







Bisfenol A'nın Tuba Uterina'da Neonatal Dönemde Oluşturduğu Değişikliklere Karşı Melatonin'in Olası Etkisi

The Possible Effect of Melatonin Against the Alterations of Bisphenol A on Tuba Uterina in Neonatal Period

 Selen AKGÖZ,^a
 Celal ILGAZ,^a
 Deniz ERDOĞAN,^a
 Suna ÖMEROĞLU,^a
 İsmail TÜRKÖĞLU,^a
 Cemile Merve SEYMEN^a

^aHistoloji ve Embriyoloji AD,
Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,
Ankara

Received: 13.06.2017
 Received in revised form: 21.11.2017
 Accepted: 28.11.2017
 Available online: 04.04.2018

Correspondence:
 Cemile Merve SEYMEN
 Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi,
 Histoloji ve Embriyoloji AD, Ankara,
 TÜRKİYE/ TURKEY
 cmerveseymen@gmail.com

Bu çalışma XIII. Ulusal Histoloji ve Embriyoloji Kongresi (30 Nisan-3 Mayıs 2016, İzmir)'nde poster olarak sunulmuştur.

ÖZET Amaç: Çalışmamızda gıda ve içecek ambalaj materyallerinden gıda maddelerine geçerek insan ve hayvanlarda hasara neden olan Bisfenol A (BPA)'nın tuba uterina'da neonatal dönemde oluşturduğu değişikliklere karşı melatoninin olası etkisinin histopatolojik düzeyde incelenmesi amaçlandı. **Gereç ve Yöntemler:** 24 adet Wistar albino cinsi yenidoğan dişi sıçan, her grupta 6 denek olacak şekilde 4 gruba ayrıldı. 1.Grup: Kontrol, 2.Grup: BPA (100 mg/kg), 3.Grup: Melatonin (10 mg/kg), 4.Grup: BPA+Melatonin (100 mg/kg+10 mg/kg) olarak belirlendi. Deneklerin vajinal açıklıkları ölçülerek, smear örnekleri incelendi. Gelişimlerinin 70. gününde feda edilen deneklerin tuba uterina dokuları alındı ve alşılmış ışık mikroskopik izleme yöntemlerinden geçirildi. Kesitler Hematoksilen ve Eozin ile Masson'un Trikróm boyama yöntemleri ile boyandı. Deneklerin vücut ağırlıkları, tuba uterina dokusuna ait epitel boyu ve duvar kalınlıkları ölçülerek elde edilen veriler istatistiksel olarak da desteklendi. **Bulgular:** Çalışmanın sonunda; kontrol ve melatonin uygulanan grupların, birbirleri ile benzer ve normal tuba uterina histolojisi ile uyumlu bulgular sergilediği görüldü. BPA uygulamasının sıçanlarda puberteyi öne çektiği, BPA ile birlikte melatonin uygulamasının ise puberteyi geciktirdiği vajinal açıklık ve smear tayini ile tespit edildi. Histolojik incelemeler sonucunda, BPA uygulaması sonucu mukozal katlantıların lamina propria içerisine doğru uzanarak kistik yapılar oluşturduğu ve epitelin yer yer çok katlı görünüm aldığı belirlendi. Silyaların bazı alanlarda birleştiği ve bazı alanlarda ise tamamen kaybolduğu gözlemlendi. Serozal katmanın BPA uygulaması ile birlikte kalınlaştığı en dikkat çekici bulgu olarak nitelendirildi. BPA ile birlikte melatonin uygulamasının BPA grubunda görülen düzensiz yapılaşmayı, mukozal katlantılardaki bez benzeri görünümü ve kistik yapıyı en az düzeye indirdiği izlendi. **Sonuç:** Melatonin uygulamasının, BPA'nın neden olduğu yapısal değişimler üzerinde belirgin derecede koruma sağladığı kanısına varıldı.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol A; melatonin; tuba uterina

ABSTRACT Objective: The purpose is to investigate the possible protective effect of melatonin against the alterations of Bisphenol A (BPA) which has caused an injury in humans and animals through food and beverage packaging materials, on tuba uterina in neonatal period by histopathological examinations. **Material and Methods:** 24 Wistar albino neonatal female rats were divided into 4 groups, each including 6 rats: 1. Group: Control, 2. Group: BPA (100 mg/kg), 3. Group: Melatonin (10mg/kg), 4. Group: BPA+Melatonin (100mg/kg+10mg/kg). The vaginal openings of subjects were measured and smear samples were examined. At the end of the 70 days experiment, tuba uterina tissues were taken from subjects which were sacrificed under high-dose anesthesia. Sections were stained by Hematoxylin-Eosine and Masson's trichrome. The data obtained by measuring subjects' body weight, epithelial height and wall thickness were also supported statistically. **Results:** As a result, normal tuba uterina histological findings were seen in control and melatonin groups. Also it was found that BPA administration has moved puberty to earlier time whereas BPA and Melatonin administration has delayed the puberty by assessing vaginal opening and smear determination. Following the histological examinations on tuba uterina tissues, it was determined that mucosal residues formed cystic structures by reaching into lamina propria, and epithelium sporadically became stratified as a result of BPA administration. These findings were descended to the lowest levels by melatonin administrations in BPA+Melatonin group. It was also observed that the cilia were merged in some areas while totally disappeared in others. Thickening of the serosal layer was described as the most remarkable finding. This finding is also statistically supported by measuring wall thickness. **Conclusion:** It was concluded that melatonin administration provides a significant protection against BPA-related changes.

Keywords: Bisphenol A; melatonin; uterine tube

Endokrin bozucular; endokrin sistemin gelişim ve işlevini değiştiren, ekzojen madde ya da madde karışımlarıdır. Doğada doğal olarak bulunabildiği gibi, değişik sentetik ve endüstriyel ürünlerin içerisinde de yer almaktadırlar.¹

Avrupa Birliği'nin 2002 yılında yayınladığı endokrin bozucular ile ilgili raporuna göre bazı ilaçlar, dioksin ve dioksin benzeri bileşikler, poliklorlu bifeniller, bazı pestisitler, fitalatlar ve bisfenol A (BPA) gibi plastizer maddeler endokrin bozucu etkiye sahip olanlar arasında sıralanmıştır.² BPA, gıda ve içecek ambalajlama gereçlerinde ham madde olarak kullanılan polikarbonat plastikler ve epoksi reçinelerin monomeri olan endüstriyel bir kimyasaldır.^{3,4} BPA'ya maruz kalma ağız, deri veya solunum yolu ile olmaktadır. Bu maddenin ambalaj materyallerinden gıda maddelerine geçebildiği, bu nedenle de ağız yoluyla BPA'ya maruz kalmanın çok yüksek oranlarda olduğu belirtilmiştir. BPA'nın tümüne yakınının idrarla atıldığı belirlenmişse de vücutta idrar dışında kan, yağ dokusu, semen, anne sütü, amniyon sıvısı, plasenta, fetus, kordon kanı ve tükürükte de bulunduğu bildirilmiştir.⁵

BPA'ya ağız ya da intraperitoneal olarak maruz kalmış dişi sıçanlarla yapılan çalışmalarda BPA'nın ergenlik evresi süresini, ovaryum ve uterus ağırlıklarını, genital açıklığı ve anüs arasındaki aralığı, vajinal açıklık süresini, sağkalım oranlarını, gebelik süresini ve östrus döngüsünü etkileyerek üreme işlevleri dağılımını etkilediği saptanmıştır.⁶

Melatonin, N-asetil-5-metoksitriptamin yapısında olup, memelilerin epifiz bezinden, ovaryum, lens, kemik iliği hücreleri ile safra ve mide-bağırsak sisteminden sentezlenip salgılanan bir hormondur. Bu hormon fotoperiyod ile ilişkili bilgiyi vücudun fizyolojisine aktararak sirkadiyen ritmin ve organizmanın işlevlerinin düzenlenmesinde rol oynamaktadır.⁷ Melatonin hormonunun folikül gelişimini uyardığı, antioksidan özelliğiyle de oosit kalitesini arttırdığı, embriyo gelişimini hızlandırdığı, granüloza hücre lüteinizasyonunu arttırdığı ve progesteron hormon üretiminde de artmaya yol açtığı, bu nedenle de in vitro fertilizasyon (IVF) programlarında infertil kadınların tedavisinde olumlu sonuçlar alındığı; aynı zamanda antioksi-

dan, tümör gelişimini baskılayıcı ve savunma sisteminde düzenleyici etkisi olduğu bilinmektedir.⁸ Yapılan çalışmalarda farklı organ ve dokularda doğrudan serbest radikal süpürücü ve dolaylı antioksidan etkili olduğu gösterilen melatoninin hidroksi radikale olan antioksidan etkisi diğer antioksidanların- kinden daha fazladır. Ayrıca antioksidan enzimleri de etkinleştirmektedir.⁹

Literatür verilerinden yola çıkarak çalışmamızda neonatal dönemde dişi sıçanlara uygulanan Bisphenol A'nın tuba uterinada oluşturduğu değişikliklere karşı melatoninin olası etkilerini histopatolojik olarak ortaya koymayı amaçladık.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

DENEY HAYVANLARI VE GRUPLANDIRMA

Gazi Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurul Başkanlığı'ndan G.Ü ET-13.023 kod numarası ile onay alınan ve hayvan haklarının korunarak uygulamaların yapıldığı bu çalışmada, Gazi Üniversitesi Laboratuvar Hayvanları Yetiştirme Deneysel Araştırma Merkezi (GÜDAM)'den sağlanan ortalama 200-250 g ağırlığında 24 adet Wistar albino cinsi dişi sıçandan her grupta 6 denek olacak şekilde randomize 4 grup oluşturuldu; 1. Grup: Kontrol (100 mg/kg/İlk 10 Gün Susam Yağı + 10 mg/kg/Son 10 Gün %1 Etanol), 2. Grup: BPA (100 mg/kg/İlk 10 Gün [Susam yağında çözünmüş]), 3. Grup: Melatonin (10 mg/kg/Son 10 Gün [%1 Etanol içerisinde çözünmüş]) ve 4. Grup: BPA+Melatonin (100 mg/kg/İlk 10 Gün BPA + 10 mg/kg/Son 10 Gün Melatonin). Uygulamalar her gün saat 16.00'da yapıldı; BPA subkutan enjeksiyon, melatonin uygulaması ise gavaj yolu ile gerçekleştirildi. Çalışmalara göre, dişi sıçanlarda vajinal açıklığın ve ilk proöstrusun gözlenmesi puberte belirticidir. Bu çalışmalarda vajina açıklığının yaklaşık 33-42. günlerde, vücut ağırlığı 100 gram iken olaylandığı ve bu açıklığın görülmesinden yaklaşık bir hafta sonra da östrus döngüsünün başladığı belirtilmektedir.^{10,11} Bu bilgiler göz önünde bulundurularak melatonin uygulamaları çalışmamızda, Grup 3 ve 4'e puberte başlangıcından önce, prepuberteden (20. gün) olası puberteye değin (30. gün) 10 gün süresince yapıldı.

Tüm sıçanlar bu uygulamalar sonrasında sek-süel olgunluğa ulaştığında, yaklaşık 70. günde yüksek doz anestezi altında (45 mg/kg ketamin ve 5 mg/kg ksilazin) sakrifiye edilerek, tuba uterina dokuları alındı.¹²

VAJİNAL AÇIKLIK VE PUBERTENİN SAPTANMASI

Nah ve ark.nın yaptığı puberte tayini⁶ dikkate alınarak, sıçanlar yaklaşık 20. güne ulaştıklarından itibaren vajinal açıklıkları görülene değin her gün aynı saatte denetimleri yapıldı. Vajinal açıklığın gözlenmesinden yaklaşık 1 hafta sonra östrus dön-güsünün başladığı varsayılarak her denekten vajinal smear örnekleri alındı.^{10,11} Alınan smear örnekleri toluidin mavisi ile boyandı.

HEMATOKSİLEN VE EOZİN İLE MASSON'UN TRİKROM BOYAMA YÖNTEMLERİ

Dokular tartıldıktan sonra, ışık mikroskopik incelemeler için %10'luk nötral formalinde en az 72 saat oda sıcaklığında tespit edildi. Doku örnekleri alışılmış histolojik izleme yöntemlerinden geçirilerek parafin bloklar hazırlandı. Parafin bloklardan 4-5 µm kalınlığında kesitler alındı. Deparafinize olan kesitlere daha sonra rutin Hematoksilen ve Eozin ile Masson'un Trikrom (Masson Trichrome Goldner with light green, 04-011802, Bio-Optica, Milano, İtalya) boyamaları uygulandı.

Boyanan kesitler ve hazırlanan smear örnekleri Leica DM 4000 (Germany) bilgisayar destekli görüntüleme sisteminde incelendi ve Leica Q Vin 3 programında resimleri çekilerek değerlendirildi.

İSTATİSTİKSEL YÖNTEM

Deneklerin ağırlıkları tüm deney süresince hergün ölçülerek kaydedildi ve istatistiksel veriler oluşturuldu. Ayrıca, Hematoksilen ve Eozin boyama sonucunda elde edilen tuba uterina kesitlerinde her grup ve her denek için birbirinden bağımsız 6 ayrı bölge seçilerek epitel boyu ve tüm duvar kalınlığı Leica Q Vin 3 programında ölçülerek kaydedildi.

Tüm analizler SPSS 20,0 istatistik programında gerçekleştirildi. Gruplar arası farklılıklar vücut ağırlıkları için Kruskal-Wallis testi ile analiz edilirken, gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğu Mann Whitney U çoklu karşıla-

TABLO 1: Grupların ağırlıklarına ait ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri.

	Ortalama ± SS	Ortanca (Min/Max)
Kontrol	121,86 ± 8,66 g	118,5 (111,60/133,60)
BPA	146,62 ± 24,40 g	145,3 (111,20/176,50)
Melatonin	129,90 ± 15,54 g	126 (111,20/146,20)
BPA+Melatonin	146,56 ± 21,70 g	142,4 (118/175,10)

TABLO 2: Grupların epitel yüksekliklerine ait ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri.

	Ortalama ± SS	Ortanca (Min/Max)
Kontrol	11,81 ± 1,84	11,34 (8,24/17,49)
BPA	14,45 ± 1,4	14,28 (9,63/16,88)
Melatonin	12 ± 1,69	11,78 (9,56/15,83)
BPA+Melatonin	12,96 ± 1,97	12,71 (9,3/16,87)

TABLO 3: Grupların tüm duvar kalınlıklarına ait ortalama, standart sapma, ortanca, minimum ve maksimum değerleri.

	Ortalama ± SS	Ortanca (Min/Max)
Kontrol	73,89 ± 8,29	73,45 (61,91/88,39)
BPA	91,59 ± 7,52	91,56 (73,51/103,5)
MEL	74,48 ± 6,12	74,46 (62,18/85,98)
BPA+Melatonin	84,58 ± 7,93	83,38 (70,16/101,3)

tırma testi ile analiz edildi. Gruplar arası farklılıkların tespit edilmesinde epitel ve tüm duvar kalınlıkları için Shapiro Wilk's testi uygulanırken, gruplar arasındaki farklılığın hangi gruptan kaynaklı olduğu Post-Hoc çoklu karşılaştırma testi ile analiz edildi. p<0.05 değeri anlamlı kabul edildi (Tablo 1-3).

BULGULAR

HEMATOKSİLEN VE EOZİN İLE MASSON'UN TRİKROM BOYAMA BULGULARI

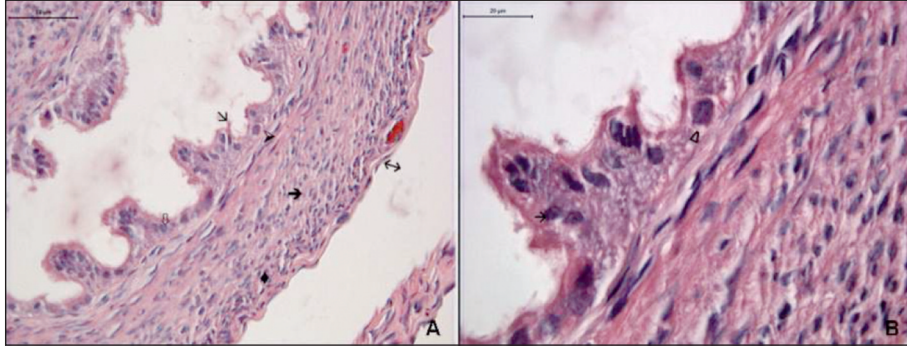
Kontrol grubuna ait küçük büyültmeli resim incelemelerinde, epitelin tek sıralı prizmatik olduğu, bazı hücrelerde silyaların apikal yüzde belirgin olarak dağıldığı dikkati çekti. Lamina propria fibroblast benzeri hücreler içeren bağ dokusu yapısındaydı. Tunika muskularis'in içte enlemesine ve dışta uzunlamasına yerleşik düz kas liflerinden

oluştugu ayırt edildi. Serozal kata ait mezotel belirgin idi. Büyük büyültmeli resimlerde silyalı ve silyasız hücrelerin epitelde yaygın olduğu izlendi (Resim 1, 2).

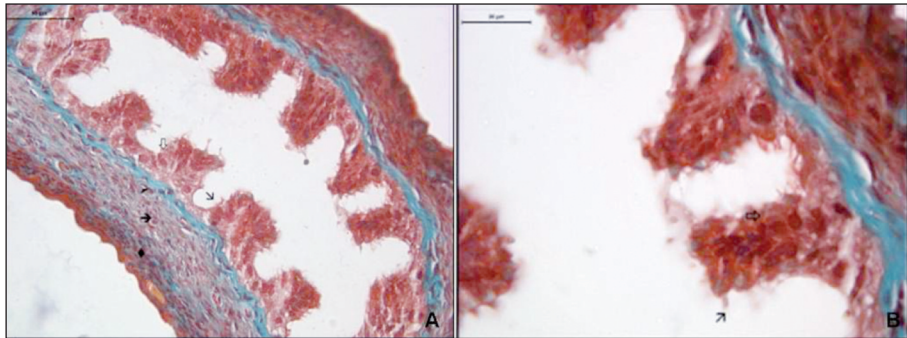
Melatonin uygulanan grupta epitel ve lamina propria, tunika muskularis ve serozal katmanların kontrol grubu ile benzer dağılım gösterdiği belirlendi. Mukozal katlantıların bazı bölgelerde

lamina propria içine doğru derin katlantılar yaptığı ve bez benzeri yapılar oluşturduğu ayırt edildi (Resim 3, 4).

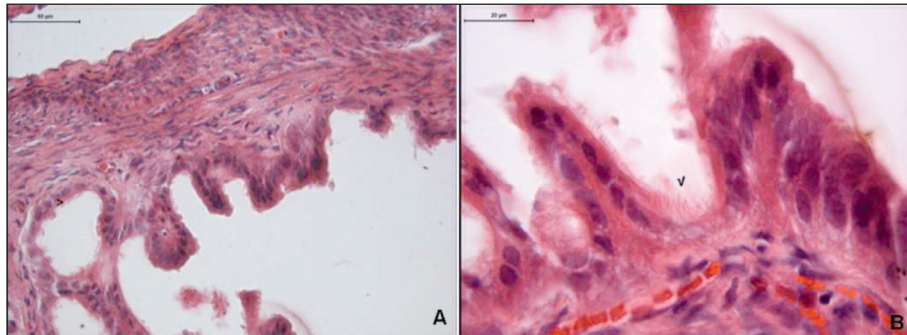
BPA uygulanan grupta mukozal katlantıların lamina propria içine doğru bez benzeri yapılar oluşturması dikkati çekti. Bu yapısal görünüm kistik yapı oluşumunun bir göstergesi olarak tanımlandı. Kontrol grubundan farklı olarak, epitelin



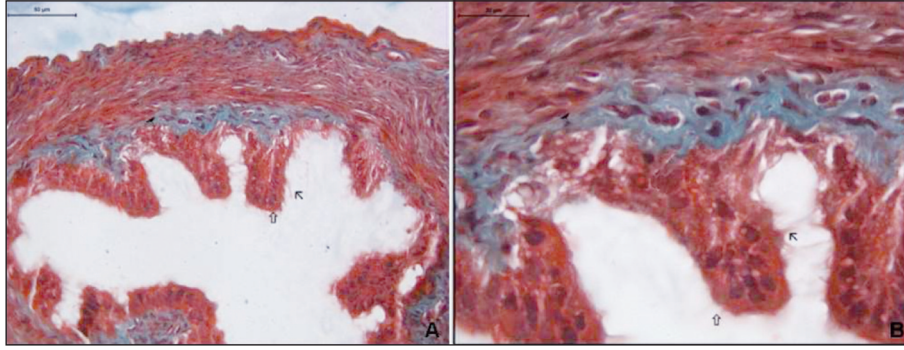
RESİM 1: Kontrol grubuna ait resimlerde tek sıralı prizmatik epitel (=>), silya yapısı (==>), lamina propria (\blacktriangledown), enlemesine düz kas lifleri (\blacktriangleright), uzunlamasına düz kas lifleri (\blacklozenge), silyalı hücre (->) ve silyasız hücre (Δ) görülüyor (Hematoxilen ve Eozin, A x400, B x1000).



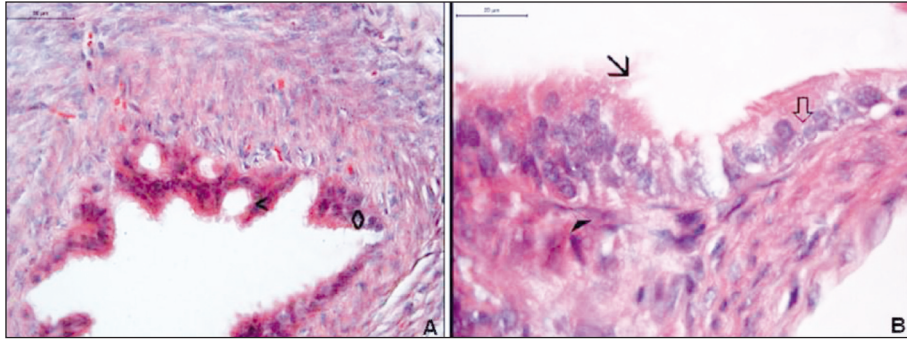
RESİM 2: Kontrol grubuna ait resimlerde tek sıralı prizmatik epitel (=>), silya yapısı (==>), lamina propria (\blacktriangledown), enlemesine düz kas lifleri (\blacktriangleright) ve uzunlamasına düz kas lifleri (\blacklozenge) görülüyor (Masson'un Trikrom Boyası, A x400, B x1000).



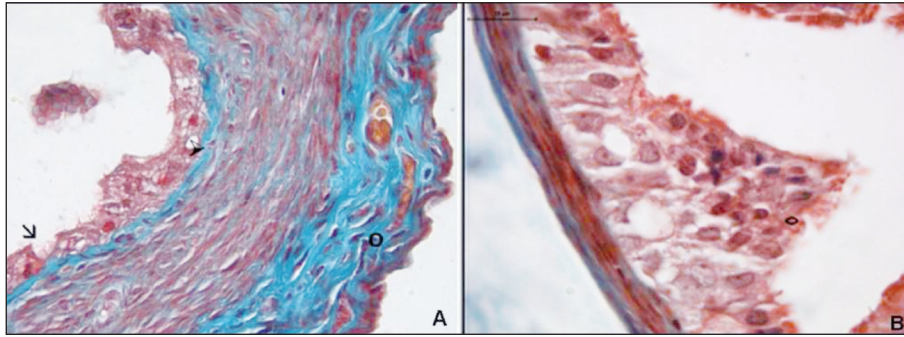
RESİM 3: Melatonin grubuna ait resimlerde mukozal katlantıların oluşturduğu bez benzeri yapı (>) ve mukozal katlantıların lamina propria içerisine doğru yaptığı katlantılar (\surd) görülüyor (Hematoxilen ve Eozin, A x400, B x1000).



RESİM 4: Melatonin grubuna ait resimlerde tek sıralı prizmatik epitel (\Rightarrow), silya yapısı (\Rightarrow) ve lamina propria (\Rightarrow) görülüyor (Masson'un Trikróm Boyası, A x400, B x1000).



RESİM 5: BPA grubuna ait resimlerde tek sıralı prizmatik epitel (\Rightarrow), silya yapısı (\Rightarrow), lamina propria (\Rightarrow), epitelin bazı bölgelerde çok katmanlı (\diamond) olduğu ve mukozal katlantıların oluşturduğu bez benzeri yapı (\rightarrow) görülüyor (Hematoksilen ve Eozin, A x400, B x1000).

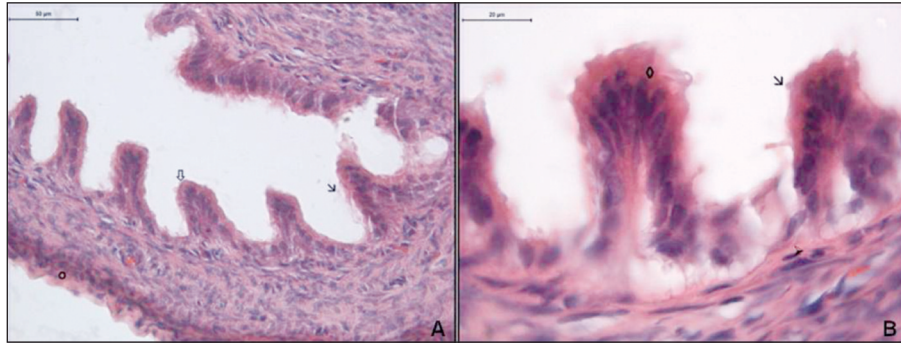


RESİM 6: BPA grubuna ait resimlerde tek sıralı prizmatik epitel (\Rightarrow), silya yapısı (\Rightarrow), lamina propria (\Rightarrow), epitelin bazı bölgelerde çok katmanlı (\diamond) olduğu ve serozal alanda proliferasyon (o) görülüyor (Masson'un Trikróm Boyası, A x400, B x1000).

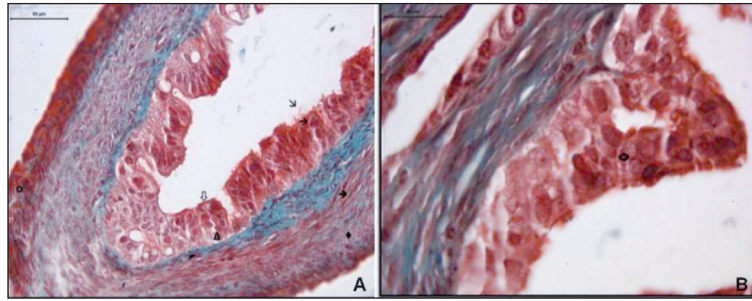
bazı bölgelerde çok tabakalı yapıda olduğu izlendi. Silyaların büyük büyültmelerde bazı hücrelerde birleştiği, bazı hücrelerde ise tümüyle kaybolduğu gözlemlendi. Yine salgı oluşturan bazı hücrelerde de hücre içeriğinin lümeneye boşaldığını simgeleyen yapı dikkati çekti (Resim 5, 6).

BPA+Melatonin uygulanan grupta ise yapının oldukça normale döndüğü ayırt edildi.

Serozal alanda da yer yer kontrol ve melatonin grubuna karşı proliferasyon varlığı izlendi. BPA+Melatonin uygulanan grupta tuba uterina'nın BPA grubunda görülen düzensiz yapılaşmasının en az düzeye indiği belirlendi. Mukozal katlantılardaki bez benzeri görünüm ve kistik yapı oldukça normale dönmüştü (Resim 7, 8).



RESİM 7: BPA+Melatonin grubuna ait resimlerde tek sıralı prizmatik epitel (\Rightarrow), silya yapısı (\Rightarrow), serozal alanda proliferasyon (o), lamina propria (\blacktriangleright) ve epitelin bazı bölgelerdeki çok katmanlı yapının (\diamond) azaldığı görülüyor (Hematoksilen ve Eozin, A x400, B x1000).



RESİM 8: BPA+Melatonin grubuna ait resimlerde tek sıralı prizmatik epitel (\Rightarrow), lamina propria (\blacktriangleright), silyalı hücre (\rightarrow), sil yapısı (\Rightarrow), silyasız hücre (Δ), enlemesine kas lifleri (\blacktriangleright), uzunlamasına kas lifleri (\blacklozenge) ve serozal alanda proliferasyon (o) ve epitelin çok katmanlı görünümünün (\diamond) oldukça normale döndüğü görülüyor (Masson'un Trikom Boyası, A x400, B x1000).

İSTATİSTİKSEL BULGULAR

Grupların ağırlık artışları birbirleriyle kıyaslandığında, istatistiksel olarak anlamlı bir ağırlık artışı saptanmadı ($p=0.257$). Her gruba ait ağırlık artışı ortalama değerleri kıyaslandığında BPA grubunda diğer gruplara kıyasla ağırlık artışının daha fazla olduğu, Melatonin grubunda kontrole kıyasla ağırlıkta artış olduğu, bununla birlikte BPA, Melatonin ve BPA+Melatonin grupları kendi aralarında kıyaslandığında ağırlık artışı en fazla olandan en az doğru sırasıyla BPA, BPA+Melatonin ve Melatonin şeklinde olduğu görüldü (Şekil 1).

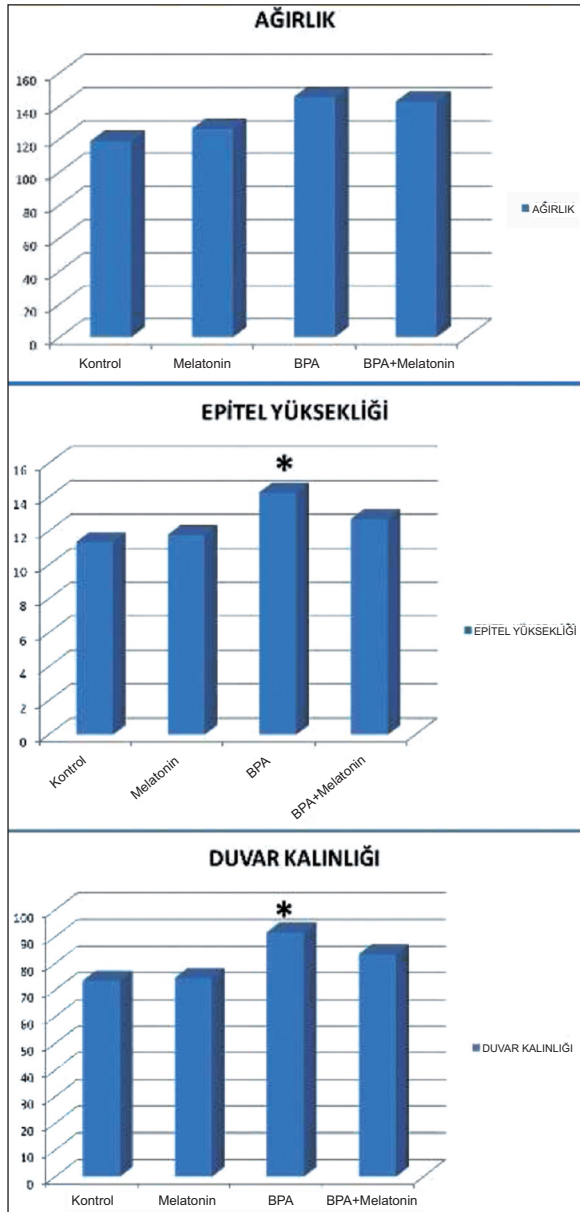
TARTIŞMA

Hormon işlevlerini taklit ederek, engelleyerek ya da olumsuz yönde etkileyerek insan ve hayvan sağlığı için tehdit oluşturan bileşiklerle ilgili olarak yapılan çalışmalar son yıllarda büyük önem kazanmıştır.¹³ Çevresel östrojen benzeri kimyasallar olan bu endokrin bozucular, insan sağlığı için

giderek zararlı maddeler olarak tanınmaktadır.¹⁴ Endokrin bozucu maddeler hormonların üretim, salınım, bağlanma, taşınma, yıkım ve vücuttan atılımları üzerine etki etmektedir. Doğada doğal olarak bulunabildikleri gibi değişik sentetik ve endüstriyel ürünlerin içerisinde de yer almaktadırlar.¹

Son yıllarda yapılan araştırmalarla BPA gibi kimyasalların insan ve hayvanlarda hormon sistemine ciddi hasarlar verdiği, bunun da sadece üremeyi değil vücut gelişimini ve davranışları da etkilediği ileri sürülmüştür.¹⁵

Newbold ve ark. çalışmalarında, BPA uygulamasının CD-1 türü dişi farelerde kistik ovaryum ve kistik hiperplazide anlamlı derecede artışa neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Aynı zamanda tuba uterina mukozal katlantılarında bez benzeri görünüm ve kistik endometrial hiperplazi bildirilmiştir. Mukozal katlantıların bez benzeri bir yapı halinde görülmesine karşılık, lümenin korunduğu



ŞEKİL 1: Deney gruplarında farklı değişkenlere ait betimleyici istatistiksel grafikler.

saptanmıştır. Serozal yüzey boyunca çoğalma ya da metastaz izlenmemiştir.¹⁶

Newbold ve ark. benzer şekilde biz de çalışmamızda 1000 µg/kg/gün dozda BPA uyguladığımız deney grubumuza ait tuba uterina dokusundaki histolojik incelemeler sonucunda, mukozal katlantıların lamina propria içerisine doğru uzanarak kistik yapılar oluşturduğunu belirledik.¹⁶

Aynı araştırmacılar gebe farelerle yaptıkları bir diğer araştırmalarında, deneklere gebeliğin 9-16.

günlerinde farklı dozlarda BPA uygulaması yapmışlardır. Üreme organları değerlendirildiğinde BPA'ya maruz kalan gruplarda ilerleyen proliferatif lezyonların varlığı gözlenmiştir. Çalışmada ayrıca BPA'ya maruz bırakılan fareler ile kontrol grubundakilerin vücut ağırlıkları arasında herhangi bir fark görülmediği bildirilmiştir.¹⁷

Bu çalışmaya benzer şekilde bizim de çalışmamızda BPA'ya maruz bırakılan sıçanlar ile diğer deney grubundakilerin vücut ağırlıkları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunmamıştır.

Hiyama ve ark. araştırmalarında kullandıkları fareleri gebeliğin 12. ve 16. günlerinde 0.1-100 mg/kg dozlarda BPA'ya maruz bırakmışlardır. BPA'ya maruz bırakılan gruptaki yenidoğan farelerde uterus ve ovaryum ağırlıklarında azalma olduğu gözlenmiş, ayrıca yeni doğanların östrus döngüsüne daha geç girdiği saptanmıştır.¹⁸

Howdeshell ve ark. yaptıkları çalışmada gebe farelere düşük doz (2.4 µg/kg/gün) BPA uygulamışlardır. Doğum sonrası BPA ile etkilenen yavru dişi farelerin vücut ağırlıklarının kontrol grubuna karşı daha fazla olduğu bildirilmiştir. Vajinal açıklığın oluşma ve vajinal östrojenin varlığının belirtisi olan vajinal sürüntüde tamamen oluşmuş kornifiye epitel hücrelerinin görülme zamanlaması değerlendirilmiş ve BPA ile karşılaşan grupta kontrol grubuna karşı anlamlı ölçüde erken olduğu belirlenmiştir.¹⁹

Biz de yaptığımız çalışmada, dişi sıçanlarda vajinal açıklığın oluşma ve pubertenin belirtisi olan vajinal sürüntüde epitel hücrelerinin varlığını değerlendirdiğimizde vajinal açıklığın ilk önce BPA'ya etkin kalan grupta oluştuğunu ve BPA'nın puberteyi öne çektiğini saptadık.

Yiğit ve Dağlıoğlu yaptıkları bir çalışmada erişkin tavukları BPA'ya maruz bırakmış ve uterustaki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar vücut ağırlıklarını incelediklerinde BPA'ya maruz kalan gruptakilerde anlamlı derecede kilo kaybı olduğunu bildirmiştir. Yüksek doz uygulamadan sonra yapılan histometrik değerlendirmeler sonucunda lümen epitel yüksekliğinde, tunika mukoza ve tunika muskularis kalınlığında ve uterus bez yoğunluğunda anlamlı derecede azalma saptamışlardır.²⁰

Bizim de çalışmamızda BPA uygulanan grupta tuba uterina epitelinin bazı bölgelerde çok katmanlı görünüm aldığı, özellikle serozal katmanda kalınlaşma olduğu gözlemlendi.

Memelilerin epifiz bezinden; ilaveten ovaryum, lens, kemik iliği hücreleri, gastrointestinal sistem ve safrasından da salınan melatonin hormonu aynı zamanda ovaryum folliküllerinin gelişimi, oosit kalitesinin artırılması, embriyo gelişimi, granuloza hücre luteinizasyonunun kuvvetlendirilmesi gibi etkilere de sebep olmakta ve bu nedenle IVF tedavilerinde de kullanılmaktadır.^{7,21}

Günümüze değin BPA'nın dişi genital sistem üzerindeki etkileri ile ilgili deney hayvanlarında endometriyal hücre çoğalması, uterus reseptivitesinde azalma ve implantasyon başarısızlıklarında artış gibi bulgulara varılmış çeşitli çalışmalar yapılmış olmakla birlikte, melatoninin BPA uygulamaları üzerindeki antioksidan kapasitesinin incelendiği çalışmaların sınırlı olduğu görülmüştür.²²

Zhang ve ark. çalışmalarında 7 gün süresince 100 µg/kg dozunda uyguladıkları BPA'nın farelerde oosit kalitesini ve fertilizasyon başarısını azalttığını tespit etmiş, 30 mg/kg melatonin uygulamasının ise, BPA kaynaklı oosit kalitesi üzerinde koruyucu etki sağladığı kanısına varmışlardır.²³

Batmanabane ve ark. yaptıkları bir çalışmada ekzojen melatoninin puberte başlangıcına olan etkisini incelemişlerdir. Melatonin uygulanan sıçanlarda vajinal açıklığın erken oluştuğu, Graaf folikül oranında ve organ ağırlıklarında artış olduğu ortaya konulmuştur.²⁴ Villanúa ve ark. ise yaptıkları çalışmada, sıçanlara uyguladıkları melatonin sonrasında melatonin verilen dişi sıçanlarda pubertenin kontrol grubuna karşın erken başladığını göstermişlerdir.²⁵

Biz de yaptığımız çalışmamızda melatonin uygulanan grupta dişi sıçanların kontrol grubu sıçanlara karşın pubertenin bir hafta erken başladığını gözlemledik.

SONUÇ

Gıda ve içecek ambalajlama gereçlerinde ham madde olarak sıklıkla kullanılan ve son yıllarda ya-

pılan araştırmalara göre, ambalaj materyallerinden gıda maddelerine geçerek insan ve hayvanlarda hasara neden olduğu belirlenen BPA ve antioksidan olarak yeğlenen melatoninin olası koruyucu etkilerini incelediğimiz çalışmamızda; BPA uygulamasının sıçanlarda puberteyi öne çektiği, BPA ile birlikte melatonin uygulamasının ise puberteyi geciktirdiği vajinal açıklık ve smear tayini ile tespit edildi. Tuba uterina dokusu üzerinde yapılan histolojik incelemeler sonucunda, BPA uygulaması sonucu mukozal katlantıların lamina propria içeresine doğru uzanarak kistik yapılar oluşturduğu ve epitelin yer yer çok katlı görünüm aldığı belirlendi. Serozal katmanın BPA uygulaması ile birlikte kalınlaştığı en dikkat çekici bulgu olarak nitelendirildi. Melatonin uygulamasının ise, BPA'nın neden olduğu bu değişimler üzerinde belirgin derecede koruma sağladığı düşünüldü.

Tüm bu veriler doğrultusunda BPA'ya maruz kalmanın tuba uterina yapısında olumsuz değişikliklere neden olduğu, erken puberteye sebep olduğu, tuba uterinada oluşturduğu olumsuz değişiklikler nedeni ile infertilite üzerine de etkileri olabileceği düşünüldü. Melatonin uygulamasının ise BPA'nın neden olduğu olumsuz değişiklikler üzerinde koruma etkisi olduğu kanısına varıldı.

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

Çalışma hazırlanırken tüm yazarlar eşit katkı sağlamıştır.

KAYNAKLAR

- Yeşilkaya E. [Endocrine disruptors]. *J Curr Pediatr* 2008;6:76-82.
- Durmaz E, Koçer Giray B. [An environmental endocrine disrupter: bisphenol A and evaluation of its toxic effects]. *Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Dergisi* 2013;56(4):192-9.
- Lobos JH, Leib TK, Su TM. Biodegradation of bisphenol A and other bisphenols by a gram-negative aerobic bacterium. *Appl Environ Microbiol* 1992;58(6):1823-31.
- Hugo ER, Brandebourg TD, Woo JG, Loftus J, Alexander JW, Ben-Jonathan N. Bisphenol A at environmentally relevant doses inhibits adiponectin release from human adipose tissue explants and adipocytes. *Environ Health Perspect* 2008;116(12):1642-7.
- 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.
- Nah WH, Park MJ, Gye MC. Effects of early prepubertal exposure to bisphenol A on the onset of puberty, ovarian weights, and estrous cycle in female mice. *Clin Exp Reprod Med* 2011;38(2):75-81.
- Schulz P, Steimer T. Neurobiology of circadian systems. *CNS Drugs* 2009;23(2):3-13.
- Arendt J. Melatonin. *Clin Endocrinol (Oxf)* 1988;29(1):205-29.
- Guérin P, El Moutassim S, Ménéz Y. Oxidative stress and protection against reactive oxygen species in the pre-implantation embryo and its surroundings. *Hum Reprod Update* 2001;7(2):175-89.
- Maeda K, Ohkura S, Tsukamura H. Physiology of the reproduction. In: Krinke GJ, ed. *The Laboratory Rat (Handbook of Experimental Animals)*. 1st ed. London: Academic Press; 2000. p.148-9.
- Mülazımoğlu SB, İde T, Aslan S. [Ratlarda üreme]. *Journal of Clinical and Analytical Medicine* 2012;39-44.
- Soylu SM. [Rat fizyolojisi]. *Journal of Clinical and Analytical Medicine* 2012;22-5.
- Yüksel S, Balkaya S, İmren E, Yüksel M, Kabay N. Removal of bisphenol A (BPA) from water by nanofiltration. İstanbul: 10. Ulusal Kimya Kongresi; 2012.
- Lee YM, Seong MJ, Lee JW, Lee YK, Kim TM, Nam SY, et al. Estrogen receptor independent mechanism of bisphenol A, an environmental estrogen. *J Vet Sci* 2007;8(1):27-38.
- Akyüz S, Yarat A, Egil E. [Dental materials containing bisphenol-A: current approach]. *MÜSBED* 2011;1(3):190-5.
- Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Banks E. Long-term adverse effects neonatal exposure to bisphenol A on the murine female reproductive tract. *Reprod Toxicol* 2007;24(2):253-8.
- Newbold RR, Jefferson WN, Padilla-Banks E. Prenatal exposure to bisphenol A at environmentally relevant doses adversely affects the murine female reproductive tract later in life. *Environ Health Perspect* 2009;117(6):879-85.
- Hiyama M, Choi E, Wakitani S, Tachibana T, Khan H, Kusakebe KT, et al. Bisphenol-A (BPA) affects reproductive formation across generation in mice. *J Vet Med Sci* 2011;73(9):1211-5.
- Howdeshell KL, Hotchkiss AK, Thayer KA, Vandenberg JG, vom Saal FS. Exposure to bisphenol A advances puberty. *Nature* 1999;401(6755):763-4.
- Yiğit F, Dağlıoğlu S. Histological changes in the uterus of the hens after embryonic exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol. *Protoplasma* 2010;247(1-2):57-63.
- Schulz P, Steimer T. Neurobiology of circadian systems. *CNS Drugs* 2009;23 Suppl 2:3-13.
- Adriaens I, Jacquet P, Cortvrindt R, Janssen K, Smits J. Melatonin has dose-dependent effects on folliculogenesis, oocyte maturation capacity and steroidogenesis. *Toxicology* 2006;228(2-3):333-43.
- Peretz J, Vrooman L, Ricke WA, Hunt PA, Ehrlich S, Hauser R, et al. Bisphenol A and reproductive health: update of experimental and human evidence, 2007-2013. *Environ Health Perspect* 2014;122(8):775-86.
- Zhang M, Dai X, Lu Y, Miao Y, Zhou C, Cui Z, et al. Melatonin protects oocyte quality from bisphenol A-induced deterioration in the mouse. *J Pineal Res* 2017;62(3):e12396.
- Batmanabane M, Ramesh KG. Effect of exogenous melatonin on the onset of puberty in female albino rats. *Anat Rec* 1996;245(3):519-24.
- Villanúa MA, Agrasal C, Esquifino AI. Neonatal melatonin administration advances rat vaginal opening and disrupts estrous cyclicity and estrogen-dependent regulatory mechanism of luteinizing hormone and prolactin. *J Pineal Res* 1989;7(2):165-74.