonuçları, BPA'nın polikarbonat plastikler, epoksi reçineler, gıdalar ve içeceklerle temas hâlindeki diğer ürünlerden sızabildiğini ve bunun sonucunda toplumun genelinin BPA'ya sürekli olarak maruz kaldığını göstermiştir.⁵ Son zamanlardaki çalışmalar; BPA'nın toz, havadaki partiküller ve suda saptanabilir olduğuna işaret etmektedir. BPA'nın çevrede yaygın olarak bulunduğu bilinmekte ve başlıca maruziyetin diyet ve su ile olduğu bildirilmektedir. Ayrıca; otomobil, elektronik eşya ve spor malzemeleri üreten, CD ve DVD kaplama yapan iş yerlerinde çalışanlarda mesleki maruziyetin de söz konusu olduğu bilinmektedir.⁶ Diğer taraftan, BPA'ya solunum ve deri yoluyla maruziyet de söz konusudur. BPA'nın insan vücudundaki sıvılar ve dokularda (örneğin; plasenta, amniyotik sıvı, kan, serum, tükürük, anne sütü, üreme dokuları ve kordon kanı) saptanabilir olduğu bildirilmektedir.⁵

Ftalatlar, plastik ürünlerin esnekliğini ve dayanıklılığını artırmak için kullanılan endüstriyel kimyasal maddelerdir. Gıda ambalajı, polivinil klorür, tıbbi malzeme, oyuncak ve kozmetik gibi çok çeşitli ticari ürünlerde kullanılmaktadır. Yüksek üretim hacmi, yaygın kullanım ve çevre kirliliği nedeni ile bu bileşikler günlük olarak oral, inhalasyon ve dermal yollarla insanlara ulaşmaktadır.⁷ Ftalatlar kimyasal olarak plastik polimerlere bağlı

değildirler ve kolayca çevreye bırakılmaktadırlar. Vücuda alındıktan sonra hızlı bir şekilde metabolize edilmektedirler ve primer olarak idrar ile atılmaktadırlar.⁸ Ftalatlarla yapılan in vivo çalışmalar, bu kimyasal maddelerin potansiyel EBK olduğunu göstermiştir.⁷

Nöroendokrin sistem; fizyolojik ve davranışsal durumu düzenlemek için entegre bir şekilde işlev gören nöronlar, bezler, endokrin olmayan dokular ve bunların ürettikleri humoral sinyaller, hormonlar ve nörokimyasalları içeren karmaşık yapı bir sistemdir. Hormon salgıları çoğunlukla beyin tarafından kontrol edilmekte ve birçok hormon da beyin işlevlerini etkilemektedir. Bu etkileşimler "nöroendokrin bilimi" tarafından incelenmektedir.⁹ Nöroendokrin sistem, fizyolojik ve davranışsal süreçleri düzenlemek için tüm endojen (hormonlar, metabolik sinyaller) ve ekzojen (feromonlar, sıcaklık) uyarıları bütünleştirmekte; davranışsal, bilişsel, gelişimsel, immünolojik, dejeneratif ve metabolik süreçlerin düzenlenmesini sağlamaktadır.¹⁰ Santral nöroendokrin sistemler hipotalamus, hipofiz ve hedef sistemler tarafından düzenlenen süreçleri kontrol etmektedir. Hipotalamus, SSS ve vücudun geri kalan kısmı arasında önemli bir arayüz görevi görmektedir.⁹ Beyin ve hormonlar arası etkileşimin temeli Şekil 1'de görülmektedir.

Nöroendokrin sistem, beyin ve periferal endokrin sistem arasında bağlantılar kurarak bir organizmanın normal koşullar altında kendi çevresine yanıt verme yeteneğinde kritik rol oynamaktadır. Homeostaz, çevreye karşı endokrin, davranışsal ve otonom sinir sistemi tepkileri üzerinde eş güdümlü kontrol gerektiren bir süreçtir. Hipotalamus ve bunun içinde yer alan nöroendokrin/nöronal sistem, bu homeostatik işlevlere aracılık etmek için önemli bir entegrasyon merkezi olarak rol üstlenmek üzere gelişmiştir. Nöroendokrin homeostaz, çevresel EBK tarafından bozul-



ŞEKİL 1: Beyin ve hormonlar arası etkileşimin temeli.

duğunda, özellikle kritik gelişme dönemlerinde çeşitli dalgalanmalar oluşabilmektedir.^{11,12}

Santral nöroendokrin sistemin bileşenleri birbirleriyle iletişim kurmaktadır ve ortaya çıkan çapraz iletilimler maruziyetin birden fazla homeostatik sistem üzerinden etkisini artırabilmektedir. Bu bileşenler hem hormonal sinyalleri kontrol edip hem de bu sinyallere yanıt vermeleri nedeni ile EBK için önemli hedeflerdir. Memelilerde nöroendokrin gelişiminin steroid hormon seviyelerindeki değişime duyarlı olduğu iyi bilinmektedir. Nöroendokrin sistem, uyarılara çok hızlı yanıt verebilmekte ve bu yanıtlar saatler, günler ve haftalar süresince uzayabilmektedir.¹³

Nöroendokrin bozucu kimyasal maddeler; nöropeptit, nörotransmitter ve nörohormonların agonisti/antagonisti olarak davranabilmekte ve bunların sentezlerini/metabolizmalarını değiştirebilmektedir. Bu etkileri çeşitli fizyolojik, davranışsal veya hormonal süreçleri etkilemekte ve organizmaların üreme, çoğalma, büyüme, gelişme ve stresle başa çıkabilme kapasitelerini değiştirebilmektedir. Bu değişiklikler daha sonra birçok farklı nörofizyolojik durumu beraberinde getirebilmektedir.¹⁴

NÖROENDOKRİN BOZUCU KİMYASAL MADDELER İLE YÜRÜTÜLEN HAYVAN ÇALIŞMALARI

BPA ve ftalatların nöroendokrin sistem ve SSS gelişimi üzerine etkilerini inceleyen çok sayıda hayvan çalışması bulunmaktadır. EBK, SSS'de nöroendokrin ve endokrin olmayan yapıların perinatal gelişimini ve cinsiyete özgü farklılaşmasını bozarak canlının bilişsel ve davranışsal kapasitesini değiştirebilmektedir. Değişen bu fizyolojik durum kendini bilişsel fonksiyonda gerileme, stres yanıtında değişim, sosyoseksüel ve ebeveyn davranışlarında bozulmalar şeklinde gösterebilmektedir.^{15,16} Nöroendokrin bozucu kimyasal maddelere bağlı etkiler ve bu konuda yürütülen hayvan çalışmaları farklı başlıklar altında aşağıda sunulmuştur.

CİNSİYETE BAĞLI ETKİLER

Birçok davranış ve nöroendokrin yollar cinsel olarak dimorfiktir. Prenatal gelişimin kritik dönemle-

rinde hormon fonksiyonunu bozan kimyasal maddelere maruz kalma, cinsiyete özgü ve hormonal mekanizmalarla düzenlenen davranışsal ve morfolojik süreçleri bozabilmektedir.¹⁶ Fetal beyin, endojen androjen ve östrojenler tarafından yaşamın ileri dönemlerinde aktive olacak şekilde cinsel dimorfik bir tarzda, erkekler ve dişiler arasında morfolojik ve işlevsel farklılıklarla oluşmaktadır.¹² Cinsel farklılaşma süreci boyunca cinsiyete özgü farklı düzeylerdeki östrojen reseptör [estrogen receptor (ER)] ifadesinin bozulması, EBK'nin hipotalamus başta olmak üzere beyindeki farklı bölümlerde geri dönüşsüz işlevsel ve organizasyonel değişimlere neden olan moleküler mekanizmaların en önemlisidir.¹⁷

Neonatal yaşamın, hipotalamus-hipofiz-gonad ekseninin cinsel dimorfik organizasyonu için kritik bir dönem olması nedeni ile bu dönemdeki maruziyetler erişkin üreme fizyolojisinde meydana gelebilecek bozuklukların temelini oluşturabilmektedir. Cao ve ark.nın yaptığı bir çalışmada hipotalamustaki ER ve kispettin (Kiss1) ifadelerinin neonatal (prenatal gün 0-2 arası) BPA maruziyetine duyarlı olduğu gösterilmiştir. Ayrıca, östradiol benzoat ve BPA'nın bu proteinlerin ifadesi üzerinde birbiriyle benzer etkilerinin olmaması, BPA'nın yalnızca östrojeni taklit etmenin dışında, farklı bir mekanizma ile de hipotalamik organizasyona etki ettiğini göstermektedir.¹⁸

Perinatal dönemde SSS'nin gelişimi sırasında aromataz aracılı lokal östrojen oluşumu, beyinde spesifik bölgelerdeki (örneğin; hipotalamus preoptik bölge, limbik sistem) nöral yapıların cinsiyete özgü farklılaşması için kritiktir. Antiandrojenik etkilerine ek olarak, ftalatların aromataz aktivitesini değiştirerek östrojen metabolizmasını etkiledikleri düşünülmektedir. Andrade ve ark.nın yaptığı çalışmada, perinatal olarak DEHP'ye maruz kalan sıçanların postnatal 1. gün [postnatal day 1 (PND 1)] ve PND 22. günde hipotalamus preoptik bölgedeki aromataz aktivitesi ölçülmüştür. Erkeklerde PND 1'de aromataz aktivitesinin düşük dozlarda inhibe olduğu ve yüksek dozlarda arttığı (J-şekilli doz-yanıt profili) bulunmuştur. PND 1'deki bulguların aksine PND 22'deki aromataz aktivitesi, dişilerde erkeklere göre daha fazla etkilenmiştir. Bu sonuç-

lar, DEHP maruziyetine erkek ve dişilerin yaş ve doz-yanıt eğrisi açısından farklı yanıtlar verdiğini göstermektedir.¹⁹

Hipotalamustaki anteroventral periventriküler çekirdek (AVPV) ve cinsel dimorfik çekirdek-mediyal preoptik alan [sexually dimorphic nucleus of the preoptic area (SDN-POA)] cinsiyete özgü üreme fizyolojisi ve davranışlarda rol oynamakta ve her iki bölge de östradiol bağı olarak cinsiyete bağı gelişim göstermektedir. Erkek ve kadınlar her iki bölgede aynı sayıda nöron ile doğmaktadır; ancak, neonatal yaşam süresince ER- α aracılıklı östradiol bağımlı seçici hücre ölümü hızla morfolojik cinsiyet farklılıklarına neden olmaktadır. BPA'ya perinatal maruziyet, sıçanlarda AVPV ve SDN-POA morfolojisini ve bileşimini BPA'nın referans dozunu (50 μ g/kg/gün) da kapsayan bir doz aralığında değiştirmektedir. Etkiler SDN-POA'da demaskülinizasyon ve AVPV'de defeminizasyon olmak üzere bölge ve cinsiyete spesifik olarak gerçekleşmektedir.²⁰

BEYİN GELİŞİMİ VE BİLİŞSEL FONKSİYONLAR ÜZERİNE ETKİLERİ

Gonadal hormonlar, öğrenme ve hafızanın hipokampus ve serebral korteks seviyesinde düzenlenmesi için esansiyeldir. Bu hormonlar, hipokampusun sinaptik plastisitesini, fizyolojisini ve hipokampus aracılıklı hafıza davranışlarını düzenler.²¹ Seks steroidleri ve tiroid hormonlarının SSS gelişimindeki önemi bilindiğinden, özellikle gelişim döneminde EBK maruziyetinin nörogelişimsel sonuçlar doğurabileceği öngörülebilmektedir. Hücre çoğalması, göçü, farklılaşması ve sinaptogenezin içsel bir programa göre ilerlediği ve beyindeki normal gelişimi sağladığı iyi bilinmektedir. Bu işlem engellenir ise, nörogelişimsel bozukluklar ortaya çıkabilmektedir.²²

Memeli beyin gelişimi, tam olgunlaşmaya erişmeden önce çeşitli içsel gelişim süreçlerini ve aşamalarını içermektedir. Beyin gelişme süreci (BGS) olarak adlandırılan bu dönem, aksonal ve dendritik büyüme, sinaptogenez, glial çoğalma, miyelinsiyonun olgunlaşması ve nöral bağların kurulması gibi birçok kritik gelişimsel değişikliğin görüldüğü ve zararlı kimyasal maddelere maruziyet açısından

hassas bir süreçtir. BGS'nin biyokimyasal sürecinde yer alan proteinler arasında kalsiyum/kalmodulin bağımlı kinaz [calcium/calmodulin-dependent kinase II (CaMKII)], büyüme ilişkili protein 43, sinaptofizin ve Tau bulunmaktadır. CaMKII sinaptik plastisite ve hafızanın düzenlenmesinde görev almaktadır. Viberg ve Lee, beyin gelişiminin en hızlı olduğu neonatal dönemde tek doz BPA enjeksiyonunun farelerde bu proteinler üzerinde etkisini araştırmışlardır. Enjeksiyondan beş ay sonra yapılan ölçümlerde diş farelerin hipokampus ve korteks bölgesinde CaMKII seviyelerinin azaldığı (hipokampus $p < 0.001$; korteks, $p < 0.05$) bulunmuştur.²³

Oksidatif stres, reaktif oksijen türleri (ROS)'nin aşırı birikimi ile indüklenmekte ve hücre işlevinin ve hayatta kalmasının temel mekanizmalarını değiştirebilmektedir. Beynin oksijen depolama kapasitesi çok düşük ve yapısından dolayı beyinde lipit peroksidasyonunun oluşma ihtimali yüksek olduğundan, beyin hücreleri oksidatif strese yüksek derecede duyarlıdır. Beyinde oksidatif stres oluşması ve apoptoz, çeşitli nörodejeneratif hastalıkların gelişimi için oldukça önemli patofizyolojik olaylardır. Oksidatif stresin indüksiyonunun, EBK'lerin beyin ve diğer organlardaki toksisitesinin altında yatan önemli bir mekanizma olduğu düşünülmektedir. El-Missiry ve ark., BPA'ya altı hafta boyunca oral maruziyetin, sıçanların serebellumunda lipit peroksidasyon düzeylerinde belirgin artışa neden olduğunu belirlemişlerdir.²⁴ Li ve ark.'nın yaptığı çalışmada, altıncı gestasyonel gün ile PND 21 arası 500 mg/kg/gün dozda dibütil ftalata [dibutyl phthalate (DBP)] maruz kalan sıçanların, hipokampal nöronlarında apoptotik hücre sayısında ve kaspaz-3 düzeyinde artış gözlenmiştir.²⁵

Nörodejeneratif hastalıkların temelinde yatan diğer bir mekanizma eksitotoksisitedir. Khadrawy ve ark., BPA'nın korteks ve hipokampusta eksitator (glutamat ve aspartat) ve inhibitör [gama-aminobütirik asit (GABA), glisin ve taurin] nörotransmitterler üzerindeki etkisini araştırmışlardır. Sonuçta, kortekste glutamat miktarında artışa karşılık inhibitör nörotransmitterlerin seviyelerinde azalma görülmüştür. Ayrıca, korteks ve hipokam-

pusta lipit peroksidasyon ve nitrik oksit miktarında artış belirlenmiştir. Kortekste meydana gelen mevcut değişiklikler, BPA'nın glutamat ile indüklenen eksitotoksistiteyi artırdığını ve oksidatif stres düzeylerini yükselttiğini düşündürmektedir.²⁶

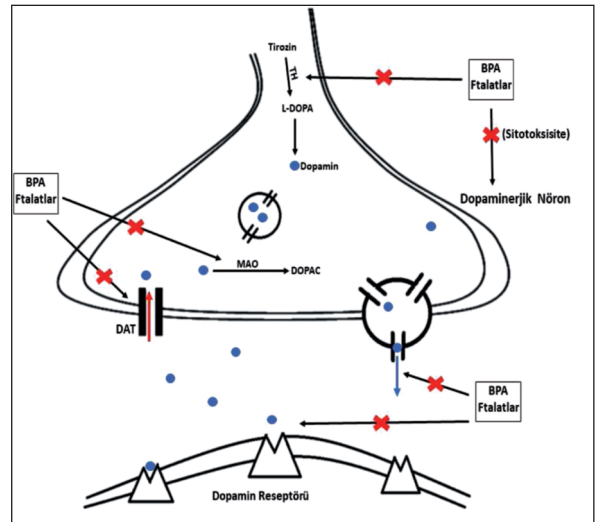
Araştırmalar, belleği etkileyen beyin bölgelelerinde (örneğin; hipokampus, prefrontal korteks) sinaptik plastisite ve sinaptogenezin östrojene bağlı olarak geliştiğini göstermektedir. BPA'nın hayvanlarda hafızanın kuvvetlenmesini antagonize ettiğini gösteren çalışmalar mevcuttur. Eliam-Stock ve ark., BPA maruziyeti sonucu sıçanlarda hafıza testi sonuçlarında düşme olduğunu ve prefrontal korteks ve hipokampus CA1 bölgesinde %10-25 oranında dendrit yoğunluğunun azaldığını göstermişlerdir.²⁷

Eksitator sinapslarda bulunan iyonotropik glutamat reseptörlerinden biri olan N-metil-D-aspartat (NMDA) reseptörü, sinaptik bağlantılar kurulması ve normal beyin fonksiyonunun devamı için kritik öneme sahiptir.²⁸ NMDA, östrojen ve diğer gonadal hormonların etkisi altındaki öğrenme ve hafıza için hücresele bir model olan uzun süreli potansiyalizasyona [long-term potentiation (LTP)] katılmaktadır. LTP'nin, hatıraların beyinde depolandığı ana sinirsel mekanizmalardan biri olduğu düşünülmektedir.²⁹ Yapılan çalışmalar, GD 7-PND 21 arasında 50 ve 200 mg/kg/gün dozda DEHP maruziyetinin altı haftalık erkek farelerde NMDA reseptör alt birimlerinden NR1 ve NR2B ekspresyonunu azalttığını ($p<0,01$) ve Morris su labirenti testinde hafızayı geriletmediğini ($p<0,01$) göstermiştir.³⁰ Eksitator sinapsların postsinaptik zarında lokalize edilen postsinaptik yoğunluk, membran reseptörleri, hücre adezyon molekülleri, sitoplazmik sinyal molekülleri ve iskele proteinlerini (scaffold proteins) içermektedir ve sinyal iletiminde çok önemlidir. Wang ve ark.nın yaptığı çalışmada, GD 9-GD 20 arasında BPA maruziyetinin hipokampus CA1 bölgesindeki nöronlarda sinaptik açıklıkta artış ile birlikte sinaptik yoğunluk açısından önemli olan PSD-95 ve NMDAR1 sinaptik proteinlerinin miktarında azalmaya ($p<0,05$) neden olduğu bulunmuştur.³¹

Beyin türevli nörotrofik faktör [brain-derived neurotrophic factor (BDNF)] nöral ve sinaptik gelişimde önemli bir yer tutmaktadır. Smith ve ark.nın yaptığı çalışmada, ftalatların hipokampal CA3 nöronlarında dendrit yoğunluğunun azalmasına neden olarak, BDNF ekspresyonundaki azalmanın moleküler mekanizmalarından biri olabileceği bulunmuştur.³²

MONOAMİN NÖROTRANSMİTTERLER ÜZERİNE ETKİLERİ

Nörotransmitterler beyin fonksiyonlarının düzenlenmesinde anahtar rol oynamaktadır. Birçok zihinsel ve sinirsel hastalık nörotransmitter seviyelerinde dengesizlik ve işlevlerindeki düzensizlik ile ilişkilidir.³³ Orta beyin ve amigdala, beyinde dopaminerjik, adrenerjik ve serotonerjik sistemlerin en etkin olduğu ve davranışlar, duygudurum, anksiyete ve dikkat üzerine etki eden bölgelerdir. Serotonerjik sistem uyku/uyanma döngüleri, lökomotor aktivite ve duygusal durumlar gibi bir dizi fizyolojik ve davranışsal durumda önemli rol oynamaktadır. Dopamin; bilişsel fonksiyon, motor aktivite, motivasyon, ruh hâli ve öğrenme gibi çeşitli süreçlerde görev almaktadır. Sonuç olarak, bu nörotransmitterlerin transmisyonunda olan değişiklikler çeşitli nörolojik süreçleri etkileyebilmekte ve davranış bozukluklarına yol açabilmek-



ŞEKİL 2: Endokrin bozucu kimyasal maddelerin dopaminerjik nörotransmisyon üzerindeki etkileri.

BPA: Bisfenol A; **DAT:** Dopamin taşıyıcı protein; **DOPAC:** 3,4-dihidroksi fenil asetik asit; **MAO:** Monoamin oksidaz; **TH:** Tirozin hidroksilaz.

tedir.³⁴ EBK'lerin dopaminerjik nörotransmisyon üzerindeki etkileri Şekil 2'de görülmektedir.

Dorsal raphe çekirdek, orta beyinde serotonerjik sistemin ve duygusal modun yönetildiği merkez konumundadır. Bu çekirdekteki serotonerjik nöronların birçoğunun ER- α ve ER- β ekspresyonunu gösterdiği gözlenmiştir. Hem dopamin hem de serotonin (5-HT) üretiminin östrojen bağlı mekanizmalar tarafından düzenlenmesi bu sistemleri EBK'lerin ters etkilerine açık hâle getirmektedir.¹⁵

Honma ve ark.nın yaptığı çalışmada üç haftalık sıçanların BPA'ya (4 ve 40 mg/kg/gün) prenatal ve postnatal (GD6-PND20) maruziyetinin DA, DA metabolitleri [3,4-dihidroksi fenil asetik asit [3,4-dihydroxyphenylacetic acid (DOPAC)], homovanilik asit (HVA)], 5-HT ve 5-hidroksi indol asetik asit (5-HIAA) düzeyleri üzerine etkisi araştırılmıştır. BPA maruziyeti ile ön beyinde HVA ve DOPAC düzeylerinin arttığı gözlenmiştir ($p<0,05$). Bu durum, BPA'nın DA'nın sinir uçlarından salınımını ve metabolitlere dönüşüm hızını artırdığını düşündürmektedir.³³ Nakamura ve ark.nın yaptığı benzer bir çalışmada, GD0-PND21 arası farelere subkütan enjeksiyon ile 20 μ g/kg/gün BPA uygulanmıştır. Doğan farelerde 14-15. haftalar arasında kaudat/putamen çekirdekte DA ve DOPAC konsantrasyonlarında (DA, $p<0,01$; DOPAC, $p<0,05$) ve dorsal raphe çekirdekte 5-HT ve 5-HIAA düzeylerinde (5-HT, $p<0,001$; 5-HIAA, $p<0,01$) artış gözlenmiştir.³⁵

Dopaminerjik nörotransmisyon; sentez, salınım, geri alım, depolama, metabolizma ve reseptör aktivasyonu gibi çeşitli süreçlerin aynı anda işlevini gerektirmektedir. Birbirine bağlı süreçler nedeniyle tek bir işlemde meydana gelen değişiklikler, DA ile ilişkili davranışlarla ilgili diğer süreçler üzerinde etkili olabilmektedir.³⁴ Mizuo ve ark.nın yaptığı çalışmada, BPA'nın prenatal ve neonatal maruziyet sonucunda fare limbik sisteminde fonksiyonel DA reseptörü D3 seviyesinde düşmeye sebep olduğu, ancak yeni D3 reseptör sentezini etkilemediği bulunmuştur.³⁶ Nörotransmitter metabolizmasını göz önüne alarak, Matsuda ve ark., BPA'nın monoamin oksidaz (MAO) seviyeleri üze-

rine etkisini araştırmışlardır. GD10-PND20 arası subkütan olarak 250 ng/kg/gün BPA uygulanan gebe farelerden doğan erkek yavruların omurilik soğanında MAOB aktivitesinin azaldığı ($p<0,05$) gözlenmiştir. Yenidoğan dişilerde ise bu etki görülmemiştir.³⁷

Hipokampus, duygu ve davranış açısından önemli bir bölgedir. Hipokampüste gerçekleşen noradrenerjik ve serotonerjik transmisyonun depresyon ile ilişkili olduğu düşünülmektedir. Matsuda ve ark.nın sıçanlar üzerinde yaptığı bir çalışmada, PND2'de intrakraniyal 1 μ g/kg BPA enjeksiyonunun hipokampusta 5-HT ve noradrenalin (NE) seviyelerini artırdığı (5-HT için $p<0,001$; NE için $p<0,01$) bulunmuştur. Bu etkiler, BPA'nın duygu ve davranışlar üzerindeki nörogelişimsel toksisite mekanizmalarından biri olarak değerlendirilebilmektedir.³⁸

Gelişmekte olan sıçan beyni üzerine DEHP'nin farklı etkilerinin olabileceği ve bu etkilerin gen ekspresyon düzeylerindeki değişikliklerden çok, mezensefalik tirozin hidroksilaz üzerine etkilerinden kaynaklanabileceği belirtilmektedir. Ishido ve ark.nın yaptığı bir çalışmada beş günlük Wistar sıçanlara tek doz (87 nmol/10 μ l) intrasisternal DEHP uygulanmış; bu sıçanlar dört-beş haftalık olunca belirgin hiperaktivite artışı ($p<0,001$) göstermişlerdir. Bu durumla birlikte sıçanların orta beyin bölgesinde dopamin D4 reseptör ve dopamin taşıyıcı seviyelerinin düştüğü, substantia nigrada dopaminerjik nöronlarda apoptozun arttığı bulunmuştur.³⁹

Genel popülasyonun EBK'lere karışım hâlinde maruz kaldığı bilinmektedir. Bu durumun da, karışım hâlinde maruziyetin araştırıldığı in vivo çalışmaların genel popülasyondaki maruziyetin sonuçlarını anlamakta daha yararlı olacağı düşünülebilmektedir. Tanida ve ark.nın yaptığı çalışmada; BPA, DEHP ve tetraklorodibenzo-p-dioksin'e tek tek ve karışım hâlindeki maruziyetin sonuçları araştırılmıştır. Hem BPA hem de DEHP maruziyeti sonucunda dört haftalık sıçanlarda orta beyindeki A9 ve A10 dopaminerjik çekirdeklerde dopaminerjik nöron seviyeleri azalmıştır. Ancak, karışım hâlindeki maruziyette aynı etkiler görülmemiştir.⁴⁰

BPA gibi EBK'lere maruziyet, ayrıca morfin ve amfetamin gibi maddelerin limbik sistemde indüklediği yüksek hareketlilik (hiperlokomosyon) ve ödül etkisini G-protein aktivasyonu yoluyla önemli ölçüde artırmaktadır. Narita ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, implantasyon (GD0-7), organogenez (GD7-14), parturisyon (GD14-20) ve laktasyon (PND1-21) olmak üzere dört farklı dönemde 2 mg/kg BPA maruziyetinin etkileri araştırılmıştır. Organogenez ve laktasyonda BPA'ya maruz kalan farelerde morfinle ödüllendirme ve hareketlilikte artış gözlenir iken, implantasyon ve parturisyon dönemindeki maruziyette bu değişimler gözlenmemiştir. Bu durum, maruziyet zamanının morfinle ödüllendirme ve hareketlilik üzerine etkisinin önemini göstermektedir.⁴¹

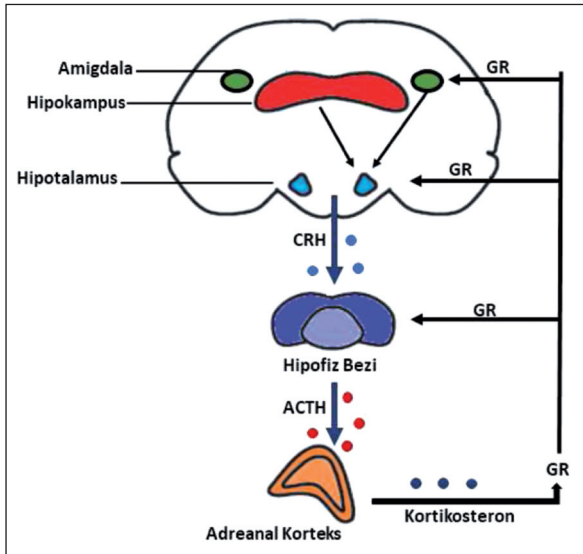
STRES/ANKSİYETE

Stres genel olarak, "gerçek veya algılanan bir tehditin varlığında homeostazın bozulmasına karşı organizmanın verdiği tepki" olarak tanımlanabilmektedir.⁴² Organizmanın, homeostazı tehdit eden herhangi bir duruma verdiği yanıt, semptomatöller ve hipotalamus-hipofiz-adrenal bez [hypothalamic-pituitary-adrenal axis (HPA)] aksını içeren stres sistemine dayanmaktadır. Hipotalamustan salgılanan kortikotropin salgılatıcı hormon ve hipofiz

bezinden salgılanan adrenokortikotropik hormon [adrenocorticotrophic hormone (ACTH)] adrenal korteksten kortikosteroidlerin salınımını düzenleyerek, nöroendokrin stres yanıtına yol açmaktadır. Amigdala ve hipokampus glukokortikoid reseptörleri (GR) aracılığıyla hipotalamusa geri bildirim sağlamaktadır (Şekil 3).⁴³ HPA aksı homeostaza karşı gelişen durumlarda stres yanıtının başlatılmasını ve sonlandırılmasını düzenlemekte ve glukokortikoid salınımını kontrol etmektedir. Stres tepkisinin harekete geçirilmesi, bir bireyin homeostatik zorluklarla karşılaştığında hayatta kalma şansını artıran bir takım davranış ve davranışsal değişiklikleri içermektedir.⁴² İnsanlarda ve bazı hayvanlarda stres adaptasyonundaki başarısızlık; depresyon, obezite, kronik inflamasyon gibi çeşitli patofizyolojik durumlara neden olabilmektedir.⁴³

Hipokampus, amigdala ve prefrontal korteks gibi ekstra-hipotalamik bölgeler HPA aksı ile karşılıklı etkileşim içindedir.⁴³ Limbik sistem, özellikle hipokampus düşük afiniteli GR ve yüksek afiniteli mineralokortikoid reseptörleri (MR) yoluyla HPA aksına kortikosteroid aracılı geri bildirim sağlamaktadır. Hipokampal GR'deki anomaliler, HPA aksı üzerindeki kortikosteroid aracılı negatif geri bildirimi bozarak depresyonda HPA hiperaktivitesine neden olmaktadır. Chen ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, GD10-PND7 arası subkütan olarak 2 µg/kg BPA enjekte edilen sıçanlardan doğan dişi yavrularda GR ekspresyonunda artış gözlenmiş ve HPA aksının baskılandığı belirlenmiştir. Erkek yavrularda ise GR mRNA düzeylerinde azalma gözlenmiş ve bu durum HPA hiperaktivitesine sebep olmuştur. Çalışmanın sonuçları; BPA'ya perinatal maruziyetin GR ve MR ekspresyonunu değiştirerek, GR aracılı geri bildirimi ve MR bağımlı nöronal nitrik oksit sentaz siklik adenosin monofosfat yanıt elemanı bağlayıcı protein (nNOS-CREB) sinyalizasyonunu bozduğunu; böylece stres yanıtında cinsiyet farkını ortadan kaldırdığını göstermektedir.⁴⁴

Her ne kadar anksiyete benzeri davranış genellikle stres durumu ile ilişkilendirilse de anksiyete tek başına nöroendokrin stres aksının bir sonucu değildir. Perinatal maruziyet sonucu anksiyete görülmesi dopaminerjik, kolinerjik ve gluta-



ŞEKİL 3: Hipotalamus-hipofiz-adrenal bez aksının işleyişi.

CRH: Kortikotropin salgılatıcı hormon; ACTH: Adrenokortikotropik hormon;
GR: Glukokortikoid reseptör.

materjik sistemlerde meydana gelen değişimlere bağlı olabilmektedir.⁴³ Anksiyetede azalmanın hipokampustaki asetilkolinesteraz [acetylcholinesterase (AChE)] aktivitesi ile doğrudan ilişkili olduğu belirtilmekte ve hipokampusta AChE aktivitesinin azalmasının anksiyeteyi artırdığı düşünülmektedir.⁴⁵ Luo ve ark.nın yaptığı çalışmada, CD1 fareleri PND35-70 arası (pubertal dönem) 50 mg/kg/gün dozda BPA'ya maruz bırakılmıştır. Maruziyet sonucunda hipokampustaki AChE aktivitesinin kontrole göre belirgin derecede azaldığı ($p<0,05$) bulunmuştur. Ancak, hipokampustaki AChE aktivitesindeki azalmaya karşılık; prefrontal korteks, beyincik, hipotalamus gibi bölgelerde AChE aktivitesinde bir değişim gözlenmemiştir. Bu durum, BPA'nın pubertedeki nörotoksik etkilerinde hipokampusun duyarlı olduğunu göstermektedir. Aynı çalışmada, BPA'ya maruz kalan farelerde anksiyetede artış görülmüştür. Yükseltmiş artı labirent testinde, açık kollarda geçirilen zaman ($p=0,0015$) ve açık kol girişleri ($p=0,0171$) kontrole göre anlamlı düzeyde azalmıştır.⁴⁶

Gonadal hormonların düzenlenmesinde bozulma ile birlikte hipokampusta androjen reseptör ve ER- β seviyelerinde meydana gelen değişimlerin ftalat maruziyeti ile ortaya çıkabilecek kaygı ve depresyon benzeri bozukluklarla ilişkili olduğu düşünülmektedir. Xu ve ark.nın yaptığı çalışmada, perinatal DEHP maruziyetinin hem erkek hem de dişi farelerde hipokampusta AR ve ER- β seviyelerini azalttığı ve anksiyeteyi artırdığı bulunmuştur.⁴⁷

SOSYOSEKSÜEL DAVRANIŞLARA ETKİSİ

Perinatal çevre ile daha sonraki erişkin davranışları önemli ölçüde şekillendirebilmekte ve ortaya çıkabilecek davranış sorunları gelecek kuşaklara aktarılabilir. Davranışlardaki sorunlar, toplum davranışlarına adaptasyonun azalmasına ve kişiden beklenen davranış kalıplarına yanıt vermenin engellenmesine neden olabilmektedir.¹⁶ Bu tip sosyal davranış kalıpları arasında; sosyal iletişim, arkadaşlarla iletişim, sosyal merak, oyun davranışı, sosyal bakım, çiftleşme ve saldırganlık gibi aynı türün farklı üyeleri arasında bir farklılık gösterebilecek kalıplar bulunmaktadır.⁴⁸ BPA'ya, ftalatlara ve diğer EBK'lere yaşamın erken dönemlerinde

maruz kalmak epimutasyonlara ve takiben nöro-davranışsal bozukluklara yol açabilmektedir. Bu tip mutasyonlar, DNA metilasyonundaki değişiklikler, histon proteinlerinin asetilasyonu ve metilasyonundaki değişiklikler, kodlamayan RNA'lardaki değişiklikler, imprinting veya kromatinin tekrar düzenlenmesi gibi farklı mekanizmalarla gerçekleşebilmektedir. Çeşitli hayvan modelleri ile yapılan çalışmalarda; BPA, ftalat ve diğer EBK'lerin beyin dâhil olmak üzere çeşitli dokularda DNA metilasyonu ve buna karşılık gelen gen ekspresyonu değişikliklerine neden olabileceğini belirlemiştir.⁴⁸⁻⁵⁰

Wang ve ark.nın yaptığı çalışmada, erken ergenlik döneminde (PND 28-42) DEHP maruziyetinin hayvanın sosyal açıdan gelişimini bozabileceğine dair veriler elde edilmiştir. Erken ergenlik çağında DEHP maruziyeti (50 mg/kg/gün) dişi farelerin sosyal oyunlarda harcadığı süreyi %24-25 oranında azaltmıştır ($p<0,05$). Ancak, erkek farelerde kontrol grubuna göre %75 oranında artış gözlenmiştir ($p<0,01$).⁵¹ Benzer bir çalışmada, Porrini ve ark. prenatal BPA maruziyetinin dişi sıçanlarda sosyal etkileşim ve erkek sıçanlarla geçirdikleri sürede azalmaya neden olduğunu göstermişlerdir.⁵² Williams ve ark.nın yaptığı çalışmada ise prenatal olarak BPA'ya maruz kalan erkek farelerde, bölgesel işaretleme davranışı ve sosyal etkileşimlerde azalma olduğu görülmüştür.⁵³ Jasarovic ve ark.nın yaptığı çalışmada, kontrol grubundaki dişi sıçanlar prenatal olarak BPA'ya (50 mg/kg/gün) maruz kalan erkek sıçanlarla çiftleşmeyi reddetmiştir.⁵⁴ Prenatal olarak DBP maruziyetinin de hem erkek hem de dişi sıçanlarda çiftleşme davranışını azalttığı bulunmuştur.⁵⁵

EBEVEYN DAVRANIŞLARINA ETKİSİ

Yavru bakımındaki değişiklikler, yavruların gelişimi açısından önemli sonuçlar doğurmaktadır. Yavru bakımında olumlu artış; yavrunun strese daha ılımlı yanıt vermesini, hipokampal fonksiyon testlerinde artışı ve üreme davranışlarında gelişmeyi sağlamaktadır.⁵⁶ Literatürde EBK'lerin maternal davranışta bozulmalara yol açtığını gösteren hayvan çalışmaları bulunmaktadır. Yapılan çalışmalarda; annelerin yavruları emzirmesi, yavru bakımına ayırdıkları süre, öğretme, yuva dışına

birakılan yavruyu alıp getirmesi için gereken süre genel annelik davranışları olarak ölçülmüştür. EBK'lerin paternal bakım üzerine etkisi büyük ölçüde bilinmemektedir. Bunun sebebi; muhtemelen çok az sayıda memeli türünün çift ebeveynli bakım sağlamasıdır. Bununla birlikte paternal bakımda bozulma, birkaç nesil boyunca devam eden dramatik epigenetik ve fenotipik sonuçlara neden olabilmektedir.^{48,57} Maternal bakımdaki değişiklikler hipotalamusta medyal preoptik bölgedeki [medial preoptic area (MPOA)] ER- α ekspresyonu ile ilişkilidir ve bu değişim jenerasyonlar arası aktarılmaktadır. Champagne ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, doğumun ilk haftasında anne bakımının daha iyi olduğu, dişilerin MPOA'daki ER- α ekspresyonunun arttığı gösterilmiştir.⁵⁶ Özellikle gebelik sırasında ve doğumdan sonraki ilk saatlerdeki anne davranışının ifadesi, maternal davranışı düzenleyen hipotalamus gibi nöral alanlar ER'yi harekete geçiren östradiol bağlıdır. Gebelik/laktasyon geçiş döneminde östradiol uyarımı ve yavrular tarafından indüklenen stimülasyon maternal davranışın gelişmesini sağlamaktadır. Della Seta ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, çiftleşme zamanından başlayarak laktasyonun sonuna kadar oral 0,04 mg/kg/gün BPA maruziyetinin dişilerin yavru bakımı, öğretme ve emzirme davranışlarının azalmasına neden olduğu belirlenmiştir.⁵⁸

Boudalia ve ark.nın yaptığı çalışmada yaşam boyu BPA'ya maruz kalan F1 jenerasyonunda sıçanların annelik davranışlarında azalma olduğu görülmüştür. Sıçanlar GD1-PND21 arası 5 μ g/kg/gün BPA'ya; daha sonra PND21-100 arasında doğrudan iki günde bir 5 μ g/kg BPA'ya oral olarak maruz kalmıştır. Testler, F2 jenerasyonunun doğumunu takiben ilk hafta içinde gerçekleştirilmiştir. F2 jenerasyonundaki sıçanların, yavrularını emzirmeye ve bakımına daha az zaman harcadığı ($p<0,05$) ve yuva dışında geçirdikleri zamanın arttığı ($p<0,05$) gözlenmiştir.⁵⁹

Palanza ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, fetal dönem ve erişkinlikteki maruziyetler arasındaki fark karşılaştırılmıştır. 10 μ g/kg/gün BPA'ya GD14-18 arası maternal olarak maruz kalan ve kendi ge-

belik dönemlerinde doğrudan maruz kalan grupların her ikisinde de yavru bakımı ve emzirmeye ayrılan sürenin azaldığı ($p<0,05$) görülmüştür. Ancak, ilginç olarak hem fetal dönemde hem de yetişkinlikte BPA'ya maruz kalan üçüncü grupta anlamlı bir değişiklik görülmemiştir.⁶⁰

HÜCRE KÜLTÜRÜ ÇALIŞMALARI

İn vitro model kullanmak sonuçlara etki edebilecek diğer faktörleri ortadan kaldıracabileceğinden, doğrudan gelişimsel toksisitenin değerlendirilmesini sağlamaktadır. DEHP'nin nörodejenerasyon oluşturduğu hayvan deneylerinden bilinmektedir. Lin ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, DEHP'nin nöro-2a hücre hattında peroksizom proliferatör aktif reseptör γ (PPAR γ) ve Trim17 proteininin ekspresyonunda artışa neden olduğu belirlenmiştir. PPAR γ ekspresyonundaki artışın intrensek yolak ve kaspaz-3 aktivasyonu yoluyla nöroblastoma hücre apoptozunu indüklediği belirtilmiştir. Trim17 geni ise, proliferasyon/apoptoz dengesinde bozulma ve otizm ile ilişkilendirilmiştir. Ayrıca, Trim17 geninin intrensek yolak ve kaspaz-3 aktivasyonu yoluyla da otizmin patogeneze katkıda bulunabileceği ifade edilmiştir. Bu bulgular, embriyonik dönemde DEHP maruziyetinin, nöronal hücre çoğalmasını inhibe ettiğini ve apoptoz yoluyla beyin ağırlığında azalmaya yol açabileceğini göstermektedir. Bu azalma dikkat eksikliği/hiperaktivite bozukluğu ve otizm için risk faktörünü oluşturabilmektedir.⁶¹ Oksidatif stres EBK'lerin doğrudan nörotoksite oluşturma mekanizmalarından biridir. Wu ve ark.nın, primer nöron-astrocit ko-kültüründe yaptıkları bir çalışmada, DEHP'nin doza bağlı olarak ROS düzeylerini artırdığı bulunmuştur.⁶²

Kim ve ark.nın yaptığı çalışmada neonatal fare serebellumundan izole edilen multipotent nöral kök hücreler kullanılarak BPA'nın nöron farklılaşması ve hipokampal nörojenizasyon üzerine etkileri araştırılmıştır. BPA'nın yüksek konsantrasyonlarda (400-500 μ M) hücre proliferasyonunu azalttığı görülmüştür. Düşük konsantrasyonlarda (1-10 nM) ise östrojenik aktiviteye bağlı olarak hücre proliferasyonu ve nöral farklılaşma uyarılmıştır.⁶³

Nöronal klorür homeostazı GABAerjik sinapsların işlev ve morfolojisinin düzenlenmesinde kritik bir rol oynamaktadır. Potasyum klorür ko-transporter 2 (Kcc2) seviyesindeki dengeden sorumludur. Hayvanlarda hipokampal doku üzerinde yapılan çalışmalar, Kcc2 baskılanmasının nöronlarda dendrit yoğunluğu ile alakalı olabileceğini göstermiştir. Yeo ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, BPA'nın gelişmekte olan kortikal nöronlarda Kcc2 mRNA ekspresyonunu önemli ölçüde azalttığı görülmüştür.⁶⁴

Nöroendokrin PC12 hücre hattı, hücre kültüründe sinir büyüme faktörü ile muamele edildiğinde; nöronal yapı kazanıp, dopamin başta olmak üzere nörotransmitterler salgılamaktadır ve dopaminerjik aktivite tayini için oldukça kullanışlıdır. Chen ve ark., MEHP [mono(zetilhekzil)ftalat] maruziyetinin PC12 hücrelerinin çoğalması ve gelişimi üzerindeki etkilerini incelemişlerdir. Farklılaşmamış PC12 hücrelerinde MEHP'nin hücre proliferasyonunu doz-bağımlı bir şekilde inhibe ettiği, hücre döngüsünün G2/M evresinde durdurduğu ve DNA sentezini azalttığı görülmüştür. Sinir büyüme faktörü uygulamasının başlattığı hücre hattındaki farklılaşma sürecinde dört günlük MEHP maruziyeti (2,5-250 µM) tirozin hidroksilaz mRNA düzeylerini azaltır iken, kolin asetil transferaz seviyesini artırmıştır. Sonuçta, hücrelerde normal olan dopamin fenotipi yerine asetilkolin fenotipi gelişmiştir. Benzer etkilerin in vivo olarak gerçekleşmesi durumunda nöronların uygun olmayan fenotipte farklılaşması beklenebilmektedir.⁶⁵ Bu durum dopaminerjik nöron kaybı ile birlikte görülen hiperaktivite ile ilişkilendirilebilmektedir.⁶⁶ PC12 hücrelerinin (sıçan feokromositoma hücreleri) kullanıldığı başka bir çalışmada, Yoneda ve ark., kısa dönem BPA maruziyetinin hücre içi dopamin konsantrasyonu ve dopamin salınımı üzerindeki etkilerini incelemek amacıyla, hücreleri değişik konsantrasyonlarda (25-150 µM) BPA ile muamele etmişlerdir. BPA'ya 10 dk'lık maruziyet dopamin salınımını doza bağlı olarak artırmış ve hücrel dopamin konsantrasyonunu azaltmıştır.⁶⁷ Dopaminerjik nöronlar üzerine yapılmış başka bir çalışmada ise,

Huang ve ark., insan embriyonik kök hücrelerinde BPA'nın insülin benzeri büyüme faktörü-1 ekspresyonunu azaltarak, dopaminerjik nöron farklılaşmasını baskıladığını belirlemişlerdir.⁶⁸

Stres yanıtı üzerine EBK'lerin ters etkilerinin olduğu bilinmektedir.⁴³ Supornsilchai ve ark.nın yaptığı bir çalışmada dört gün boyunca oral olarak 750 mg/kg DEHP verilen 20, 40 ve 60 günlük sıçanlardan izole edilen adrenokortikal hücre kültürü kullanılmıştır. Yirmi ve 40 günlük sıçanlardan elde edilen hücrelerin ACTH ile stimüle edilmesi durumunda üretilen kortikosteron seviyesi kontrole kıyasla anlamlı ölçüde artmıştır. Altmış günlük sıçanlarda bu etki gözlenmemiştir. Bu durum DEHP'nin adrenokortikal steroidogenezi yaşa bağlı olarak etkilediğini göstermektedir.⁶⁹

İNSAN ÇALIŞMALARI

Yapılan epidemiyolojik çalışmalarda, fetal ve neonatal dönemdeki EBK maruziyetlerinin etkilerine yoğunlaşmıştır. Yolton ve ark.nın yaptığı çalışmada, 350 kadında gebeliğin 16 ve 26. haftalarında idrarda BPA, DEHP ve DBP düzeyleri ölçülmüştür. Beş haftalık bebeklere yapılan testler sonucunda, gebelik sırasında maternal BPA maruziyeti ile nörodavranış arasında anlamlı ilişki bulunamamıştır. Prenatal ftalat maruziyeti ve bebek nörodavranışı arasında ftalatın türüne bağlı olarak ve sadece 26. haftada yapılan ölçümlerde, ftalat düzeyleri ile korelasyon gösteren değişimler gözlenmiştir. İdrar DEHP konsantrasyonunda artmaya bağlı olarak, bebeklerde nonoptimal reflekslerde artış olduğu bulunmuştur.⁷⁰ Cinsiyete bağlı olarak değişen etkiler insan çalışmalarında da görülmektedir. Perera ve ark.nın yaptığı çalışmada, maternal idrar BPA konsantrasyonu erkek çocuklarda artan agresif davranışlarla ilişkili iken, kız çocuklarda tam aksine agresiflik ve anksiyetede azalma ile ilişkili olduğu bulunmuştur.⁷¹ Benzer şekilde, Koborsly ve ark.nın yaptığı çalışmada, mono izobutil ftalat ve mono benzil ftalat konsantrasyonu erkeklerde dikkat eksikliği ve agresiflik ile; kızlarda ise anksiyetenin azalması ile ilişkili olarak belirlenmiştir.⁷²

Prenatal BPA maruziyeti sonucu cinsiyete özgü davranış bozuklukları, HPA eksenini düzenlen-

mesinde bozulma ile ilişkili olabilmektedir. Giesbrecht ve ark.nın yaptığı çalışmada, yüksek maternal idrar BPA konsantrasyonunun kız çocuklarında bazal kortizol seviyesinde artmaya ($p<0,01$) neden olduğu bulunmuştur. Erkek çocuklarında bazal kortizol seviyeleri ise kontrole kıyasla düşmüştür ($p<0,05$). Bu durum, BPA'nın nöroendokrin stres sistemini cinsiyete özgü biçimde bozabileceğini göstermektedir.⁷³

Otizm spektrum bozukluğu, sinir sisteminin prenatal dönemdeki gelişiminin bozulmasının bir sonucu olarak ortaya çıkabilmektedir.⁷⁴ EBK'ler hem nöronal büyüme ve sinaps oluşumu gibi hormonlara duyarlı periyotlara müdahale edip hem de oksidatif stres oluşturma yoluyla nöron hasarına yol açabileceklerinden, nörogelişimsel hastalıklara neden olabilmektedirler.¹¹ Kondolot ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, atipik otizmlili hastaların idrar BPA konsantrasyonlarının hem kontrol grubundan hem de klasik otizmlili hastalardan daha yüksek olduğu ($p<0,05$) bulunmuştur. Bu durum, BPA maruziyetinin atipik otizmin gelişimsel nedenlerinden biri olabileceğini düşündürmektedir.⁷⁵

Tiroid fonksiyonunda bozulmalar, EBK'lerin beyin gelişimini etkileyebileceği mekanizmalardan biri olarak görülmektedir. Chevrier ve ark.nın yaptığı bir çalışmada, BPA maruziyetinin gebe kadınlarda azalmış toplam tiroksin (T4) ve yenidoğan erkek bebeklerde azalmış tiroid stimüle edici hormon (TSH) ile ilişkisi olduğu bulunmuştur.⁷⁶ Bununla birlikte, prenatal BPA ve ftalat maruziyetinin IQ puanlarında düşme ile ilişkisi olduğunu gösteren çalışmalar da mevcuttur.^{77,78}

SONUÇ

EBK'lerin etkileri doz, temas zamanı, temas süresi ve maruz kalınan kimyasal maddeye bağlı olarak önemli ölçüde değişiklik gösterebilmektedir. SSS ve nöro- endokrin sistem, özellikle gelişme döneminde hormonal kontrole ve dolayısıyla EBK maruziyetine karşı hassastır. EBK'lerin toksik etkileri üzerinde çalışılır iken birden fazla mekanizmanın

varlığı ve nöroendokrin eksenin her seviyesindeki çapraz ilişkilerin göz önüne alınması gerekmektedir. Ftalatlar ve BPA'nın nöroendokrin etkilerini değerlendirmek için, özellikle etki mekanizmaları yönünden daha kapsamlı ve ileri çalışmalara gereksinim duyulmaktadır.

EBK'ler farklı etki mekanizmaları sebebiyle cinsiyete özgü farklı etkilere sahiptir. Bu durum, özellikle EBK'lere kombine maruziyet düşünüldüğünde önemlidir. Kombine ve tekrarlanan maruziyetler sinerjik etkiye sahip olabileceği gibi, antagonistik etkilere de sahip olabilmektedir. Yapılacak epidemiyolojik çalışmalar ve buradan elde edilen verilerin in vitro ve in vivo testlerdeki bulgularla birleştirilmesi, nörogelişimsel hastalıkların altında yatan mekanizmaların aydınlatılması açısından önem taşımaktadır.

Finansal Kaynak

Bu çalışma sırasında, yapılan araştırma konusu ile ilgili doğrudan bağlantısı bulunan herhangi bir ilaç firmasından, tıbbi alet, gereç ve malzeme sağlayan ve/veya üreten bir firma veya herhangi bir ticari firmadan, çalışmanın değerlendirme sürecinde, çalışma ile ilgili verilecek kararı olumsuz etkileyebilecek maddi ve/veya manevi herhangi bir destek alınmamıştır.

Çıkar Çatışması

Bu çalışma ile ilgili olarak yazarların ve/veya aile bireylerinin çıkar çatışması potansiyeli olabilecek bilimsel ve tıbbi komite üyeliği veya üyeleri ile ilişkisi, danışmanlık, bilirkişilik, herhangi bir firmada çalışma durumu, hissedarlık ve benzer durumları yoktur.

Yazar Katkıları

Fikir/Kavram: Belma Koçer Gümüşel, Pınar Erkekoğlu; **Tasarım:** Anıl Yirün, Belma Koçer Gümüşel, Pınar Erkekoğlu; **Denetleme/Danışmanlık:** Belma Koçer Gümüşel; **Veri Toplama ve/veya İşleme:** Anıl Yirün, Belma Koçer Gümüşel, Pınar Erkekoğlu; **Analiz ve/veya Yorum:** Pınar Erkekoğlu, Belma Koçer Gümüşel; **Kaynak Taraması:** Anıl Yirün, Pınar Erkekoğlu, Belma Koçer Gümüşel; **Makalenin Yazımı:** Anıl Yirün, Pınar Erkekoğlu, Belma Koçer Gümüşel; **Eleştirel İnceleme:** Belma Koçer Gümüşel; **Kaynaklar ve Fon Sağlama:** Belma Koçer Gümüşel.

KAYNAKLAR

1. Diamanti-Kandarakis E, Bourguignon JP, Giudice LC, Hauser R, Prins GS, Soto AM, et al. Endocrine-disrupting chemicals: an Endocrine Society scientific statement. *Endocr Rev* 2009; 30(4):293-342.
2. Kabir ER, Rahman MS, Rahman I. A review on endocrine disruptors and their possible impacts on human health. *Environ Toxicol Pharmacol* 2015;40(1):241-58.
3. Weiss B. The Intersection of neurotoxicology and endocrine disruption. *Neurotoxicology* 2012; 33(6):1410-9.
4. Vandenberg LN, Maffini MV, Sonnenschein C, Rubin BS, Soto AM. Bisphenol-A and the great divide: a review of controversies in the field of endocrine disruption. *Endocr Rev* 2009;30(1):75-95.
5. Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgarten FJ, Schoenfelder G. Urinary, circulating, and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect* 2010;118(8): 1055-70.
6. Kang JH, Kondo F, Katayama Y. Human exposure to bisphenol A. *Toxicology* 2006 ;226(2-3):79-89.
7. Lyche JL, Gutleb AC, Bergman A, Eriksen GS, Murk AJ, Ropstad E, et al. Reproductive and developmental toxicity of phthalates. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2009;12(4):225-49.
8. Koch HM, Preuss R, Angerer J. Di(2-ethylhexyl)phthalate (DEHP): human metabolism and internal exposure--an update and latest results. *Int J Androl* 2006;29(1):155-65.
9. Levine JE. An introduction to neuroendocrine systems. In: Fink G, Pfaff DW, Levine JE, eds. *Handbook of Neuroendocrinology*. 1st ed. Oxford: Elsevier Inc; 2012. p.3-18.
10. León-Olea M, Martyniuk CJ, Orlando EF, Ottinger MA, Rosenfeld C, Wolstenholme J, et al. Current concepts in neuroendocrine disruption. *Gen Comp Endocrinol* 2014;203(1):158-73.
11. Grandjean P, Landrigan PJ. Neurobehavioural effects of developmental toxicity. *Lancet Neurol* 2014;13(3):330-8.
12. Gore AC. Neuroendocrine targets of endocrine disruptors. *Hormones (Athens)* 2010;9(1):16-27.
13. Parent AS, Naveau E, Gerard A, Bourguignon JP, Westbrook GL. Early developmental actions of endocrine disruptors on the hypothalamus, hippocampus, and cerebral cortex. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2011;14(5-7):328-45.
14. Wayne A, Trudeau VL. Neuroendocrine disruption: more than hormones are upset. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2011;14(5-7): 270-91.
15. Masuo Y, Ishido M. Neurotoxicity of endocrine disruptors: possible involvement in brain development and neurodegeneration. *J Toxicol Environ Health B Crit Rev* 2011;14(5-7):346-69.
16. Inadera H. Neurological effects of bisphenol A and its analogues. *Int J Med Sci* 2015;12(12): 926-36.
17. Ceccarelli I, Della Seta D, Fiorenzani P, Farabolini F, Aloisi AM. Estrogenic chemicals at puberty change ERalpha in the hypothalamus of male and female rats. *Neurotoxicol Teratol* 2007;29(1):108-15.
18. Cao J, Mickens JA, McCaffrey KA, Leyrer SM, Patisaul HB. Neonatal bisphenol A exposure alters sexually dimorphic gene expression in the postnatal rat hypothalamus. *Neurotoxicology* 2012;33(1):23-36.
19. Andrade AJ, Grande SW, Talsness CE, Grote K, Chahoud I. A dose-response study following in utero and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl)-phthalate (DEHP): non-monotonic dose-response and low dose effects on rat brain aromatase activity. *Toxicology* 2006;227(3):185-92.
20. McCaffrey KA, Jones B, Mabrey N, Weiss B, Swan SH, Patisaul HB. Sex specific impact of perinatal bisphenol A (BPA) exposure over a range of orally administered doses on rat hypothalamic sexual differentiation. *Neurotoxicology* 2013;36(1):55-62.
21. Spencer JL, Waters EM, Romeo RD, Wood GE, Milner TA, McEwen BS. Uncovering the mechanisms of estrogen effects on hippocampal function. *Front Neuroendocrinol* 2008;29(2):219-37.
22. Pinson A, Bourguignon JP, Parent AS. Exposure to endocrine disrupting chemicals and neurodevelopmental alterations. *Andrology* 2016;4(4): 706-22.
23. Viberg H, Lee I. A single exposure to bisphenol A alters the levels of important neuroproteins in adult male and female mice. *Neurotoxicology* 2012;33(5):1390-5.
24. El-Missiry MA, Othman AI, Al-Abdan MA, El-Sayed AA. Melatonin ameliorates oxidative stress, modulates death receptor pathway proteins, and protects the rat cerebrum against bisphenol-A-induced apoptosis. *J Neurol Sci* 2014;347(1-2):251-6.
25. Li XJ, Jiang L, Chen L, Chen HS, Li X. Neurotoxicity of dibutyl phthalate in brain development following perinatal exposure: a study in rats. *Environ Toxicol Pharmacol* 2013;36(1):392-402.
26. Khadrawy YA, Noor NA, Mourad IM, Ezz HS. Neurochemical impact of bisphenol A in the hippocampus and cortex of adult male albino rats. *Toxicol Ind Health* 2016;32(9):1711-9.
27. Eilam-Stock T, Serrano P, Frankfurt M, Luine V. Bisphenol-A impairs memory and reduces dendritic spine density in adult male rats. *Behav Neurosci* 2012;126(1):175-85.
28. Stephenson FA, Cousins SL, Kenny AV. Assembly and forward trafficking of NMDA receptors (review). *Mol Membr Biol* 2008;25(4):311-20.
29. Foy MR, Xu J, Xie X, Brinton RD, Thompson RF, Berger TW. 17beta-estradiol enhances NMDA receptor-mediated EPSPs and long-term potentiation. *J Neurophysiol* 1999;81(2):925-9.
30. Dai Y, Yang Y, Xu X, Hu Y. Effects of uterine and lactational exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate on spatial memory and NMDA receptor of hippocampus in mice. *Horm Behav* 2015;71(1):41-8.
31. Wang C, Niu R, Zhu Y, Han H, Luo G, Zhou B, et al. Changes in memory and synaptic plasticity induced in male rats after maternal exposure to bisphenol A. *Toxicology* 2014; 322(1):51-60.
32. Smith CA, Holahan MR. Reduced hippocampal dendritic spine density and BDNF expression following acute postnatal exposure to di(2-ethylhexyl) phthalate in male long evans rats. *PLoS One* 2014;9(10):e109522.
33. Honma T, Miyagawa M, Suda M, Wang RS, Kobayashi K, Sekiguchi S. Effects of perinatal exposure to bisphenol A on brain neurotransmitters in female rat offspring. *Ind Health* 2006;44(3): 510-24.
34. Jones DC, Miller GW. The effects of environmental neurotoxicants on the dopaminergic system: a possible role in drug addiction. *Biochem Pharmacol* 2008;76(5):569-81.
35. Nakamura K, Itoh K, Yoshimoto K, Sugimoto T, Fushiki S. Prenatal and lactational exposure to low-doses of bisphenol A alters brain monoamine concentration in adult mice. *Neurosci Lett* 2010;484(1):66-70.
36. Mizuo K, Narita M, Yoshida T, Narita M, Suzuki T. Functional changes in dopamine D3 receptors by prenatal and neonatal exposure to an endocrine disruptor bisphenol-A in mice. *Addict Biol* 2004;9(1):19-25.
37. Matsuda S, Matsuzawa D, Ishii D, Tomizawa H, Sutoh C, Nakazawa K, et al. Effects of perinatal exposure to low dose of bisphenol A on anxiety like behavior and dopamine metabolites in brain. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2012;39(2):273-9.
38. Matsuda S, Saika S, Amano K, Shimizu E, Sajiki J. Changes in brain monoamine levels in neonatal rats exposed to bisphenol A at low doses. *Chemosphere* 2010;78(7):894-906.
39. Ishido M, Masuo Y, Sayato-Suzuki J, Oka S, Niki E, Morita M. Dicyclohexylphthalate causes hyperactivity in the rat concomitantly with impairment of tyrosine hydroxylase immunoreactivity. *J Neurochem* 2004;91(1):69-76.
40. Tanida T, Warita K, Ishihara K, Fukui S, Mitsuhashi T, Sugawara T, et al. Fetal and neonatal exposure to three typical environmental chemicals with different mechanisms of action: mixed exposure to phenol, phthalate, and dioxin cancels the effects of sole exposure on mouse midbrain dopaminergic nuclei. *Toxicol Lett* 2009;189(1):40-7.

41. Narita M, Miyagawa K, Mizuo K, Yoshida T, Suzuki T. Changes in central dopaminergic systems and morphine reward by prenatal and neonatal exposure to bisphenol-A in mice: evidence for the importance of exposure period. *Addict Biol* 2007;12(2):167-72.
42. Smith SM, Vale WW. The role of the hypothalamic-pituitary-adrenal axis in neuroendocrine responses to stress. *Dialogues Clin Neurosci* 2006;8(4):383-95.
43. Kitraki E, Nalvarte I, Alavian-Ghavanini A, Ruegg J. Effects of pre- and post-natal exposure to bisphenol A on the stress system. *Endocrine Disruptors* 2016;4(1):1-11.
44. Chen F, Zhou L, Bai Y, Zhou R, Chen L. Sex differences in the adult HPA axis and affective behaviors are altered by perinatal exposure to a low dose of bisphenol A. *Brain Res* 2014;1571(1):12-24.
45. Mineur YS, Obayemi A, Wiggestrand MB, Fote GM, Calarco CA, Li AM, et al. Cholinergic signaling in the hippocampus regulates social stress resilience and anxiety- and depression-like behavior. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(9):3573-8.
46. Luo G, Wei R, Niu R, Wang C, Wang J. Pubertal exposure to bisphenol A increases anxiety-like behavior and decreases acetylcholinesterase activity of hippocampus in adult male mice. *Food Chem Toxicol* 2013;60(1):177-80.
47. Xu X, Yang Y, Wang R, Wang Y, Ruan Q, Lu Y. Perinatal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate affects anxiety- and depression-like behaviors in mice. *Chemosphere* 2015;124(1):22-31.
48. Rosenfeld CS. Bisphenol A and phthalate endocrine disruption of parental and social behaviors. *Front Neurosci* 2015;9(3):57.
49. Kundakovic M, Gudsnuik K, Herbstman JB, Tang D, Perera FP, Champagne FA. DNA methylation of BDNF as biomarker of early-life adversity. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2015;112(22):6807-13.
50. Ponsobly AL, Symeonides C, Vuillermin P, Mueller J, Sly PD, Saffery R. Epigenetic regulation of neurodevelopmental genes in response to in utero exposure to phthalate plastic chemicals: how can we delineate causal effects? *Neurotoxicology* 2016;55(1): 92-101.
51. Wang R, Xu X, Weng H, Yan S, Sun Y. Effects of early pubertal exposure to di-(2-ethylhexyl) phthalate on social behavior of mice. *Horm Behav* 2016;80(1):117-24.
52. Porcini S, Belloni V, Della Seta D, Farabollini F, Giannelli G, Dessi-Fulgheri F. Early exposure to a low dose of bisphenol A affects socio-sexual behavior of juvenile female rats. *Brain Res Bull* 2005;65(3):261-6.
53. Williams SA, Jasarevic E, Vandas GM, Warzak DA, Geary DC, Ellersieck MR, et al. Effects of developmental bisphenol A exposure on reproductive-related behaviors in California mice (*Peromyscus californicus*): a monogamous animal model. *PLoS One* 2013;8(2):e55698.
54. Jašarević E, Sieli PT, Twellman EE, Welsh TH Jr, Schachtman TR, Roberts RM, et al. Disruption of adult expression of sexually selected traits by developmental exposure to bisphenol A. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2011;108(28):11715-20.
55. Lee KY, Shibutani M, Takagi H, Kato N, Takigami S, Uneyama C, et al. Diverse developmental toxicity of di-n-butyl phthalate in both sexes of rat offspring after maternal exposure during the period from late gestation through lactation. *Toxicology* 2004;203(1-3):221-38.
56. Champagne FA, Weaver IC, Diorio J, Dymov S, Szyf M, Meaney MJ. Maternal care associated with methylation of the estrogen receptor-alpha1b promoter and estrogen receptor-alpha expression in the medial preoptic area of female offspring. *Endocrinology* 2006;147(6):2909-15.
57. Braun K, Champagne FA. Paternal influences on offspring development: behavioural and epigenetic pathways. *J Neuroendocrinol* 2014;26(10):697-706.
58. Della Seta D, Minder I, Dessi-Fulgheri F, Farabollini F. Bisphenol-A exposure during pregnancy and lactation affects maternal behavior in rats. *Brain Res Bull* 2005;65(3):255-60.
59. Boudalia S, Berges R, Chabanet C, Folia M, Decocq L, Pasquis B, et al. A multi-generational study on low-dose BPA exposure in Wistar rats: effects on maternal behavior, flavor intake and development. *Neurotoxicol Teratol* 2014;41(1):16-26.
60. Palanza P, Howdeshell KL, Parmigiani S, vom Saal FS. Exposure to a low dose of bisphenol A during fetal life or in adulthood alters maternal behavior in mice. *Environ Health Perspect* 2002;110(Suppl 3):415-22.
61. Lin CH, Chen TJ, Chen SS, Hsiao PC, Yang RC. Activation of Trim17 by PPAy is involved in di-(2-ethylhexyl) phthalate (DEHP)-induced apoptosis on neuro-2a cells. *Toxicol Lett* 2011;206(3):245-51.
62. Wu Y, Li K, Zuo H, Yuan Y, Sun Y, Yang X. Primary neuronal-astrocytic co-culture platform for neurotoxicity assessment of di-(2-ethylhexyl) phthalate. *J Environ Sci (China)* 2014;26(5):1145-53.
63. Kim K, Son TG, Park HR, Kim SJ, Kim HS, Kim HS, et al. Potencies of bisphenol A on the neuronal differentiation and hippocampal neurogenesis. *J Toxicol Environ Health A* 2009;72(21-22):1343-51.
64. Yeo M, Berglund K, Hanna M, Guo JU, Kittur J, Torres MD, et al. Bisphenol A delays the perinatal chloride shift in cortical neurons by epigenetic effects on the Kcc2 promoter. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2013;110(11):4315-20.
65. Chen T, Yang W, Li Y, Chen X, Xu S. Mono-(2-ethylhexyl) phthalate impairs neurodevelopment: inhibition of proliferation and promotion of differentiation in PC12 cells. *Toxicol Lett* 2011;201(1):34-41.
66. Masuo Y, Morita M, Oka S, Ishido M. Motor hyperactivity caused by a deficit in dopaminergic neurons and the effects of endocrine disruptors: a study inspired by the physiological roles of PACAP in the brain. *Regul Pept* 2004;123(1-3):225-34.
67. Yoneda T, Hiroi T, Osada M, Asada A, Funae Y. Non-genomic modulation of dopamine release by bisphenol-A in PC12 cells. *J Neurochem* 2003;87(6):1499-508.
68. Huang B, Ning S, Zhang Q, Chen A, Jiang C, Cui Y, et al. Bisphenol A represses dopaminergic neuron differentiation from human embryonic stem cells through downregulating the expression of insulin-like growth factor 1. *Mol Neurobiol* 2017;54(5):3798-812.
69. Supornsilchai V, Söder O, Svechnikov K. Stimulation of the pituitary-adrenal axis and of adrenocortical steroidogenesis ex vivo by administration of di-2-ethylhexyl phthalate to prepubertal male rats. *J Endocrinol* 2007;192(1):33-9.
70. Yolton K, Xu Y, Strauss D, Altaye M, Calafat AM, Khoury J. Prenatal exposure to bisphenol A and phthalates and infant neurobehavior. *Neurotoxicol Teratol* 2011;33(5):558-66.
71. Perera F, Vishnevetsky J, Herbstman JB, Calafat AM, Xiong W, Rauh V, et al. Prenatal bisphenol A exposure and child behavior in an inner-city cohort. *Environ Health Perspect* 2012;120(8):1190-4.
72. Kobrosly RW, Evans S, Miodovnik A, Barrett ES, Thurston SW, Calafat AM, et al. Prenatal phthalate exposures and neurobehavioral development scores in boys and girls at 6-10 years of age. *Environ Health Perspect* 2014;122(5):521-8.
73. Giesbrecht GF, Ejaredar M, Liu J, Thomas J, Letourneau N, Campbell T, et al. Prenatal bisphenol A exposure and dysregulation of infant hypothalamic-pituitary-adrenal axis function: findings from the APrON cohort study. *Environ Health Perspect* 2017;16(1):47.
74. Jeddi MZ, Janani L, Memari AH, Akhondzadeh S, Yunesian M. The role of phthalate esters in autism development: a systematic review. *Environ Res* 2016;151(1): 493-504.
75. Kondolot M, Ozmert EN, Asci A, Erkekoglu P, Oztop DB, Gumus H, et al. Plasma phthalate and bisphenol A levels and oxidant-antioxidant status in autistic children. *Environ Toxicol Pharmacol* 2016;43(1):149-58.
76. Chevrier J, Gunier RB, Bradman A, Holland NT, Calafat AM, Eskenazi B, et al. Maternal urinary bisphenol A during pregnancy and maternal and neonatal thyroid function in the CHAMACOS study. *Environ Health Perspect* 2013;121(1):138-44.
77. Hong SB, Hong YC, Kim JW, Park EJ, Shin MS, Kim BN, et al. Bisphenol A in relation to behavior and learning of school-age children. *J Child Psychol Psychiatry* 2013;54(8):890-9.
78. Factor-Litvak P, Insel B, Calafat AM, Liu X, Perera F, Rauh VA, et al. Persistent associations between maternal prenatal exposure to phthalates on child IQ at age 7 years. *PLoS One* 2014;9(12): e114003.