



T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**MATERNAL UYGULANAN BİSFENOL-A'NIN SIÇAN
BÖBREĞİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN
İNCELENMESİ**

Dilek (ŞENKAYA) MEYDAN

**Aralık 2021
DENİZLİ**

**T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**MATERNAL UYGULANAN BİSFENOL-A'NIN SIÇAN
BÖBREĞİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**HİSTOLOJİ VE EMBRİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

Dilek (ŞENKAYA) MEYDAN

Tez Danışmanı: Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Denizli, 2021

Bu tezin tasarımı, hazırlanması, yürütülmesi, araştırmalarının yapılması ve bulgularının analizlerinde bilimsel etiğe ve akademik kurallara özenle riayet edildiğini; bu çalışmanın doğrudan birincil ürünü olmayan bulguların, verilerin ve materyallerin bilimsel etiğe uygun olarak kaynak gösterildiğini ve alıntı yapılan çalışmalara atfedildiğini beyan ederim.

Öđrenci Adı Soyadı: Dilek (ŞENKAYA) MEYDAN

İmza:

ÖZET**MATERNAL UYGULANAN BİSFENOL-A'NIN SIÇAN BÖBREĞİNİN GELİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Dilek (ŞENKAYA) MEYDAN

Yüksek Lisans Tezi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı

Tez Yöneticisi: Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

Aralık 2021, 68 Sayfa

Bisfenol-A (BPA), günümüzde epoksi reçine yapımında ve polimer olmayan diğer plastiklerde katkı maddesi olarak kullanılan östrojenik bir kimyasaldır. Günümüzde BPA'nın yaygın kullanımından dolayı insan maruziyeti kaçınılmazdır. Bu maruziyet çeşitli vücut sistemleri üzerinde zararlı etkilere sebep olmaktadır. Bu çalışmanın amacı hamilelik ve laktasyon döneminde BPA'ya maruz kalan anne sıçanların yavrularının da plasenta ve süt yoluyla BPA'ya maruz kalması sonucu yavru böbreklerinin gelişimi üzerine etkilerini araştırmaktır. Bu çalışmada 13 adet yetişkin Wistar albino dişi sıçan 3 gruba ayrıldı. Grup 1 (Kontrol grubu) de yer alan sıçanlara sadece 1 ml/kg/gün mısır yağı intraperitoneal (ip) yolla uygulandı. Grup 2 (25 mg BPA grubu) sıçanlarına 25 mg/kg/gün BPA; Grup 3 (50 mg grubu) sıçanlarına ise 50 mg/kg/gün BPA 5 hafta boyunca ip olarak uygulandı. Doğum sonrası 21. ve 45. günlerde yavru sıçanların intrakardiyak kanları ve böbrek dokuları alınarak üre, toplam protein, kreatinin, TAS, TOS, MDA değerlerine bakıldı. Böbrek dokusunda histopatolojik bulguların tespiti için ışık mikroskopunda incelemeler yapılarak korteks ve medulla katmanında yer alan yapılar detaylı olarak ele alındı ve böbrek cisimciği, proksimal tübül, distal tübül ve toplama kanallarındaki hasar dereceleri belirlendi. Çalışma sonunda ise BPA'nın serum üre, kreatinin ve toplam protein düzeyini yükselttiği, reaktif oksijen türlerinin oluşumunu indükleyerek böbrek dokusunda oksidatif hasara sebep olduğunu ve yavru sıçanların böbreklerinde yer alan böbrek cisimciğinin Bowman boşluğunda daralma, proksimal, distal tübüller ve toplama kanallarında dilatasyon, tübül epitellerinde yer yer hücre kaybı, vakuolleşme gibi ciddi yapısal hasarlara sebep olduğunu tespit edildi. Sonuç olarak, gebe annelere uygulanan BPA'nın yenidoğan yavruların böbrek dokusunda histopatolojik hasara neden olduğu ve bu hasarın erişkin böbreğinde de devam edebildiği gösterilmiştir. Hasarın miktarı yüksek dozda daha belirgindir.

Anahtar Kelimeler: Bisfenol-A (BPA), üre, protein, kreatinin, total antioksidan seviye (TAS), total oksidan seviye (TOS), malondialdehit (MDA), oksidatif stres, böbrek, rat

Bu çalışma, PAÜ Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinasyon Birimi tarafından desteklenmiştir (Proje No: 2020SABE023).

ABSTRACT**INVESTIGATION OF THE EFFECTS OF MATERNAL APPLIED BISPHENOL-A ON THE DEVELOPMENT OF RAT KIDNEY**

(SENKAYA) MEYDAN, Dilek

Master Thesis, Department of Histology and Embryology

Thesis Advisor: Prof. Saim OZDAMAR (PhD)

December 2021, 68 Pages

Bisphenol-A (BPA) is an estrogenic chemical that is used as an additive in epoxy resins and other non-polymer plastics. Human exposure is inevitable due to the widespread use of BPA today. This exposure causes harmful effects on various body systems. The aim of this study is to investigate the effects on the development of offspring kidneys as a result of exposure to BPA through the placenta and milk of the offspring of mother rats exposed to BPA during pregnancy and lactation. In this study, 13 adult Wistar albino female rats were divided into 3 groups. Only 1 ml/kg/day corn oil was administered intraperitoneally (ip) to the rats in Group 1 (Control group). 25 mg/kg/day BPA to Group 2 (25 mg BPA group) rats; Group 3 (50 mg group) rats were administered 50 mg/kg/day BPA ip for 5 weeks. On the 21st and 45th days after birth, intracardiac blood and kidney tissues of baby rats were taken and urea, total protein, creatinine, TAS, TOS, MDA values were measured. In order to detect histopathological findings in kidney tissue, structures in the cortex and medulla layer were examined in detail by light microscopy, and the degree of damage in the kidney body, proximal tubule, distal tubule and collecting ducts was determined. At the end of the study, it was found that BPA increased the serum urea, creatinine and total protein levels, caused oxidative damage in the kidney tissue by inducing the formation of reactive oxygen species, and narrowed the Bowman space of the kidney body in the kidneys of the baby rats, dilation in the proximal, distal tubules and collecting ducts, dilatation in the tubule epithelium. It was determined that it caused serious structural damage such as cell loss and vacuolization from place to place. In conclusion, it has been shown that BPA administered to pregnant mothers causes histopathological damage to the kidney tissue of newborn puppies and this damage can continue in the adult kidney. The amount of damage is more pronounced at higher doses.

Key Words: Bisphenol-A (BPA), urea, protein, creatinine, total antioxidant level (TAS), total oxidant level (TOS), malondialdehyde (MDA), oxidative stress, kidney, rat

This study was supported by Pamukkale University Scientific Research Projects Coordination Unit through Project number 2020SABE023.

TEŞEKKÜR

Başta yüksek lisans eğitimim ve tez aşaması boyunca, tez çalışmamın planlanmasında, uygulanmasında, yorumlanmasında bilgi birikimini ve deneyimlerini hiçbir zaman esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR' a,

Tez çalışmam boyunca laboratuvar olanaklarından yararlandığım ve yüksek lisans eğitimim boyunca her türlü bilgi ve desteği esirgemeyen Histoloji ve Embriyoloji Ana Bilim Dalı değerli hocalarım, Prof. Dr. Gülçin ABBAN METE' ye, Prof. Dr. Hülya ÇETİN' e, Doç. Dr. Nazan KESKİN' e, Dr. Öğr. Üyesi Nazlı ÇİL' e ve Dr. Öğr. Üyesi Murat Serkant ÜNAL' a,

Deneylerim ve yüksek lisans öğrenimim sırasında, her türlü zorlukta bilgi, tecrübe ve yardımlarını esirgemeyen Arş. Görevlisi Semih TAN' a, Hatice Şiyzen ÇOBAN' a, Elif ÖNDER' e, Gül NEŞET' e, Veteriner Hekim Mehmet BAŞEĞMEZ 'e, bölümdeki tüm arkadaşlarıma,

Ve beni bugünlere getiren, hayatım boyunca her koşulda yanımda olan, maddi manevi hiçbir desteğini esirgemeyen canım aileme ve biricik eşime en yürekten teşekkürlerimi sunarım.

Saygılarımla

Aralık - 2021

Dilek (ŞENKAYA)

MEYDAN

İÇİNDEKİLER

ÖZET	II
ABSTRACT	III
TEŞEKKÜR	IV
İÇİNDEKİLER	V
ŞEKİLLER DİZİNİ	VII
TABLOLAR DİZİNİ	IX
KISALTMALAR VE SİMGELER	X
1. GİRİŞ	1
1.1. Amaç.....	4
2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI	5
2.1. Böbreğin Histolojisi.....	5
2.2. Böbreğin Embriyolojisi.....	8
2.2.1. Böbreklerin Konjenital Anomalileri.....	10
2.3. Bisfenol-A (BPA)	12
2.3.1. Bisfenol-A'nın Kimyasal Yapısı ve Referans Dozu	12
2.3.2. Bisfenol-A'nın Kullanım Alanları	13
2.3.3. Bisfenol-A'nın Sistemik Etkileri.....	14
2.4. Oksidatif stres	17
2.4.1. Serbest Radikaller.....	18
2.4.2. Antioksidanlar	19
2.5. Hipotezler	20
3. GEREÇ VE YÖNTEMLER	21
3.1. Doku Takibi	22
3.2. Hematoksilin & Eozin Boyama	22
3.3. Masson-Trikrom Boyama Yöntemi	23
3.4. Biyokimyasal Değerler.....	24
3.4.1. Total Oksidan Seviyenin Belirlenmesi (TOS) ($\mu\text{mol/L}$).....	24
3.4.2. Total Antioksidan Seviyenin Belirlenmesi (TAS) (mmol/L).....	25
3.4.3. Oksidatif Stres İndeksinin Belirlenmesi (OSI)	26
3.4.4. Malondialdehit Seviyenin Belirlenmesi (MDA) (mmol/L)	26
3.4.5. Total Protein Seviyesinin Belirlenmesi (TP) (g/dl).....	26
3.4.6. Üre Seviyesinin Belirlenmesi (UREA) (mg/dl).....	26

3.4.7. Kreatinin Seviyesinin Belirlenmesi (CREA) (mg/L)	27
3.5. İstatistiksel Analiz	27
4. BULGULAR	28
4.1. Histopatolojik Bulgular	28
4.1.1. 21 Günlük Sıçanlara Ait Histopatolojik Bulgular	28
4.1.1.1. Kontrol Grubuna (Grup 1) Ait Bulgular	28
4.1.1.2. 25 mg BPA Grubuna (Grup 2) Ait Bulgular	31
4.1.1.3. 50 mg BPA Grubuna (Grup 3) Ait Bulgular	35
4.1.2. 45 Günlük Sıçanlara Ait Histopatolojik Bulgular	38
4.1.2.1. Kontrol Grubuna (Grup 1) Ait Bulgular	38
4.1.2.2. 25 mg BPA Grubuna (Grup 2) Ait Bulgular	41
4.1.2.3. 50 mg BPA Grubuna (Grup 3) Ait Bulgular	43
4.2. Biyokimyasal Bulgular.....	47
4.2.1. Total Antioksidan Seviyesi Sonuçları	47
4.2.2. Total Oksidan Seviyesi Sonuçları.....	48
4.2.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Sonuçları	49
4.2.4. Malondialdehit (MDA) Seviyesi Sonuçları	50
4.2.5. Toplam Protein Seviyesi Sonuçları	51
4.2.6. Üre Seviyesi Sonuçları.....	52
4.2.7. Kreatinin Seviyesi Sonuçları	53
5. TARTIŞMA	54
6.SONUÇ	61
7. KAYNAKLAR	62
8. EKLER	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 1: Böbreğin yapısal organizasyonu.	6
Şekil 2: Nefron yapısı.....	6
Şekil 3: Böbrek cisimciği şematik gösterimi.....	7
Şekil 4: Böbreğin embriyolojik gelişim aşamaları.....	9
Şekil 5: Metanefroz gelişimi.	10
Şekil 6: Böbreğin konjenital anomalileri.....	11
Şekil 7: Böbreğin konjenital anomalileri (diskoid böbrek).....	11
Şekil 8: Bisfenol-A'nın yapısal formülü.	12
Şekil 9: Bisfenol-A'nın kronik hastalıklar üzerine etkileri.....	15
Şekil 10: 21 günlük kontrol grubu, böbrek dokusu genel görünüm. (H&E, 4x).	29
Şekil 11: 21 günlük kontrol grubu, böbrek cisimciği. (H&E, 40x).....	29
Şekil 12: 21 günlük kontrol grubu, tübüller ve toplama kanalı. (H&E, 40x)	30
Şekil 13: 21 günlük kontrol grubu, toplama kanalı ve Henle kulpu. (H&E, 40x)	30
Şekil 14: 21 günlük kontrol grubu, böbrek cisimciği ve tübüller. (MTK, 40x).	31
Şekil 15: 21 günlük 25 mg BPA grubu, böbrek dokusu genel görünüm. (H&E, 4x).....	32
Şekil 16: 21 günlük 25 mg BPA grubu, böbrek cisimciği ve tübüller. (H&E, 20x).	32
Şekil 17: 21 günlük 25 mg BPA grubu, böbrek cisimciği (H&E, 20x).	33
Şekil 18: 21 günlük 25 mg BPA grubu, dilatasyon. (H&E, 20x).....	33
Şekil 19: 21 günlük 25 mg BPA grubu, toplama kanalları. (H&E, 40x).....	34
Şekil 20: 21 günlük 25 mg BPA grubu, böbrek cisimciği. (MTK, 40x).	34
Şekil 21: 21 günlük 50 mg BPA grubu, böbrek dokusu genel görünüm. (H&E, 4x).....	35
Şekil 22: 21 günlük 50 mg BPA grubu, böbrek cisimciği. (H&E, 20x).	36
Şekil 23: 21 günlük 50 mg BPA grubu, toplama kanalları. (H&E, 40x).....	36
Şekil 24: 21 günlük 50 mg BPA grubu, toplama kanalı dilatasyonu. (H&E, 40x).....	37
Şekil 25: 21 günlük 50 mg BPA grubu, böbrek cisimciği. (MTK, 40x).	37
Şekil 26: 45 günlük kontrol grubu, böbrek korteksi genel görünüm. (H&E, 4x).	38
Şekil 27: 45 günlük kontrol grubu, böbrek cisimciği. (H&E, 10x).....	39
Şekil 28: 45 günlük kontrol grubu, böbrek medullası, tübüller. (H&E, 40x).	39
Şekil 29: 45 günlük kontrol grubu, böbrek medullası, henle kulbu. (H&E, 20x).....	40
Şekil 30: 45 günlük kontrol grubu, böbrek cisimciği. (MTK, 40x).	40
Şekil 31: 45 günlük 25 mg BPA grubu, böbrek cisimciği. (H&E, 40x).	41
Şekil 32: 45 günlük 25 mg BPA grubu, böbrek cisimciği, tübüller. (H&E, 40x).....	42
Şekil 33: 45 günlük 25 mg BPA grubu, toplama kanalı ve dilatasyon. (H&E, 40x).....	42
Şekil 34: 45 günlük 25 mg BPA grubu böbrek dokusu, bağ doku. (MTK, 20x).....	43
Şekil 35: 45 günlük 50 mg BPA grubu, böbrek dokusu genel görünüm. (H&E, 4x).....	44
Şekil 36: 45 günlük 50 mg BPA grubu, böbrek cisimciği, tübüller. (H&E, 40x).....	44
Şekil 37: 45 günlük 50 mg BPA grubu, böbrek cisimciği, vakuolleşme. (H&E, 40x).....	45
Şekil 38: 45 günlük 50 mg BPA grubu, toplama kanalı, dilatasyon. (H&E, 40x).....	45
Şekil 39: 45 günlük 50 mg BPA grubu, toplama kanalı epitel hücreleri. (H&E, 40x).....	46
Şekil 40: 45 günlük 50 mg BPA grubu, böbrek cisimciği ve tübüller. (MTK, 40x).....	46
Şekil 41: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3' teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların TAS sonuçları.	47
Şekil 42: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3' teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların TOS sonuçları.	48

Şekil 43: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3' teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların OSİ sonuçları.....	49
Şekil 44: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının MDA konsantrasyonu sonuçları.	50
Şekil 45: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının toplam protein (TP) değerleri.	51
Şekil 46: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının üre sonuçları.....	52
Şekil 47: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının kreatinin düzeyleri.....	53

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 1: Oksidatif stres biyobelirteçleri.....	17
Tablo 2: ROS molekülleri ve metabolizmaları.	19
Tablo 3: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3' ün TAS değerlerinin analiz sonuçları.	47
Tablo 4: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3' ün TOS değerlerinin analiz sonuçları.....	48
Tablo 5: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3' ün OSI değerlerinin analiz sonuçları.....	49
Tablo 6: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3' ün MDA değerlerinin analiz sonuçları	50
Tablo 7: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3' ün TP değerlerinin analiz sonuçları.	51
Tablo 8: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3' ün üre değerlerinin analiz sonuçları.....	52
Tablo 9: Grup 1, Grup 2 ve Grup 3' ün kreatinin değerlerinin analiz sonuçları.....	53

KISALTMALAR VE SİMGELER

BP	Kan basıncı
BPA	Bisfenol A
CAT	Katalaz
DES	Dietilstilbestrol
ECS	Endojen kanabinoid sistem
EDC	Endokrin bozucu kimyasal
EPA	Çevre Koruma Ajansı
FDA	Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi
GFR	Glomerüler filtrasyon hızı
GPx	Glutasyon peroksidaz
GR	Glutasyon redüktaz
GSH	Glutasyon
GST	Glutasyon-S-transferaz
IV	İntraventriküler
KBH	Kronik böbrek hastalığı
LOAEL	En düşük değer
MDA	Malondialdehit
MTK	Masson's Trikróm Boyası
NIEHS	Ulusal Çevresel Sağlık Bilimleri Enstitüsü
NTP	Ulusal Toksikoloji Programı
OD	Optik densite
OS	Oksidatif stres
PC	Polikarbonat
RNS	Reaktif nitrojen türleri
ROS	Reaktif oksijen türleri
SOD	Süperoksit dismutaz
SSS	Santral sinir sistemi
TAS	Total antioksidan seviye
TSH	Tiroid stimüle edici hormon
T3	Tiroid hormon
T4	Total tiroksin
TOS	Total oksidan seviye
µg	Mikrogram
°C	Santigrat derece

1. GİRİŞ

Böbrek, insan vücudunun önemli bir organıdır. Metabolitleri ve zararlı maddeleri salgılamak, su dengesini sağlamak, elektrolit dengesini ve asit-baz dengesini korumak, kan basıncını düzenlemek, kırmızı kan hücresi üretimini teşvik etmek ve D vitamini aktivasyonunu teşvik ederek iç ortamın stabilitesini sağlamak başlıca fonksiyonlarıdır. Böbreğin yapı ve fonksiyonunda bozukluğun meydana gelmesi kronik böbrek hastalığı (KBH) olarak tanımlanmaktadır. Bu sendrom genellikle yavaş ilerleyen klinik bir sendromdur. Popülasyonun yaklaşık %10-13'ünde görüldüğü için oldukça yaygındır. Bu patolojiye sahip hastalarda çoğu zaman semptom görülmemekle birlikte renal disfonksiyonun tipik komplikasyonları daha ileri safhalarda ortaya çıkmaktadır. Yetişkin bir hastanın, üç ay veya daha uzun bir süre boyunca glomerüler filtrasyon hızı (GFR) 60 ml/dak/1.73 m²'den düşük veya GFR 60 ml/dak /1.73 m²'den yüksek olduğunda KBH tanısı konulmaktadır. KBH'nin ana sebepleri arasında diyabet, hipertansiyon, kronik glomerülo nefrit, kronik piyelonefrit, anti inflamatuvar ilaçların kronik kullanımı, otoimmün hastalıklar, polikistik böbrek hastalığı, Alport hastalığı, konjenital malformasyonlar ve uzamış akut böbrek hastalığı yer almaktadır. Günlük hayatta maruz kaldığımız birçok kimyasal ve çevresel faktörler başta endokrin sistem olmak üzere birçok sistemi de etkileyerek kronik böbrek hastalığını tetiklemektedir (Ammirati 2020).

Endokrin sisteme etki ederek gelişimi ve fonksiyonunda değişime yol açan ekzojen maddeler endokrin bozucu olarak adlandırılmaktadır. Endokrin bozucu olarak nitelendirilen bu maddelerin, hormon üretimi, hormon salınımı, hormon aktivitesi, vücuttan atılımı gibi faktörler üzerine etki ettikleri bilinmektedir. Endokrin sistemi etkileyen bu maddelerin başlıcaları BPA, poliklorine bifeniller, ftalatlar, pestisidler, fitoöstrojenlerdir. Bu endokrinöz yıkıcılardan günümüzde yaygın kullanıma sahip olan, bundan dolayı da en sık maruz kaldığımız sentetik bileşiklerden biri BPA'dır. BPA, 2,2-bis(4-hidroksifenil) propan formülüne sahip epoksi reçine yapımında ve polimer olmayan diğer plastiklerde katkı maddesi olarak kullanılan östrojenik bir kimyasaldır. BPA yaygın olarak metal yiyecek ve içecek kutuları, diş macunu şişeleri, yiyecek paketleri, göz lensleri, tüp bağlantıları, kan oksijenatörleri, yenidoğan inkübatörleri, nebulizatörler, kateterler, enteral beslenme tüpleri, diyaliz gibi birçok tıbbi cihazda ve sağlık hizmeti uygulamalarında kullanılmaktadır. BPA, bazı dokularda östrojen reseptörüne bağlanarak tepki oluşturulmasını sağlarken bazı dokularda östrojen reseptörüne bağlanmayı engelleyerek tepki oluşturulmamasına sebep olduğu için iyi bir seçici östrojen reseptör modülatörü olarak tanımlanmaktadır. BPA'nın plastik endüstrisinde yaygın kullanımı,

çevreye yoğun dağılımına ve kaçınılmaz şekilde insan maruziyetine sebep olmaktadır (Ayazgök ve Küçükkılınç 2017, Esplugas vd 2018).

BPA'nın çeşitli vücut sistemleri üzerinde zararlı etkilere sahip olduğu yapılan çalışmalarla ortaya konulmaktadır. İnsanlar üzerinde yapılan birçok çalışma, BPA'ya maruz kalmanın, obezite, endokrin, üreme, davranış bozuklukları, perinatal dönem ve pediatrik sonuçların dahil olduğu çok çeşitli sağlık sorunlarıyla ilişkili olduğunu göstermektedir. Kültür hücreleri ve laboratuvar hayvanları kullanılarak yapılan deneyler, BPA'nın böbrek, testis, beyin, kalp, karaciğer ve pankreas dahil olmak üzere birçok hayati organlarda birikimini ve bunun sonucunda da organların fonksiyonunu etkileyebildiğini göstermektedir (Kobroob vd 2018, Wang vd 2018).

BPA'nın insan sağlığı üzerindeki zararlı etkileri, toplumun, özellikle fetal gelişimi ve sonrasındaki dönemlerde, sürekli olarak düşük dozlarda maruz kalmasından dolayı ortaya çıkmaktadır. Gelişim sürecindeki organ ve dokular bu kimyasalın neden olduğu anormal endokrin sinyale karşı yüksek hassasiyet göstermekte, çocukluk ve yetişkinlik döneminde de albuminüri ile ilişkilendirilmektedir. Farelerde yapılan bir çalışmada, BPA'nın, idrar albümini ile glomerüler hiperfiltrasyonda podositopatiyi desteklediği ve oksidatif stres ile de yakından ilişkili olduğu tespit edilmiştir (Esplugas vd 2018). Ayrıca, BPA'ya maternal maruz kalma sonucunda, karaciğer tümörü, meme kanseri, doğum hasarları, akciğer iltihaplanması, Parkinson hastalığı, diyabet, yavrularda üreme anomalileri gibi olumsuzlukların görülme riski artmaktadır (Ayazgök ve Küçükkılınç 2017, Wang vd 2018). Prenatal dönemde BPA maruziyeti sonucunda postnatal dönemde erkek bebekte tiroid stimüle edici hormonun (TSH) serumdaki değerinde düşüşe sebep olduğu; çocuklarda üriner BPA konsantrasyonları ile astım arasında bağlantı olduğu; gelişme dönemindeki bireylerde ve yetişkinlerde idrardaki BPA seviyesi ile TSH ve total tiroksin (T4) hormonu arasında ters bir ilişki görüldüğü; BPA değeri yüksek olan hamile kadınların yenidoğan kız çocuklarının kordon serumunda TSH seviyelerinin düşüklüğü saptanmıştır. Ayrıca, BPA'nın tiroid hormon reseptörü antagonisti olduğu ve reseptörün triiyodotironin (T3) hormon tarafından stimüle edilen transkripsiyonel fonksiyonunu inhibe ettiği sonucuna varmışlardır (Ayazgök ve Küçükkılınç 2017).

Ola-Davies ve Olukole (2018) BPA'nın karaciğerde glukuronide metabolize olduğunu, metabolize olduktan sonra böbreklerden idrar yoluyla atılıp gastrointestinal sistem tarafından absorbe edildiğini ayrıca östradiol, androjen ve tiroid hormonlarını taklit edebildiğinden östrojenik etki yarattığını belirtmişlerdir (Ola-Davies ve Olukole 2018). Nakamura vd (2007) embriyonik dönemde BPA'ya maruz kalmanın neokortikal gelişim ile erişkin kortikal organizasyonunda hasara sebep olduğunu; Yokosuka vd (2008)

yüksek doz (500 µg/gün) BPA'nın dentritik ve sinaptik gelişimde birtakım değişikliklere sebep olduğunu, düşük doz BPA'nın (40–50 µg/kg/gün) ise kemirgen ve maymunların hipokampus bölgelerinde meydana gelen sinaptogenezis sırasında anti-östrojenik etki gösterdiği sonucuna varmışlardır (Yokosuka vd 2008). Rezg vd (2014), BPA maruziyetinin santral sinir sistemi (SSS) fizyolojisini özellikle beyin gelişim evresinde etkilediğini; lipofilik yapısından dolayı kan-plasenta ve kan-beyin bariyerlerini kolayca geçebildiği için laktasyon döneminde de etkisinin fazla olduğunu yaptıkları çalışmada bildirmişlerdir (Nakamura vd 2007, Rezg vd 2014). Olea-Herrero vd (2014) Bisfenol-A'ya maruz kalmanın proteinüri, glomerüler hiperfiltrasyon, podositopeni ve podositopatiyi etkilediğini tespit etmişlerdir (Olea-Herrero vd 2014, Ayazgök ve Küçükkılınç 2017).

Sonuç olarak, bu çalışmamızın amacı son derece yaygın bir üretim ve kullanım alanı olan aynı zamanda endokrin bozucu olarak tanımlanan BPA'nın, annenin hamilelik ve laktasyon döneminde maruziyeti sonucu plasenta ve süt yolu ile yavruya geçerek, dolaylı yolla BPA'ya maruz kalan yavruların böbreklerinde yapısal olarak ne gibi sonuçlara sebep olacağını toplam protein, kreatinin, üre seviyeleri üzerine etkilerini araştırmaktır.

1.1. Amaç

Son yıllarda etkisi sıklıkla tartışılan, oldukça yaygın üretim ve kullanım alanı olan aynı zamanda endokrin bozucu olarak tanımlanan BPA'nın etkilerini doğrudan BPA uyguladığımız deneklerde değil BPA uygulanan annelerin yavruları üzerindeki etkilerini araştırdık. Bu çalışmanın amacı, hamilelik ve laktasyon döneminde BPA'ya maruz kalan anne sıçanların yavrularına ait böbreklerin gelişimi üzerine etkilerini histolojik ve biyokimyasal olarak araştırmaktır.

2. KURAMSAL BİLGİLER VE LİTERATÜR TARAMALARI

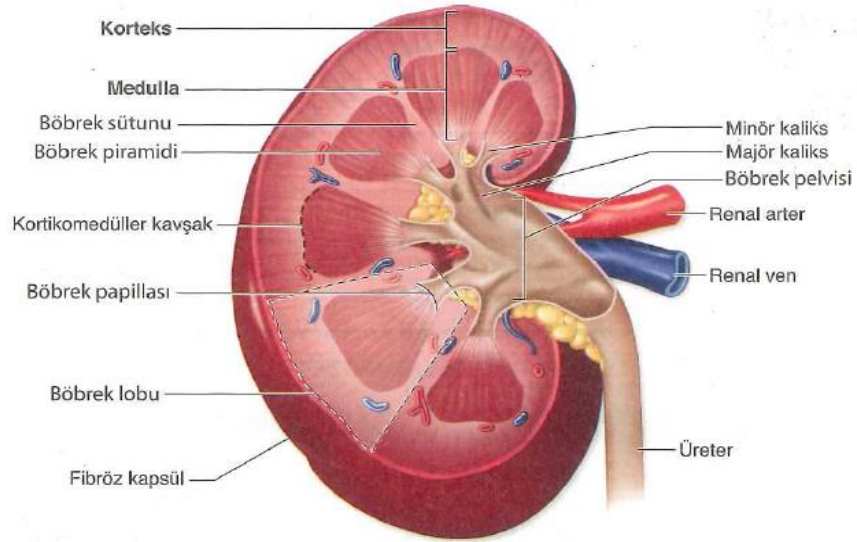
2.1. Böbreğin Histolojisi

Böbrekler, posteriyor abdominal kavitenin retroperitoneal aralığında, kolumna vertebralisin her iki tarafında konumlanmış büyük, kırmızımsı, kapsüllü organlardır. Her böbreğin üst kutbunda renal fasiyaya ve perirenal adipoz dokuya gömülü adrenal bez bulunmaktadır. Böbreğin mediyal kenarı içinden renal damarlar ve sinirlerin geçtiği hilus adı verilen bölge yer almaktadır (Ross ve Pawlina 2017).

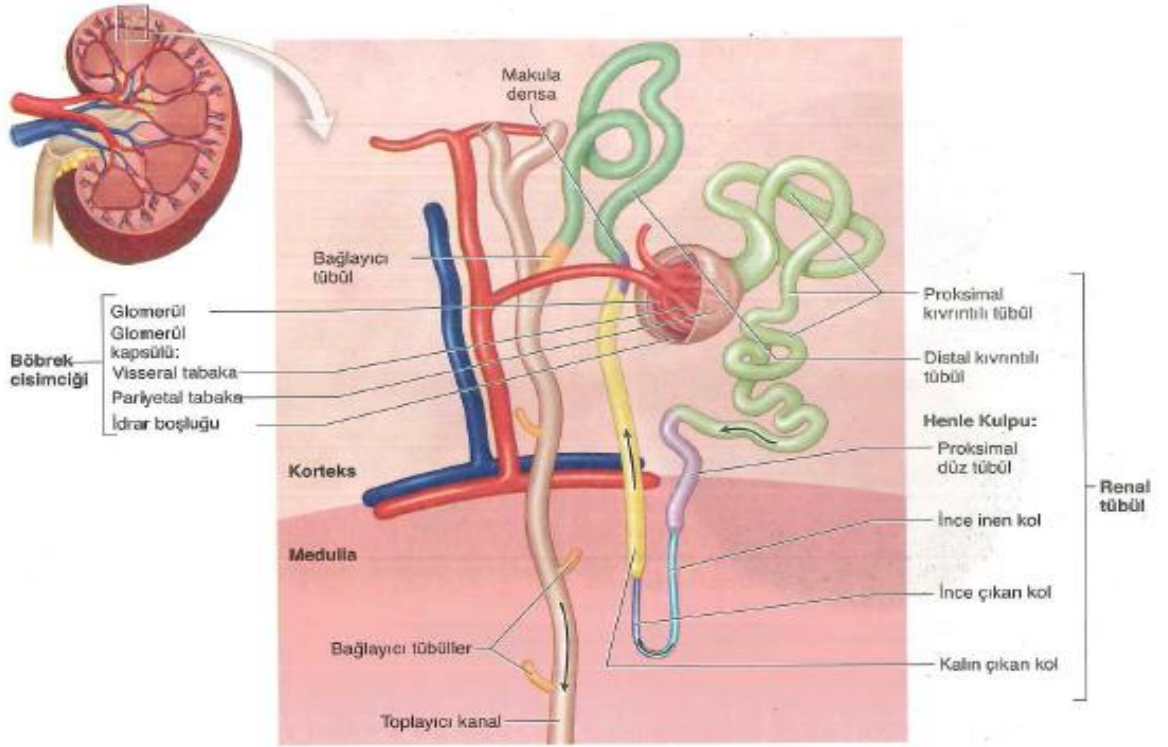
Hilus içinde üreterin üst kısmı böbrek pelvisi olarak genişleyerek majör ve minör kaliksleri meydana getirmektedir. Böbrek dışta renal korpüsküllerin ve onlarla bağlantılı tübüllerin bulunduğu korteks ile içte düz tübüleri, toplama kanallarını içeren medulla olmak üzere iki kısımdan oluşmaktadır (Şekil 1). Böbrek medullası böbrek piramidi olarak adlandırılan konik yapılardan oluşmaktadır. Böbrek piramitleri korteksten gelen medullar ışınlarla böbrek sütunlarına ayrılmaktadırlar (Mescher 2006).

Her bir böbrek piramidin papilla olarak adlandırılan apikal kısmı, renal pelvisin uzantısı olan minör kalikslere açılmaktadır. Papillanın ucu area kribroza olarak bilinir ve toplama borularının açıklıkları tarafından delinmiştir. Minör kaliksler majör kaliksin dallarıdır. Her bir medullar piramit ve bunun bağlantılı olduğu kortikal doku (her komşu böbrek sütununun yarısı) bir böbrek lobunu oluşturmaktadır. Böbrek lobları da merkezde bulunan medullar ışın ve onu çevreleyen kortikal dokudan oluşan böbrek lobüllerine bölünmektedir. Her bir lobül, bir toplama borusu ve onun drene ettiği tüm nefronlardan oluşmaktadır (Ross ve Pawlina 2017).

Böbreğin temel yapısal ve işlevsel birimi nefron olarak adlandırılır. Yetişkin bir insan böbreğinde yaklaşık 2 milyon nefron bulunmaktadır. Nefronlar, idrar üretiminden sorumlu yapılardır. İdrarın son konsantrasyonunu ise toplama tübüleri ayarlamaktadır. Renal korpüskül ve renal tübüller nefronu meydana getirmektedir (Şekil 2). Renal korpüskül, kapiller yumaktan oluşmuş glomerül ve çift katlı epitelle çevrili renal kapsülden (Bowman kapsülü) oluşmaktadır. Nefronun tübüler kısımları ise proksimal kıvrımlı tübül, proksimal düz tübül, Henle kulbunun ince kolunu oluşturan ince segment, distal düz tübül ve distal kıvrımlı tübülden oluşmaktadır. Distal kıvrımlı tübül toplama tübülüne bağlanmaktadır (Ross ve Pawlina 2017).



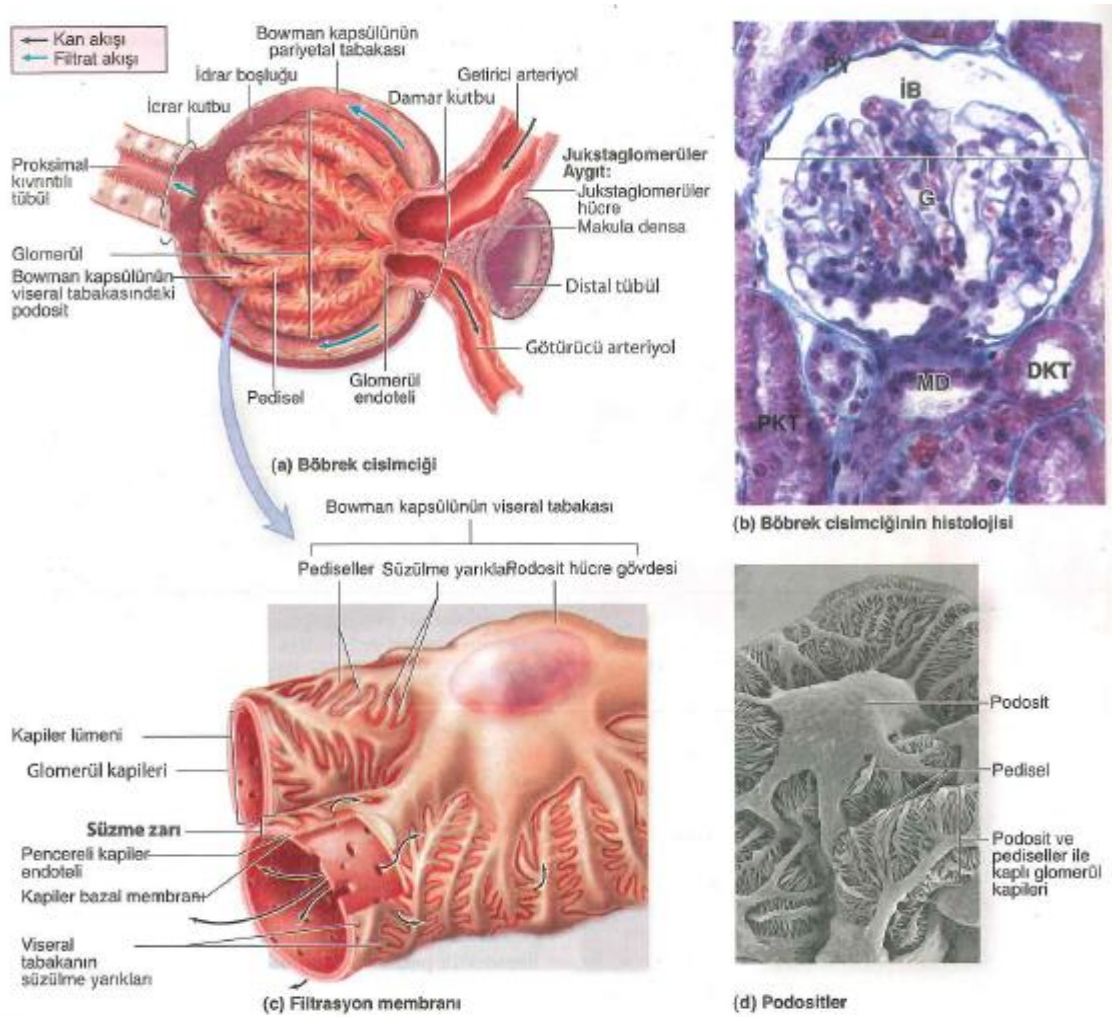
Şekil 1: Böbreğin yapısal organizasyonu gösterilmektedir (Mescher 2006).



Şekil 2: Nefron yapısı şematik olarak gösterilmektedir (Mescher 2006).

Böbreğin filtrasyon aparatı olan renal korpüskül, glomerül endotelinden, glomerüler bazal membrandan ve Bowman kapsülünün visseral tabakasından oluşan filtrasyon aparatını içermektedir (Şekil 3). Mezangiyal hücreler ve bu hücrelerin ekstraselüler matriksi renal korpüskülün mezangiyumunu oluşturmaktadır. Mezangiyal

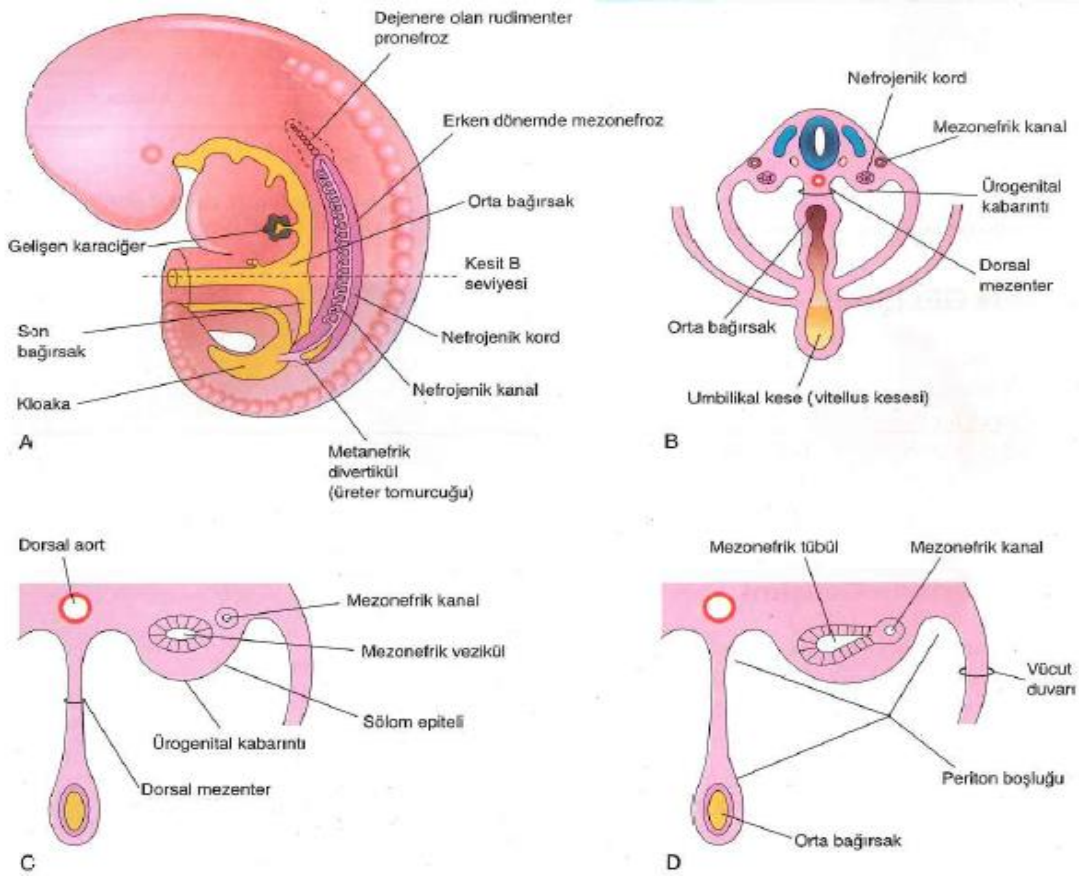
hücreler, glomerüler yumağın kapiller endotelinin altında bulunurlar ve damar kutbuna uzanarak burada jukstamedullar aparatın parçası olurlar. Nefronun distal kalın segmentinin son bölümü afferent arteriyole yakın konumlanmaktadır. Arteriyolün en yakınında bulunan tübül epitel hücreleri makula densayı oluşturmaktadır. Makula densanın karşısında bulunan arteriyal düz kas hücreleri, düşük kan NaCl konsantrasyonuna yanıt olarak renin salgılayan jukstaglomerüler hücreleri oluşturmak üzere modifiye olmaktadır (Ross ve Pawlina, 2017).

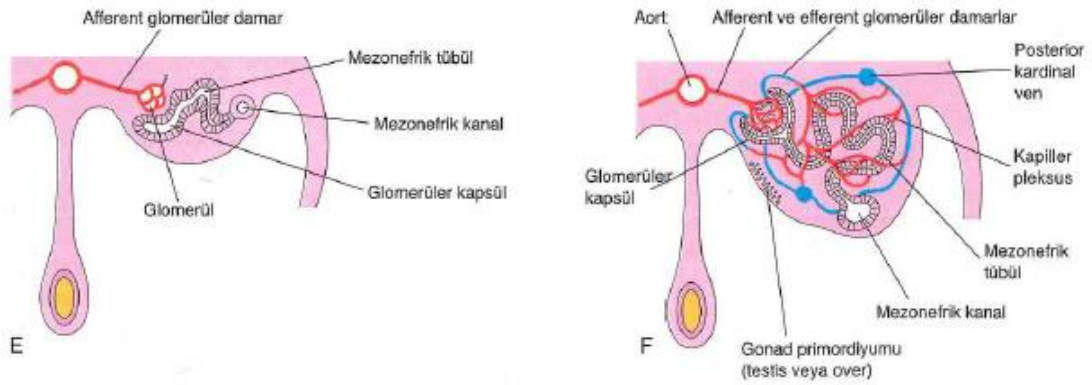


Şekil 3: Böbrek cisimciği şematik olarak gösterilmektedir. (a) Böbrek cisimciği, glomerüler kapsül içinde bulunan glomerül olarak adlandırılan kapiller kütesidir. Kapsülün iç kısmı podositlerden oluşmaktadır. Podositler pedisel olarak adlandırılan iç içe geçmiş uzantılar arasında yarı benzeri boşluklar oluşturmaktadır. (b) Böbrek cisimciğinin temel histolojik özellikleri gösterilmektedir. Kapiller glomerülü (G) idrar boşluğu (İB) ile çevrelenir, Bowman kapsülünün pariyetal yaprağını (PY) oluşturan tek katlı yassı epitel ile sarılmaktadır. Böbrek cisimciğinin yanında, nefronun makula densası (MD) ve proksimal (PKT) ve distal kıvrıntılı tübülleri (DKT) görülmektedir. H ve E.X300. (c) Kan plazmasının basınç altında kapiller pencereleden, filtrasyon membranından karşıya ve pediseller arasında filtrasyon yarıklarından geçmesiyle, böbrek cisimciğinde süzüntü üretilmektedir. (d) Taramalı elektron mikroskopunda podosit ve pedisel uzantıları görülmektedir (X800) (Mescher 2006).

2.2. Böbreğin Embriyolojisi

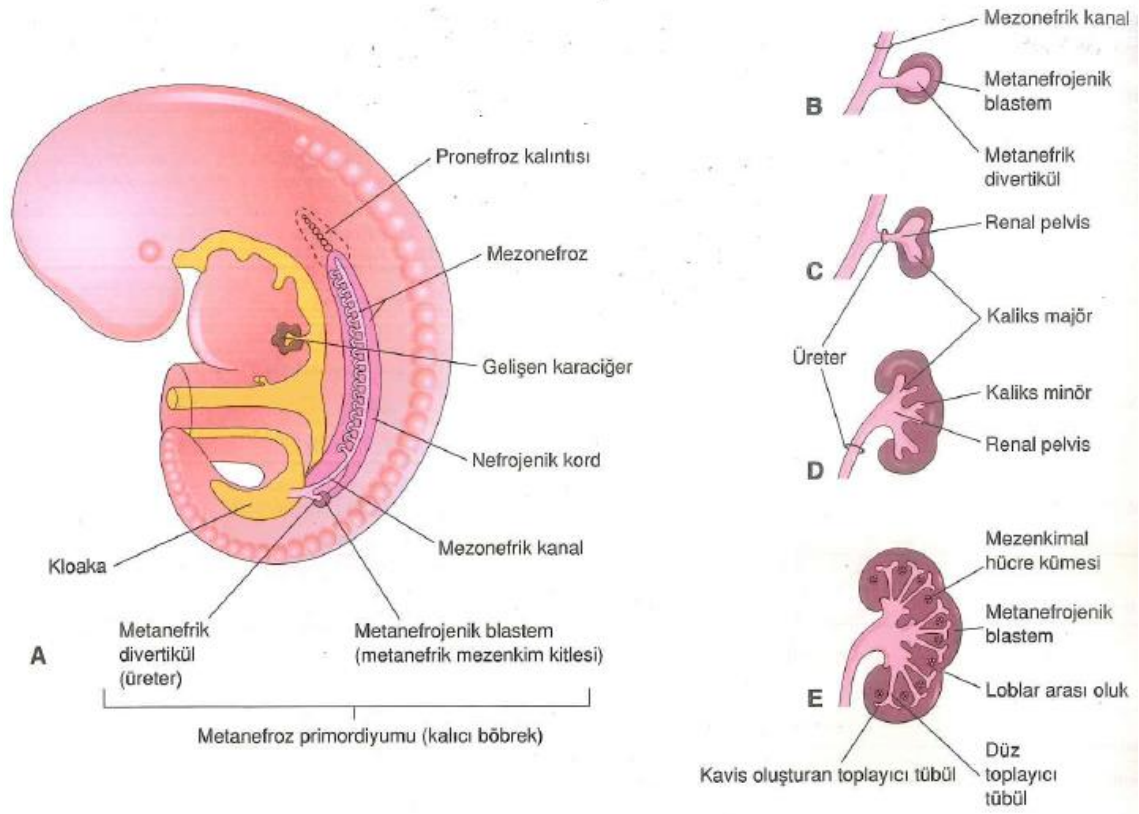
Böbrekler embriyonal dönemin 4. haftasından itibaren gelişmeye başlamaktadır. Böbrek gelişiminde üç tip böbrek sistemi görülmektedir (Şekil 4). İlk oluşan böbrek sistemi pronefrozlardır. Pronefrozlar, embriyonun boyun bölgesindeki az miktarda hücre topluluğu ve tübüler yapılarla karakterizedir. Pronefrik kanal, kaudalde uzanarak kloaka'ya açılmaktadır. Kısa sürede dejenerasyona uğramaktadırlar. Dejenere olurken pronefrik kanalın büyük bir kısmı kalır ve bir sonraki böbrek sistemi olan mezonefrozlar buradan gelişmektedir. Embriyonal gelişimin dördüncü haftasının sonuna doğru oluşan mezonefrozlar daha iyi gelişmiştir ve kalıcı böbrekler oluşuncaya kadar, ara böbrekler (interim) olarak işlev görmektedirler. Mezonefrik böbrekler glomerüller ve tübüllerden oluşmaktadırlar. Mezonefrik tübüller, pronefrik kanaldan köken alan mezonefrik kanala; mezonefrik kanallar da kloaka'ya açılmaktadırlar. Mezonefrozlar, birinci trimesterin bitimine doğru dejenerasyona uğramaktadırlar. Dejenere olurken mezonefrik tübüller, erkeklerde testisin efferent duktulilerine dönüşmektedirler (Moore vd 2016).





Şekil 4: (A) 5 haftalık embriyoda erken mezonefroz ve metanefroz primordiyumu, (B) Mezonefrik tübüllerin geliştiği nefrojenik kordonlar, (C)'den (F)'ye kadar, 5.-11. haftalar arasında mezonefrik tübüllerinin gelişim aşamaları gösterilmektedir (Moore vd 2016).

Mezonefrozlardan sonra da üçüncü tip böbrek sistemi olan metanefrozlar oluşmaktadır. Metanefrozlar embriyonal gelişimin beşinci haftasında gelişmeye başlamakta yaklaşık 4 hafta sonra da işlevsel hale gelmektedirler. Kalıcı böbrekler (metanefrozlar), üreterik tomurcuk (metanefrik divertikül) ve metanefrojenik blastem'den (mezenkimin metanefrik kitlesi) köken almaktadırlar. Üreterik tomurcuk uzayarak mezenkim kitlesi olan metanefrojenik blastem içerisine nüfuz etmektedir. Üreterik tomurcuğun sap kısmı üretere dönüşürken, baş kısmı mezonefrozun toplayıcı tübüllerini oluşturmaktadır. İlk oluşan dört toplayıcı tübül genişleyip birleşerek kaliks majörleri; ikinci oluşan dört toplayıcı tübül de kaliks minörleri oluşturmaktadır. Her bir toplayıcı tübülün son kısmı mezenkimal hücre topluluğunu uyararak metanefrik veziküllerin oluşumuna sebep olmaktadır. Bu metanefrik veziküller de uzayarak metanefrik tübüllerini oluşturmaktadırlar (Şekil 4 ve Şekil 5) (Moore vd 2016).



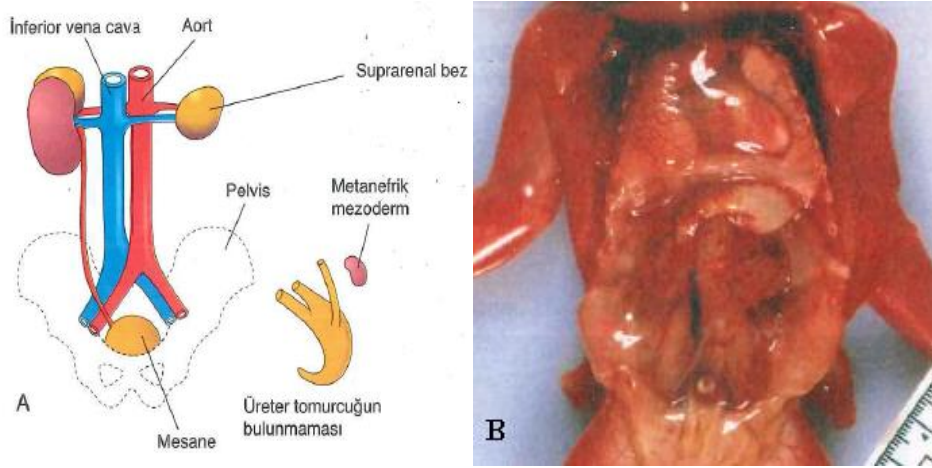
Şekil 5: Metanefroz gelişimi. (A) 5 haftalık embriyoda metanefroz primordiyumu, (B)'den (E)'ye kadar olan çizimler ise üreterik tomurcuğun gelişim basamaklarını göstermektedir (Moore vd 2016).

Böbrek tübüllerinin proksimal uçlarında glomerüller gelişmektedir. Tübüller değişime uğrayarak proksimal ve distal kıvrıntılı tübüllerle Henle kulpu'nu oluşturmaktadırlar. Glomerulus ve dışındaki kapsülü ile nefronu meydana getirmektedirler. Gebeliğin 10-18. haftaları arasında glomerüllerin sayıları artarak 32. haftada sayıca maksimum değere ulaşmaktadır. Bu sırada da nefron oluşumu tamamlanmaktadır. Her böbrek yaklaşık olarak 2 milyon kadar nefron barındırmaktadır (Moore vd 2016).

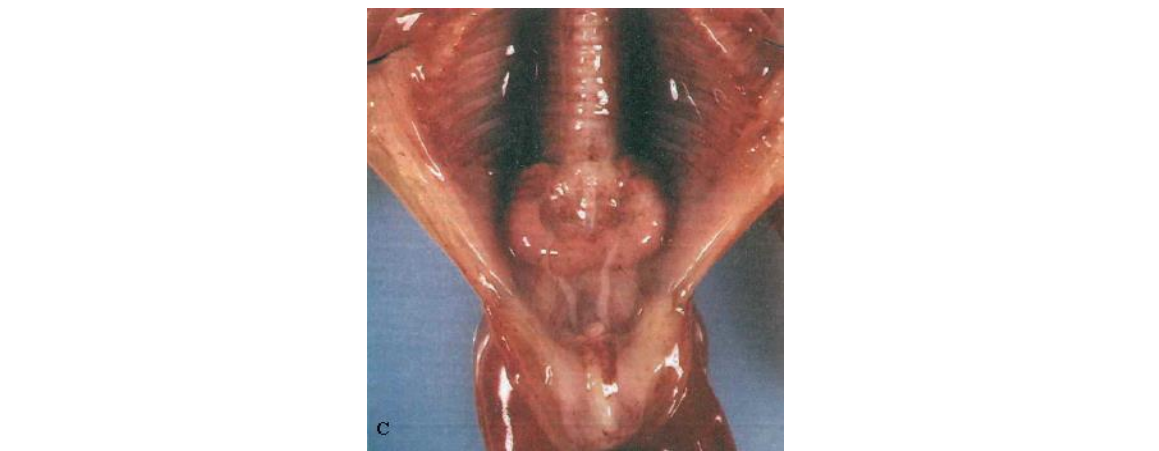
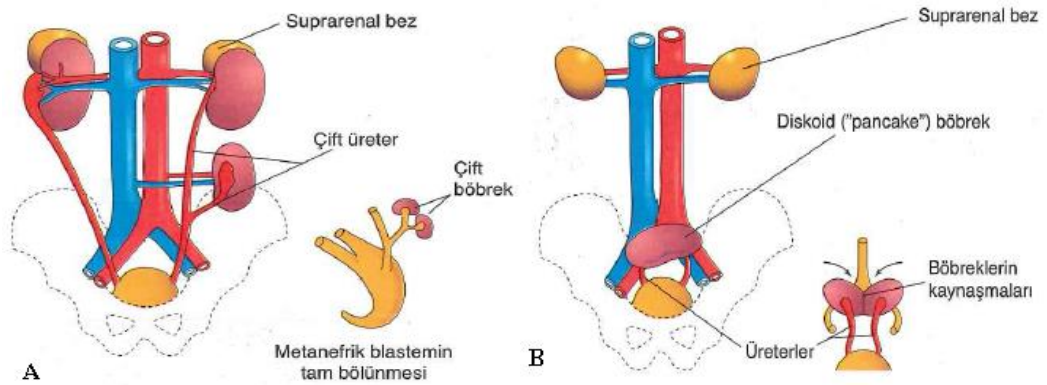
2.2.1. Böbreklerin Konjenital Anomalileri

Böbreklerde en sık rastlanan anomaliler, şekillerinde ve pozisyonlarında ortaya çıkmaktadır. Bu anomaliler arasında böbreklerin oluşmaması (renal agenezis), böbreklerde rotasyon bozukluğu, ektopik böbrekler, atnalı şekilli böbrek yaygın olarak görülen anomalilerdendir. Tek taraflı (unilateral) renal agenezis, yaklaşık olarak her 1000 yenidoğandan birisinde görülmektedir. Tek taraflı böbrek yokluğu genellikle herhangi bir semptomu neden olmamaktadır. Çift taraflı (bilateral) renal agenezis 3000 doğumda bir görülmektedir (Şekil 6). Amniyon kesesine çok az ya da hiç idrar verilmediği için oligohidroamniyoz sonucu ortaya çıkmaktadır (Moore vd 2016).

Ektopik böbrek anomalisinde böbreklerden birisi veya ikisi anormal yerleşimlidir. Bu anomali de genelde böbreklerin çoğunluğu pelviste yerleşmektedir. Böbreklerin anormal rotasyonu genellikle ektopik yerleşimli böbreklerle ortaya çıkmaktadır. Bir diğer böbrek anomalisi olan atnalı şekilli böbrekte ise böbreklerin kutupları inferior kutupta birleşip genişleyerek U şeklini almaktadır (Şekil 7) (Moore vd 2016).



Şekil 6: (A) Tek taraflı (unilateral) renal agenezis, (B) 19,5 haftalık erkek fetusta çift taraflı (bilateral) renal agenezis gösterilmektedir (Moore vd 2016).



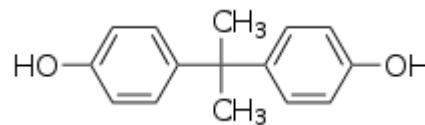
Şekil 7: (A) Sağ tarafta böbreğin malrotasyonu, sol tarafta fazladan böbrek gözlenmektedir. (B) Böbrekler birbiriyle kaynaşarak diskoid böbrek oluşuma sebep olmaktadır. (C)'de ise 13 haftalık dişi fetustaki atnalı şekilli böbrek gösterilmektedir (Moore vd 2016).

2.3. Bisfenol-A (BPA)

BPA, 2,2-bis(4-hidroksifenil) propan formülüne sahip epoksi reçine yapımında ve polimer olmayan diğer plastiklerde katkı maddesi olarak kullanılan dünya genelinde en yaygın üretime sahip östrojenik aktiviteye sahip sentetik bir bileşiktir. BPA ilk olarak A. P. Dianin tarafından 1891 yılında sentezlenmiş olup 1930'lu yıllarda sentetik östrojen eldesi için yapılan çalışmalarda detaylıca araştırılmıştır. Bu çalışmalar sırasında BPA ya yapısal olarak benzeyen dietilstilbestrol (DES)'ün östrojenik etkisinin BPA'dan daha fazla olduğu tespit edilince BPA'nın farmasötiksel alanlarda kullanımına son verilmiş, onun yerine plastik yapımında kullanılabileceği fikri öne sürülmüştür. 1940'lı yıllarda reçine yapımında kullanılmasına başlanmıştır. 1957'de ilk ticari üretimi Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılmış, daha sonra BPA kullanımı hızla yükselişe geçerek dünyada en çok kullanılan ticari ürün haline getirmiştir. Yüksek sıcaklık, alkali veya asidik koşullara maruz kalma gibi zorlu durumlar BPA'nın hidrolizine sebep olarak BPA monomerlerinin, polikarbonat (PC) plastiklerden atmosfere salınmasına, bunun sonucunda da ekosisteme yayılarak kontamine gıda, su, soluma ve cilt teması yoluyla insan maruziyetine neden olmaktadır (Yuan vd 2019). Bundan dolayı da BPA maruziyeti kaçınılmaz bir hal almaktadır (Ayazgök ve Küçükkelinç 2017, Wang vd 2018, Esplugas vd 2018).

2.3.1. Bisfenol-A'nın Kimyasal Yapısı ve Referans Dozu

BPA ($C_{15}H_{16}O_2$), iki fenol çekirdeği ile bir hidrokarbon köprüsünün bağlanması sonucu oluşmuş bir bileşiktir (Şekil 8). BPA'nın erime noktası $158^{\circ}C$, kaynama noktası $360^{\circ}C$, molar kütlesi 228,29 g/mol, IUPAC numarası 4,4'-(propane-2,2-diyl) diphenol'dür. BPA, sadece eter ve alkol gibi polar ortamlarda çözünebilmekte suda çözünememektedir (Ova vd 2005). BPA oral yoldan vücuda alındıktan sonra, bağırsaklardan hızlı bir şekilde emilmektedir. Glomerüler filtrasyon hızının düşük olduğu durumlarda BPA vücutta birikmektedir. Vücutta biriken BPA, ilk karaciğerde eliminasyona uğrayarak glukuronik asit ile konjuge edilmekte ve böbrekler tarafından idrar ile vücuttan atılmaktadır (Yaprak vd 2016, Ola-Davies ve Olukole 2018, Poormoosavi vd 2018).



Şekil 8: Bisfenol-A'nın yapısal formülü gösterilmektedir (Ova vd 2005).

1997 yılı öncesinde BPA'nın risk düzeyinin belirlenmesi amacıyla yapılmış çalışmalarda en düşük değer (LOAEL) olarak 50 mg/kg/gün kabul edilmekteydi. 2001 yılında Amerika Ulusal Toksikoloji Programı tarafından düşük dozdaki endokrin bozucu kimyasallar (EDC) ile ilgili yayınlanan raporda Çevre Koruma Ajansı (EPA) tarafından öncesinde belirlenmiş 50 µg/kg/gün referans dozun altında da BPA'nın zararlı etkilere sebep olduğuna dikkat çekilmiştir. 2009'da Ulusal Çevresel Sağlık Bilimleri Enstitüsü (NIEHS) tarafından BPA'nın toksisitesi belirlemek amacıyla bir çalışma başlatmıştır. Bu çalışma da in-vitro ve in-vivo BPA toksisitesi 100 çalışmada ele alınıp incelenmiştir. BPA için düşük doz 10^{-7} M olarak belirlenmiştir. Ele alınan 105 in-vivo çalışmada ise EPA tarafından belirlenen referans doz olan 50 µg/kg ile daha düşük derişimde BPA incelenmiş ve 5 µg/kg'dan daha da düşük derişimde BPA'nın in-vivo etkinliği olduğunu belirlemişlerdir (Ayazgök ve Küçükkılınç 2017).

2.3.2. Bisfenol-A'nın Kullanım Alanları

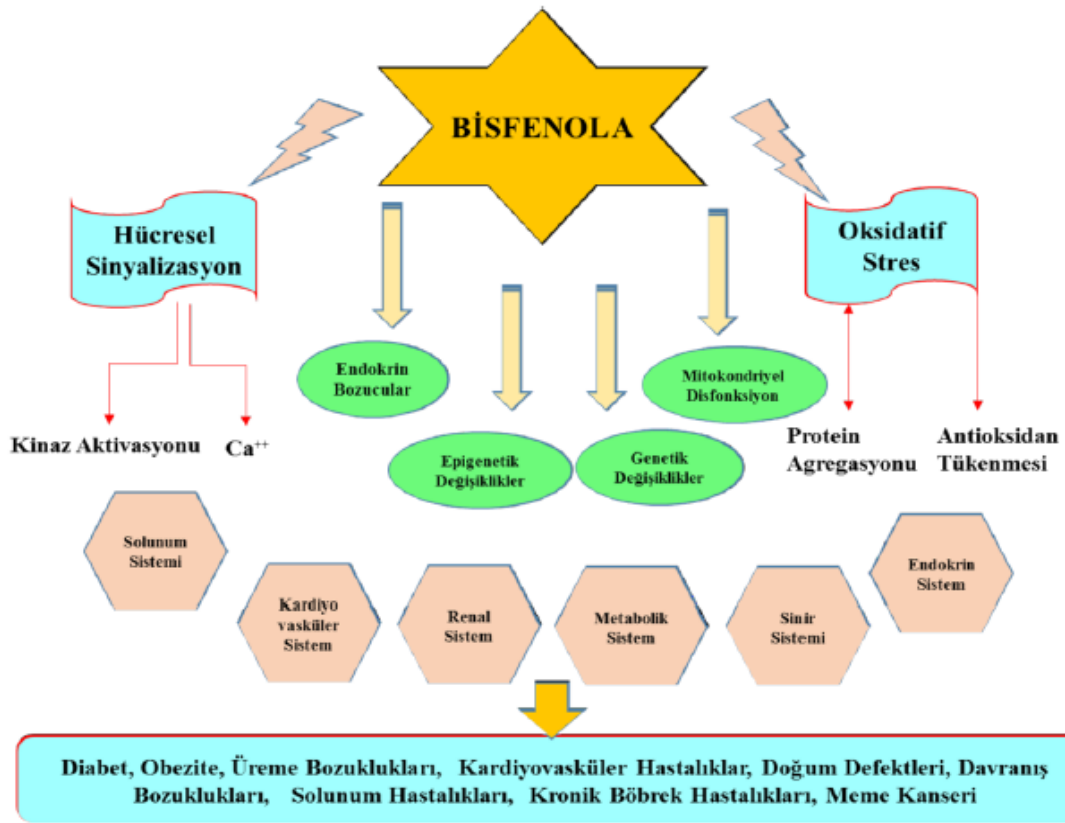
BPA, günümüzde yaygın üretim ve kullanım alanına sahip, birçok alanda karşımıza çıkan ve sık sık doğrudan ya da dolaylı olarak maruz kaldığımız sentetik bir bileşendir. Günümüzde BPA geri dönüşümü yapılan şişeler, gözlük camı, diyaliz setleri, branüller ve serum setleri gibi tıbbi malzemeler, su şişesi, gıda ambalajları, elektrik ve elektronik malzemeleri, yapı malzemeleri gibi birçok araç gereçte ve epoksi reçinelerle kaplı teneke kaplar, boya ve dolgu malzemeleri, sanayi malzemeleri, polikarbonat kutular başlıca kullanım alanlarıdır (Ova vd 2005, Yaprak vd 2016). İnsan amniyotik sıvısı, kan, anne sütü, plasenta, ter, idrar gibi vücut sıvılarında da BPA'ya rastlanılmaktadır (Yuan vd 2019).

Polikarbonat kutulardaki içerisine BPA sızmış olan yiyecek ve içecekleri tüketerek, doğadaki su kaynaklarından, havadan, tozlardan, termal kâğıt ve diğer kâğıt türlerinden, kozmetik sektöründen, dental malzeme, tıbbi cihazlar ve diğer sağlık uygulamaları gibi birçok alanda BPA'ya maruz kalınmaktadır. Yapılan araştırmalarda, sıcaklık artışının epoksi reçinelerden BPA salınımını artırdığı tespit edilmiştir. Michalowicz 2014 yılında yapmış olduğu çalışmada, pastörizasyon işlemi sırasında besinlerin konulduğu kutuların yüksek sıcaklığa bağlı olarak polimerlerden 18 kat daha hızlı BPA salınımına sebep olduğunu; pastörize edilmeyen aynı ambalajla paketlenmiş besinlere BPA sızıntısının çok daha az miktarda olduğu da aynı çalışmada göstermiştir (Michalowicz 2014, Ayazgök ve Küçükkılınç 2017).

2.3.3. Bisfenol-A'nın Sistemik Etkileri

BPA, östrojenik aktiviteye sahip bir kimyasal olduğu için gelişmekte olan organlar bu kimyasalın sebep olduğu anormal endokrin sinyallerine karşı hassasiyet göstermektedir. Bu yüzden BPA özellikle prenatal dönemde gelişmekte olan organlar üzerinde etkisi bulunmaktadır (Şekil 9). En yüksek BPA konsantrasyonuna (1-104 ng / g doku) plasenta ve fetüste rastlanmaktadır (Poormoosavi vd 2018). BPA'nın, düşük derişimlerde bile çekirdek reseptörlerine bağlanarak hücre ve dokuların fizyolojik işlevlerine etki ettiği yapılan çalışmalarla ortaya konulmaktadır. BPA'nın tiroid hormon reseptörleri, androjen reseptörleri, peroksizom proliferatör aktif reseptörleri, diğer endokrin sistem reseptörleriyle de etkileşim halinde olduğu; merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, boşaltım sistemi ve immün sistem üzerinde de BPA maruziyetinin olumsuz etkilerinin olduğu bilinmektedir. Bunun yanında Bisfenol-A maruziyetinin karaciğerin endojen kanabinoid sisteminde (ECS) değişikliklere sebep olduğu, sperm kalitesi ve miktar indekslerinin azalmasına, nöroendokrin bozulmalara, doğum defektleri ile meme kanseri gibi rahatsızlıklara yol açabildiği bildirilmektedir (Yuan vd 2019).

BPA'nın olumsuz birçok etkisi sebebiyle kullanımına dair sınırlandırma ve yasaklama getirilmesi konusu, bilim dünyası ve sağlık otoriteleri tarafından ele alınmış, Ulusal Toksikoloji Programı (NTP) 2008'de yayınladığı raporunda fetüs, yetişkin ve çocuklardaki günlük BPA maruziyetinin beyin, davranış ve üremedeki etkilerine dair endişelerini kamuoyuyla paylaşmıştır. 2010'da Amerika Birleşik Devletleri Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) de NTP ile aynı endişeleri paylaştığını bildirmiştir. Ülkemizde de Avrupa Komisyonu'nun beslenme araç gereçleri üretimindeki BPA kullanımını sınırlandırma kararına paralel olarak Tarım ve Köyişleri Bakanlığı tarafından 2011 Haziran ayında BPA içerikli biberonlar ve diğer beslenme gereçleri toplatılmıştır (Rezg vd 2014, Ayazgök ve Küçükkılınç 2017, Esplugas vd 2018).



Şekil 9: Bisfenol-A'nın kronik hastalıklar üzerine etkileri gösterilmektedir (Rezg vd 2014).

Endokrin bozuculardan Bisfenol-A'nın, insan vücudunda sentezlenen östradiol, androjen ve tiroid hormonlarını taklit ederek östrojenik etkiyle birlikte östrojen reseptörlerinden ER α ile etkileşim halinde olduğu ve HepG2 hepatoma hücre hattında östrojenik aktivite gösterdiği bunun sonucunda da endokrin fonksiyonları bozup fertilitede azalmaya, üreme kanalında konjenital malformasyona sebep olduğu, östrojenle etkileşim halinde olan dokularda kanser riskini arttırdığı, kardiyorenal sistem üzerinde toksik etkisinin olduğu, redoks enzimlerinin aktivitelerini etkileyerek gen ekspresyonunu değiştirebildiği, hipotansiyonun yanı sıra kardiyak ve renal dokuların yapısındaki değişikliklere ve oksidatif strese sebep olduğu bilinmektedir (Kovacic 2010, Ayazgök ve Küçükılınç 2017, Ola-Davies ve Olukole 2018).

Embriyonik / fetal dönemde ve bebeklik döneminde BPA maruziyetinde, dokuda meydana gelen oksidatif stres ve lipid peroksidasyonu sonucunda üreme sistemi başta olmak üzere bazı organlarda gelişim geriliğine yol açmaktadır. Annenin BPA'ya maruz kalması sonucu fetüsün, bu kimyasal bileşeni metabolize etme kapasitesinin sınırlı olduğu ve önemli komplikasyonlara sebep olduğu; ayrıca BPA'nın yetişkinlerde ve çocuklarda proteinüri ile ilişkili olduğuna dair kanıtlar bulunmaktadır (Rezg vd 2014, Trasande vd 2013, Poormoosavi vd 2018). BPA'nın sebep olduğu hasarın oksidatif stres (OS) ile de ilişkili olduğu; mitokondriyal aktivite, antioksidan enzimlerin modülasyonu ve

tiyobarbitürük asit- reaktif maddelerin artışı da dahil olmak üzere direkt ya da indirekt olarak oksidatif dengeyi bozabildiği düşünülmektedir (Esplugas vd 2018). Kovacic yapmış olduğu çalışmada farelerde BPA uygulamasının, reaktif oksijen türleri (ROS)-oksidatif stres (OS) için bir belirteç olarak kabul edilen tiyobarbitürük asitle reaktif maddelerin miktarını artırdığını; embriyonik / fetal yaşam boyunca ve bebeklik döneminde maruziyetin, doku OS ve peroksidasyonunu indükleyerek beyin, böbrek ve testiste gelişim geriliğine sebep olduğunu; sıçanlarda ise süperoksit dismutaz, katalaz, glutasyon (GSH) redüktaz ve GSH peroksidaz aktivitelerini azaltırken, hidrojen peroksit ve lipid peroksidasyon seviyelerinde artışa sebep olduğunu tespit ederek Esplugas ve arkadaşlarının öne sürdüğü hipotezi desteklemektedir (Kovacic 2010) .

Le Magueresse-Battistoni vd (2018) BPA'ya gebelik döneminde maruz kalmanın sadece bebeklerin değil aynı zamanda annenin de glikoz metabolizmasını etkilediğini; Whitehead vd (2016) annenin BPA'ya maruz kalması sonucunda fetal farelerde pankreatik adacık morfolojisinin ve adacık hücrelerinin kompozisyonunu bozduğunu; Yuan vd (2019) Marc-145 hücreleri üzerinde yapmış oldukları çalışmada BPA'nın hücre canlılığını azalttığını, apoptozu indüklediğini, oksidatif stres ve DNA hasarına neden olduğunu tespit etmişlerdir (Whitehead vd 2016, Le Magueresse-Battistoni vd 2018, Yuan vd 2019).

BPA'ya erken yaşamda maruz kalma, bağışıklık hücrelerinin gelişim ve olgunlaşmasını değiştirebilmekte bunun sonucunda konak savunması ve bağışıklık düzenleyici mekanizmalar yaşamın ilerleyen dönemlerinde bozulabilmektedir. BPA'ya erken yaşta maruz kalmanın diğer olası sonuçları arasında, lökositlerin değişen fonksiyonel kapasitesi ile hücreden hücreye iletişim yollarındaki değişiklikler sayılabilmektedir. Bağışıklık sisteminin, istilacı patojenleri ile kanser hücrelerini bulup ortadan kaldırmayı amaçlayan kompleks bir ağı kapsadığı göz önüne alındığında, küçük bir bozulma bile enfeksiyona karşı direnci ve immünolojik belleğin etkinliğini azaltmakta veya tümör denetim mekanizmalarını bozabilmektedir. Roy vd (2012) BPA maruziyetinin bağışıklık sistemi üzerine etkisini araştırmak için yaptıkları çalışmada düşük dozlarda BPA'ya gelişimsel maruz kalmanın, influenza A virüsü enfeksiyonuna karşı bağışıklık tepkisi üzerinde çok fazla etkisinin olmadığını aynı zamanda enfekte olmuş konağın virüsü başarılı bir şekilde temizleme yeteneğini riske atmadığını tespit etmişlerdir (Roy vd 2012).

2.4. Oksidatif stres

Prooksidan-antioksidan dengesinin bozulması sonucu hücrel hasarların ortaya çıkması durumu oksidatif stres olarak adlandırılmaktadır. Oksidatif stres, serbest radikal üretiminin artışı ve antioksidan savunmanın azalması sonucu ortaya çıkabilmektedir. Vücut oksidatif stres altındayken, reaktif oksijen türleri (ROS) ve reaktif nitrojen türleri (RNS) artmaktadır. ROS hücrelerdeki membran lipidleri, protein, DNA gibi biyomoleküllere saldırarak vücudun serbest radikalleri temizleme kabiliyetini kaybetmesine sebep olmakta; bunun sonucunda da DNA oksidatif hasarına ve anormal protein ekspresyonuna yol açmaktadır. Canlı sistemlerde ROS üretildiğinde, oksidatif stresin olumsuz etkilerini azaltmak için birçok antioksidan görev almaktadır. Antioksidanlar, kendi elektronlarından birini vererek ROS'u nötralize ederek hücre ve doku hasarını önlemeye yardımcı olarak temizleyici görevi görmektedirler (Korkmaz vd 2009, Jiang vd 2020).

Oksidatif stres sonucunda hücre içi lipit, protein, DNA gibi makromoleküllerin hasar görmesinden dolayı da hücre ölümü meydana gelmektedir. Oksidatif stres, genelde lipit peroksidasyonu son ürünü olan MDA (malondialdehit); oksidatif DNA hasar göstergesi olan 8-hidroksi-2'-deoksiguanozin (8-OHdG); protein oksidasyonu; glutatyon-S-transferaz (GST), glutatyon redüktaz (GR) gibi antioksidan enzimler; alfa-tokoferol, askorbik asit, glutatyon, ubikinon, sistein gibi antioksidanların ölçümü ile belirlenmektedir. Oksidatif stres durumunu değerlendirilmesinde kullanılan yöntemler Tablo 1'de gösterilmektedir (Özcan vd 2015, Eken 2016).

Tablo 1: Oksidatif stres biyobelirteçleri tabloda gösterilmektedir (Eken 2016).

	Parametreler
1. Radikallerin ölçümü	Elektron paramagnetik rezonans spektroskopisi (EPR)
2. Oksidatif hasar biyobelirteçlerinin ölçümü	a) Lipit peroksidasyon ürünlerinin belirlenmesi Malondialdehit (MDA) Aldehitler b) Protein hasarının belirlenmesi c) DNA hasarının belirlenmesi 8- hidroksi-2'-guanozin (8-OHdG)
3. Antioksidan savunma sisteminin ölçümü	a) Antioksidan enzimlerin değerlendirilmesi Süperoksit dismutaz (SOD) Glutatyon peroksidaz (GPx) Katalaz (CAT) Glutatyon-S-Transferaz (GST) Glutatyon redüktaz (GR) b) Total antioksidan aktivitenin belirlenmesi c) Düşük molekül ağırlıklı antioksidanların ölçümü (LMWA) Alfa-tokoferol Askorbik asit Glutatyon Melatonin
4. Enzim kofaktörlerinin ölçümü	Cu, Zn, Mn, Se, Fe elementleri

Gassman 2017 yılında yaptığı BPA ile ilgili çalışmada mevcut BPA literatür taramalarında çeşitli BPA dozlarının ROS oluşumunu desteklediğine, antioksidan dengeyi değiştirdiğine, mitokondriyal disfonksiyonu indüklediğine ve oksidatif stresle ilgili bir dizi hücre sinyal yolağındaki değişikliklere yol açtığına bunların sonucunda da BPA'nın oksidatif stres indüksiyonunu, hastalık gelişimini, üreme toksikolojisini ve kanseri etkileyebilecek bir dizi pleiotropik etki üretebileceğini belirtmektedir (Gassman 2017).

2.4.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, bir veya birden fazla eşleşmemiş elektron bulunduran moleküller olarak tanımlanmaktadır. Bu moleküller, ortaklanmamış elektron barındırmalarından dolayı reaktiviteleri oldukça yüksektir. Reaktiviteleri yüksek olduğu için diğer moleküllerden elektron yakalamaya çalışırlar. Serbest radikaller birden fazla biyomolekülle kolayca reaksiyona girerek bir zincir reaksiyonu başlatabilme yeteneğine sahiptirler. Yarılanma ömürleri oldukça kısadır. Süperoksit radikalleri, hidroksil, peroksil, azot oksit, azot trioksit, alkoksil bedende sıklıkla rastlanılan serbest radikallerdir. Biyolojik sistemlerde yer alan serbest radikaller içerisinde en önemli olanları, oksijen içeren radikallerdir (Civan 2009, Karakan ve Nazlıkul 2017).

Reaktif oksijen türleri (Reactive oxygen species, ROS), normal hücre fonksiyonları sırasında aerobik organizmalar tarafından oluşturulmaktadır. ROS, ekstraselüler matriks proteinlerinin sentezinin artmasına, tübüler hücre fonksiyonunun kaybına ve fibroblastlara doğru fenotipik transformasyona neden olur. ROS, nefronun bileşenlerini doğrudan etkiler, podositlerin otofajisine ve renal tübüler epitel hücrelerinin apoptozisi ile nekrozuna sebep olmaktadır. Ayrıca oksidatif stresin artmasıyla birlikte ROS böbrekte parankim fibrozuna, böbrek kan akımının bozulmasına neden olmakta ve renal tübüllerde iyon kanallarıyla taşınımı olumsuz etkilemektedir. Kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, stres, mutasyon, karsinogenez, nörodejeneratif hastalıklar gibi birçok biyolojik olaylarda ROS'un etkin rol oynadığı bilinmektedir. Bazı hormonlar, sitokinler, büyüme faktörleri ve nörotransmitter maddeler intrasellüler sinyal üretiminde ikinci haberci olarak reaktif oksijen türlerini kullanmaktadırlar (Civan 2009, Podkowińska ve Formanowicz 2020).

Başlıca reaktif oksijen türleri süperoksit radikali ($O_2^{\cdot-}$), hidroksil radikali ($OH\cdot$) ve hidrojen peroksit (H_2O_2)'dir. Süperoksit radikalleri ($O_2^{\cdot-}$), oksijenli solunum yapan hücrelerde moleküler oksijenin (O_2) bir elektron alarak indirgenmesi sonucunda oluşmaktadır. Hidrojen peroksit (H_2O_2) süperoksit radikalinden farklı olarak yağda

çözünebildiğinden oluştuğu yerden uzakta olan ve Fe^{2+} içeren hücre membranlarında hasar oluşturabilmekte ve serbest radikal oluşumunda önemli rol oynamaktadır. Hidroksil radikalleri ($OH\cdot$) ise oldukça reaktif radikallerdir, yarılanma ömrü oldukça kısadır ve ROS'ların en güçlü olanıdır. Oluştugu yerde tiyoller ve yağ asitleri gibi çeşitli moleküllerden bir proton kopararak yeni radikaller meydana getirerek hücrede hasara sebep olmaktadır (Tablo 2) (Özcan vd 2015).

Tablo 2: ROS molekülleri ve metabolizmaları tabloda gösterilmektedir (Civan 2009).

ROS molekülü	Ana kaynak	Enzimatik savunma Sistemleri	Ürün(ler)
Süperoksit (O_2^-)	Elektron transport zincirinden elektron sızıntısı, aktive fagositler, Ksantin oksidaz, Flavoenzimler	SOD, Süperoksit redüktaz (bazı bakterilerde)	$H_2O_2+O_2$ H_2O_2
Hidrojen peroksit(H_2O_2)	SOD yoluyla O_2^- 'den, NADPH, oksidazdan (nötrofiller), glikoz oksidaz, ksantin oksidaz	Glutasyon peroksidaz, Katalaz, Peroksiredoksinler	$H_2O+GSSH$ H_2O+O_2 H_2O
Hidroksil radikali (OH)	Metaller vasıtasıyla (Fe veya Cu) O_2^- ve H_2O_2 'den		
Nitrik oksit (NO)	Nitrik oksit sentaz'dan	Glutasyon/PrxR	GSNO

2.4.2. Antioksidanlar

Hücre ve dokularda ROS kaynaklı hasarları, oksidatif stresi, aşırı ROS üretimini engelleyerek savunma mekanizmasında görev alan moleküller antioksidan olarak adlandırılmaktadır. Antioksidanlar ortamdaki oksijeni, katalitik metal iyonlarını uzaklaştırarak; serbest radikal hasarına sebep olan zincirleme reaksiyonların başlamasını engelleyerek hücresel hasarın önlenmesini sağlamaktadırlar. Endojen ve eksojen antioksidan olmak üzere iki tip antioksidan mevcuttur. Eksojen antioksidanlara örnek olarak askorbik asit, B-karoten ve E vitamini; endojen antioksidanlara da albümin, glikoz, melatonin gibi enzim olmayan bileşikler ile süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT), glutasyon peroksidaz (GPx) gibi enzimler verilebilmektedir (Özcan vd 2015, Meli vd 2020).

2.5. Hipotezler

1. 5 hafta boyunca haftada 5 gün 25 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün olmak üzere iki farklı doz Bisfenol-A'ya maruz bırakılan anne sıçanların yavrularında BPA reaktif oksijen türlerinin oluşumunu indükleyerek böbrek dokusunda oksidatif hasara sebep olur.
2. BPA, böbreklerde toksik metabolitlerin eliminasyonunu etkileyerek serum kreatinin düzeyinde artışa sebep olur.
3. BPA, üre ve protein seviyesinde artışa neden olur.

3. GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışmada toplam 13 adet erişkin (8-10 haftalık), 250-300 gram Wistar Albino dişi sıçan kullanıldı. Sıçanlar Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Merkezinden temin edildi. Bu çalışmada yer alan tüm işlemler Uluslararası Hayvan Hakları Evrensel Beyannamesine uygun olarak, Pamukkale Üniversitesi Deney Hayvanları Başkanlığı'nın 09.10.2019 tarihli ve 2019/07 (60758568-020/72039) sayılı Etik Kurul onayı ile gerçekleştirildi.

Uyum dönemi için sıçanlar bir hafta 12 saat aydınlık /12 saat karanlık periyotta normal beslenme şartlarında tutuldu. Nem, ortalama %45-55 seviyelerinde, sıcaklık ortalama 20 derecede laboratuvar koşullarına uygun şekilde tutuldu. Sıçanların beslenmesinde sıçan pellet yemi kullanılmıştır. İçme suyu olarak musluk suyu verilmiştir. Bir hafta sonra her bir kafeste östrus siklusunda olduğu tespit edilen üç dişi ile bir erkek sıçan olmak üzere bir gece aynı kafese konularak ertesi gün vaginal smearde sperm görülenler gebe kabul edildi ve ayrıldı. Vaginal smearde sperm görülmesine rağmen bazı hayvanlarda gebelik görülmemektedir. Bu nedenle bir hafta sonra dişi sıçanların incelenmesi ile gebe olduğu tespit edilenler başka bir kafese alındı ve doğum zamanına kadar normal yem ve su ile beslendiler.

Çalışmada gebe sıçanlar rasgele kontrol (n:3), 25 mg (n:5) ve 50 mg BPA grubu (n:5) olmak üzere üç ayrı gruba ayrıldı. Gruplardaki sıçanların kuyrukları numaralandırılarak etiketlendi. Her sıçanın ağırlığı ölçülerek kaydedildi. Sıçanların ağırlıklarına göre uygulanacak olan ilaç dozu hesaplandı. Hesaplanan doza göre her sıçan için uygulanacak olan ilaç hazırlandı. Gebeliğin 6. gününden itibaren kontrol grubundaki (grup 1) anne sıçanlara 1 ml/kg/gün mısır yağı intraperitoneal yolla, kontrol grubu dışındaki anne sıçanlara doğum sonrası laktasyon döneminde 21. güne kadar 25 mg/kg/gün (Grup 2) ve 50 mg/kg/gün (Grup 3) BPA verildi.

Gebe olduğu tespit edilen kontrol grubu için ayrılan anne sıçanlara 1 ml/kg/gün mısır yağı intraperitoneal (ip) olarak verildi.

Gebe olduğu tespit edilen Grup 2 için ayrılan anne sıçanlara 25 mg/kg/gün BPA intraperitoneal olarak verildi.

Gebe olduğu tespit edilen Grup 3 için ayrılan anne sıçanlara 50 mg/kg/gün BPA intraperitoneal olarak verildi.

Doğum sonrası laktasyondan kesilen yenidoğan sıçanlardan dişi erkek tespiti yapıp her anneden üçer tane olmak üzere, her grup için 15 erkek yavru seçildi. Deney gruplarına göre 21. günde bir kısmı da 45. günde Xylazine hidroklorür 10 mg/kg-Ketamin

hidroklorür 90 mg/kg ip verilerek anestezi altına alındı. Anestezi altındaki deneklerin batin ön duvarı insizyonla açılıp diyafragmadan kalbe ulaşıldı ve intrakardiyak kanları toplandı. Patolojik inceleme için böbrek dokuları alındı. Alınan kalp kanından, üre, toplam protein, kreatinin, TAS (Total Antioksidan Seviyeleri), TOS (Total Oksidan Seviyeleri), MDA (Malondialdehit) değerlerine bakıldı. Deneklerden alınan böbrek dokuları %0,9'luk soğuk serum fizyolojik ile yıkandı. Dokular, hangi gruba ait olduğunu gösteren etiketli, %10'luk nötral formalin solüsyonu bulunan kaplarda tespit edildi. Kesitlerin boyanmasında en sık kullanılan metotlardan birisi olan Hematoksilen-Eozin (H&E) boyama metodu ve böbrek toksisitesinde fibröz dokular oluşabildiği için deney ve kontrol gruplarında oluşan fibröz doku farkını göstermek için Masson-Trikrom boyama metodu kullanıldı. Dokular mikroskopta incelenerek hasar alanlarının hangi deney gruplarında oluştuğu tespit edildi.

3.1. Doku Takibi

- a) 72 saat formaldehitte bekletilen dokular çıkarıldı ve akan su altında 30 dakika yıkandı.
- b) %70'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- c) %80'lik etil alkolde 1 saat bekletildi.
- d) %90'lık etil alkolde 1 saat bekletildi.
- e) %96'lık etil alkolde 1 saat bekletildi.
- f) Absolu alkolde 1 saat bekletildi.
- g) Absolu alkolde 1 saat bekletildi.
- h) Ksilen I'de 1 saat bekletildi.
- i) Ksilen II'de 1 saat bekletildi.
- j) Parafin I'de 1 saat bekletildi.
- k) Parafin II'de 1 gece bekletildi.
- l) Dokular parafine gömülerek ve etiketleme işlemleri yapıldı.

3.2. Hematoksilen & Eozin Boyama

- a) Her bloktan ardışık 2'şer tane olmak üzere 3 lama mikrotomla kesit alındı.
- b) Alınan kesitler etüvde bir gece bekletildi.
- c) Ksilen I'de 30 dakika bekletildi.
- d) Ksilen II'de 30 dakika bekletildi.
- e) Absolu alkolde 4 dakika bekletildi
- f) %96'lık etil alkolde 4 dakika bekletildi
- g) %90'lık etil alkolde 4 dakika bekletildi

- h) %80'lik etil alkolde 4 dakika bekletildi
- i) %70'lik etil alkolde 4 dakika bekletildi
- j) %50'lik etil alkolde 5 dakika bekletildi
- k) Distile suda 10 dakika bekletildi.
- l) Hematoksilen boyasında 4 dakika bekletildi.
- m) Akan suda 2 dakika yıkandı.
- n) Asit-alkol çözeltilisine daldır çıkart yapıldı.
- o) Akan suda 2 dakika yıkandı.
- p) Amonyak çözeltilisine daldır çıkart yapıldı.
- q) Eosin boyasında 3 dakika bekletildi.
- r) Çıkış alkol serilerinde 2'şer dakika bekletildi.
- s) Preparatlar kurutulduktan sonra ksilen I ve ksilen II'de 10'ar dakika bekletildi.
- t) Entellan yardımıyla lamelle kapatıldı.

3.3. Masson-Trikrom Boyama Yöntemi

Masson Trikrom boyama kitinin ürün bileşimi aşağıdaki gibidir.

Reagent A: Weigert Iron Hematoksilin A Solution

Reagent B: Weigert Iron Hematoksilin B Solution

Reagent C: Picric Acid Alcoholic Solution

Reagent D: Ponceau Acid Fuchsin Solution

Reagent E: Phosphomolybdic Acid Solution

Reagent F: Masson Aniline Blue Solution

- a) Her bloktan ardışık 2'şer tane olmak üzere 3 lama mikrotomla kesit alındı.
- b) Alınan kesitler etüvde bir gece bekletildi.
- c) Ksilen I'de 30 dakika bekletildi.
- d) Ksilen II'de 30 dakika bekletildi.
- e) Absolu alkolde 5 dakika bekletildi
- f) %96'lık etil alkolde 5 dakika bekletildi
- g) %90'lık etil alkolde 5 dakika bekletildi
- h) %80'lik etil alkolde 5 dakika bekletildi
- i) %70'lik etil alkolde 5 dakika bekletildi
- j) %50'lik etil alkolde 5 dakika bekletildi
- k) Distile suda 15 dakika bekletildi.

- l) Eşit miktarda Reagent A ve Reagent B solüsyonlarından karıştırılıp preparatların üzerine damlatılarak 10 dakika bekletildi.
- m) Preparatlar hızlıca distile sudan geçirildi.
- n) Preparatların üzerine Reagent C solüsyonundan damlatılarak 4 dakika bekletildi.
- o) Preparatlar distile sudan geçirildi.
- p) Reagent D solüsyonundan lamların üzerine damlatılarak 15 dakika bekletildi.
- q) Preparatlar distile sudan geçirildi.
- r) Reagent E solüsyonundan lamların üzerine damlatılarak 5 dakika bekletildi.
- s) Preparatların üzerindeki solüsyon yıkanmadan direkt olarak Reagent F solüsyonundan damlatılarak 8 dakika bekletildi.
- t) Preparatlar distile sudan geçirildi.
- u) Lamlar sırasıyla %96 ile %99,9 luk alkollerden ve 2 defa 2'şer dakika arayla ksilenden geçirildi.
- v) Entellan ile lamel kapatıldı.

Preparatlar boyandıktan sonra mikroskopta incelendi.

3.4. Biyokimyasal Değerler

Biyokimya tüplerine alınan kan örnekleri hiç bekletilmeden soğutmalı santrifüjde +4°C'de 3000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmek suretiyle serum örnekleri çıkarıldı. Ayrılan serumlar ependorf tüplerine konuldu. Örnekler çalışılıncaya kadar -80 derecede buzdolabında saklandı.

3.4.1. Total Oksidan Seviyenin Belirlenmesi (TOS) ($\mu\text{mol/L}$)

TOS seviyeleri ticari olarak temin edilebilen Relassay marka kitler kullanılarak ölçüldü. Yeni yöntemde, numunede bulunan oksidanlar, demir iyon-o-dianisidin kompleksini demir iyonuna oksitledi. Oksidasyon reaksiyonu, reaksiyon ortamında bol miktarda bulunan gliserol molekülleri tarafından geliştirilmiştir. Ferrik iyon, asidik bir ortamda ksilenol portakalı ile renkli bir kompleks üretti. Spektrofotometrik olarak ölçülebilen renk yoğunluğu, numunede bulunan toplam oksidan molekül miktarı ile ilgilidir. Test kiti, hidrojen peroksit ile kalibre edildi ve sonuçlar, litre başına mikromolar hidrojen peroksit eşdeğeri ($\mu\text{mol H}_2\text{O}_2$ eşdeğeri/L) cinsinden ifade edildi (Erel 2005).

(Relassay, Türkiye)

1. 75 μL (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
2. 500 μL Reagent 1

3. 30 sn sonra 530 nm dalga boyunda ilk absorbans
4. 25 µL Reagent 2
5. 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
6. 530 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar belirlendi.

Sonuçların Hesaplanması:

$$\text{Sonuç} = [\Delta \text{ABS Örnekle} / \Delta \text{ABS Standart 2}] \times 10 \mu\text{mol/L} [\text{Standart 2 değeri}]$$

$$\Delta \text{ Örnekle Absorbansı} = (\text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{ Standart 2'nin Absorbansı} = (\text{Std 2'nin 2. Absorbansı} - \text{Std 2'nin 1. Absorbansı})$$

$$\text{Standart 2 Değeri} = 10 \mu\text{mol/L}$$

3.4.2. Total Antioksidan Seviyenin Belirlenmesi (TAS) (mmol/L)

TAS seviyeleri piyasada bulunan Relassay marka kitler kullanılarak ölçüldü. Yeni otomatikleştirilmiş yöntem, antioksidanlar tarafından daha kararlı bir ABTS (2,2'-Azino-bis (3-etilbenzotiazolin-6-sülfonik asit)) radikal katyonunun karakteristik renginin ağartılmasına dayanmaktadır. Tahlil, %3'ten daha düşük olan mükemmel kesinlik değerlerine sahiptir. Sonuçlar mmol Trolox eşdeğeri/L olarak ifade edildi (Erel 2004).

(Relassay, Türkiye)

1. 30 µL (Standart 1, Standart 2 ve örnek)
2. 500 µL Reagent 1
3. 30 sn sonra 660 nm dalga boyunda ilk absorbans
4. 75 µL Reagent 2
5. 10 dakika oda sıcaklığında inkübasyon
6. 660 nm dalga boyunda ikinci absorbanslar elde edildi.

Sonuçların Hesaplanması:

$$\text{Sonuç} = \frac{[(\Delta \text{ABS Std 1}) - (\Delta \text{ABS Örnekle})]}{[(\Delta \text{ABS Std 1}) - (\Delta \text{ABS Std 2})]}$$

$$\Delta \text{ABS Std 1} = (\text{Standart 1'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 1'in 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{ABS Std 2} = (\text{Standart 2'in 2. Absorbansı} - \text{Standart 2'in 1. Absorbansı})$$

$$\Delta \text{ Örnekle Absorbansı} = (\text{Örneğin 2. Absorbansı} - \text{Örneğin 1. Absorbansı})$$

3.4.3. Oksidatif Stres İndeksinin Belirlenmesi (OSI)

TOS'un TAS'a oranı oksidatif stres indeksi (OSI) olarak kabul edildi. Hesaplama için elde edilen TAS birimi $\mu\text{mol/L}$ 'ye dönüştürülmüş ve OSI değeri aşağıdaki formüle göre hesaplanmıştır:

$$\text{OSI (keyfi birim)} = \text{TOS } (\mu\text{mol H}_2\text{O}_2 \text{ eşdeğeri/L}) / \text{TAC } (\mu\text{mol Trolox eşdeğeri/L})$$

(Harma vd 2003, Kosecik vd 2005, Yumru vd 2009).

3.4.4. Malondialdehit Seviyenin Belirlenmesi (MDA) (mmol/L)

Çalışmada YLBiont marka çift antikor sandviç ELİSA kitleri kullanıldı. Spesifik monoklonal antikor ile kaplı kuyucuklara standart ve numune eklendi. Ardından ikinci antikorlar eklendi. Daha sonra Streptavidin-HRP solüsyonu eklenen pleyt inkübasyona bırakıldı. İnkübasyon sonunda kompleks oluşumuna katılmayan enzimlerin ortamdan uzaklaştırılması için yıkama yapıldı. Renk oluşumu sağlamak amacıyla kromojen A ve B eklendi. Tekrar inkübasyona bırakıldıktan sonra renk değişimi gözlemlendi. Reaksiyon sonlandırıcı solüsyon eklendi. Oluşan sarı renk 450 nm'de spektrofotometre ile analiz edildi.

3.4.5. Total Protein Seviyesinin Belirlenmesi (TP) (g/dl)

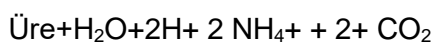
Kolorimetrik test, Numune ve Reaktif ilavesi reaksiyon başlangıcı: İki değerli bakır, karakteristik mor renkli biüre kompleksi oluşturmak için alkali çözeltide protein peptit bağları ile reaksiyona girer. Sodyum potasyum tartrat, bakır hidroksitin çökmesini önler ve potasyum iyodür, bakırın otomatik olarak indirgenmesini önler.

Alkali protein + Cu^{2+} solüsyonu Cu-protein kompleksi renk yoğunluğu fotometrik olarak belirlenebilen protein konsantrasyonu ile doğru orantılıdır (*Otto Scientific*).

3.4.6. Üre Seviyesinin Belirlenmesi (UREA) (mg/dl)

Üre, amonyak ve CO_2 üretmek için üreaz varlığında hidrolize edilir. Üretilen amonyak, glutamat ve NAD vermek üzere GLDH varlığında 2-oksoglutarat ve NADH ile birleşir.

Üreaz



GLDH

$2 \text{ NH}_4^+ + 2\text{-Oksoglutarat} + 2 \text{ NADH H}_2\text{O} + 2 \text{ NAD}^+ + \text{Glutamat}$

NADH tüketimi nedeniyle absorbanstaki azalma kinetik olarak ölçülür (*Otto Scientific*).

3.4.7. Kreatinin Seviyesinin Belirlenmesi (CREA) (mg/L)

İmmünotürbidimetrik tahlil:

Anti-CRP antikoru, bir antijen/antikor kompleksi oluşturmak için numunedeki antijen ile reaksiyona girer. Aglütinasyon sonrası, bu türbidimetrik olarak ölçülür. Polietilen glikolün eklenmesi, reaksiyonun hızlı bir şekilde son noktaya ilerlemesini sağlar, duyarlılığı artırır ve aşırı antijen içeren numunelerin yanlış negatif sonuçlar üretme riskini azaltır (*Otto Scientific*).

3.5. İstatistiksel Analiz

Eliza okuyucusundan alınan optik densite (OD) değerlerinin, boş kuyucukta okunan değerler ile normalizasyonu sağlandı. Standartların OD değerleri bilinen konsantrasyonları ile %95 anlamlılık düzeyinde standart eğrisi grafiğinin formülasyonu aracılığıyla kalibre edildi. Veriler GraphPad Prism 8.0.2 (263) (GraphPad software Inc. San Diego, California USA) paket programıyla analiz edildi. Verilerin normal dağılıma uygunluğu Kolmogorov – Smirnov testi ile incelendi. Parametrik test varsayımları sağlandığında bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Tek Yönlü Varyans Analizi (Post hoc. Bonferroni Çoklu kıyaslama testi); parametrik test varsayımları sağlanmadığında ise bağımsız grup farklılıkların karşılaştırılmasında Kruskal Wallis Varyans Analizi kullanıldı. Tüm incelemelerde $p < 0,05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

4. BULGULAR

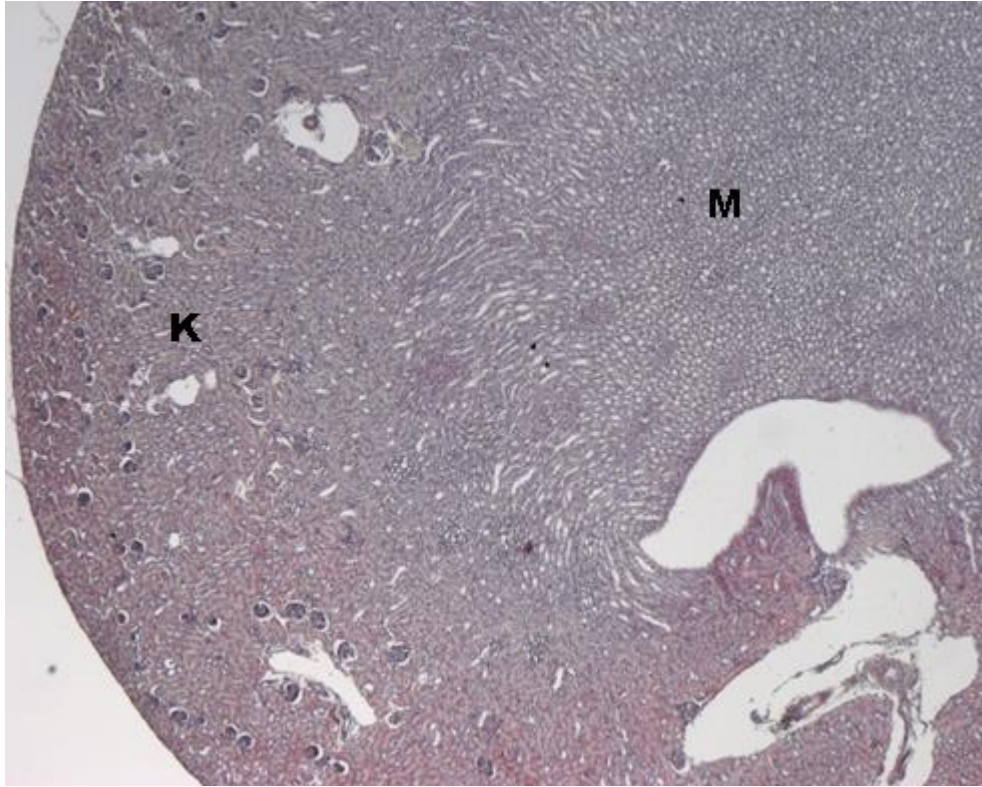
4.1. Histopatolojik Bulgular

Çalışmamızda, 25 mg BPA ve 50 mg BPA uygulanan anne sıçanlardan doğan 21 ve 45 günlük yavruların böbrek dokuları alınarak ışık mikroskobu düzeyinde incelendi. İncelemeler Olympus BX51 marka/model cihazlarla yapıpı fotoğraflanmıştır.

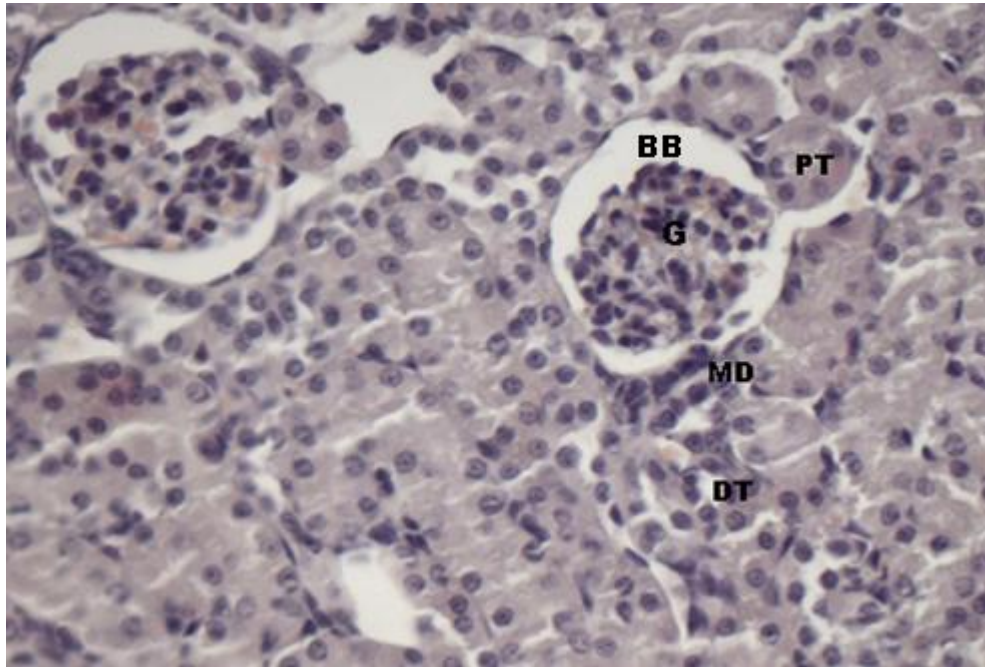
4.1.1. 21 Günlük Sıçanlara Ait Histopatolojik Bulgular

4.1.1.1. Kontrol Grubuna (Grup 1) Ait Bulgular

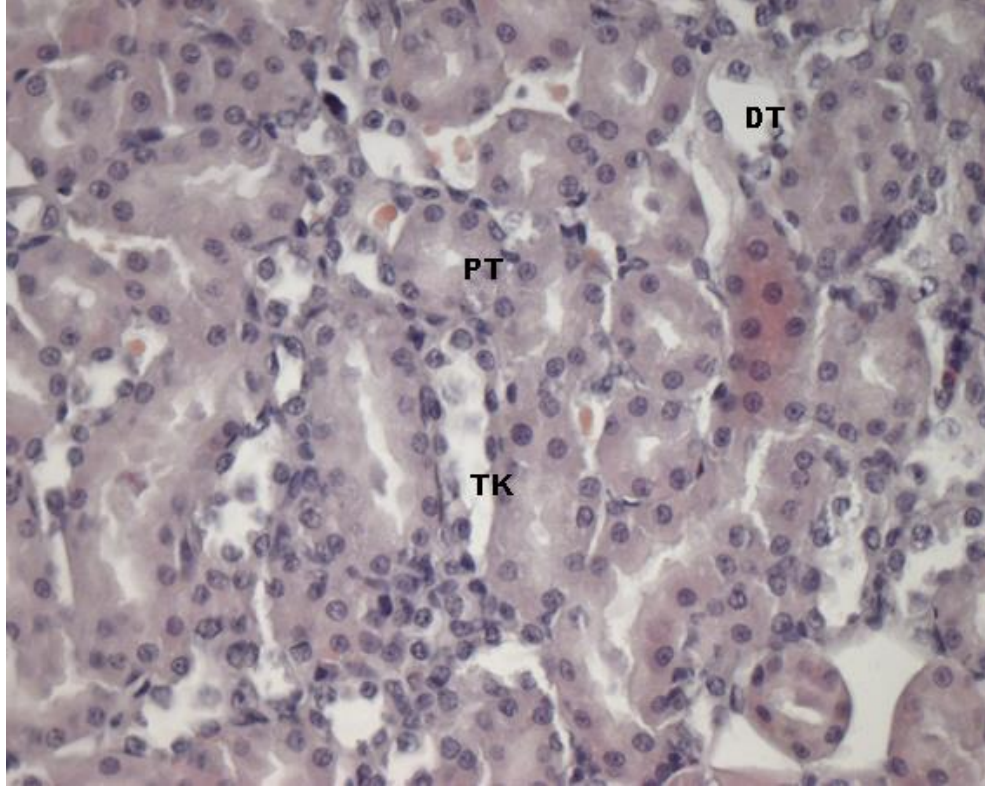
21 günlük Kontrol grubunda ışık mikroskobuyla küçük büyütmede yapılan incelemelerde, böbrek dokusunun genel görünümünde korteks ve medulla ayrımının belirgin olduğu; kortekste tübüller ile birlikte böbrek cisimciklerinin, medullada ise toplama kanalları ile tübüllerin yer aldığı gözlemlendi (Şekil 10). Kortekste yer alan böbrek cisimcikleri yüksek büyütmede incelendiğinde dış kısmında yer alan Bowman kapsülü ile pariyetal yaprak epitel hücreleri, filtratın süzülüp idrara gönderildiği Bowman boşluğu, glomerüler kapiller yumak yapısının normal histolojik özelliklerde olduğu gözlemlendi. Proksimal ve distal tübüller ile makula densa hücreleri normal görünümdeydi (Şekil 11). Medullada yer alan proksimal ve distal tübüllerin kübik epitel hücreleri ile henle kulpunun yassı epitel hücrelerine sahip olan ince parçası ile toplama kanallarının yapılarında ve hücrelerinde deformasyon gözlenmedi (Şekil 12, 13). Masson trikrom boyama ile incelenen kesitlerde, böbrek cisimcikleri ve tübüller arasında oldukça az miktarda bağ dokusu alanlarının olduğu görüldü (Şekil 14).



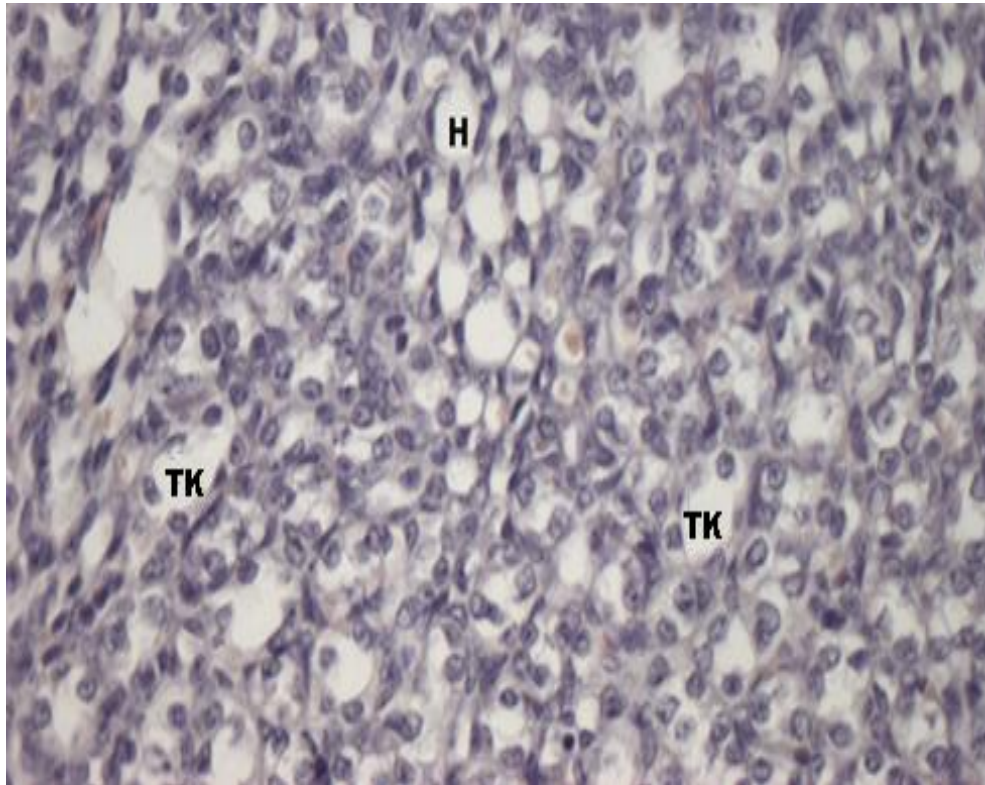
Şekil 10: 21 günlük kontrol grubuna ait böbrek dokusu. Korteks (K) ve medulla (M) katmanlarının genel görünümünü izlenmekte (H&E, 4x).



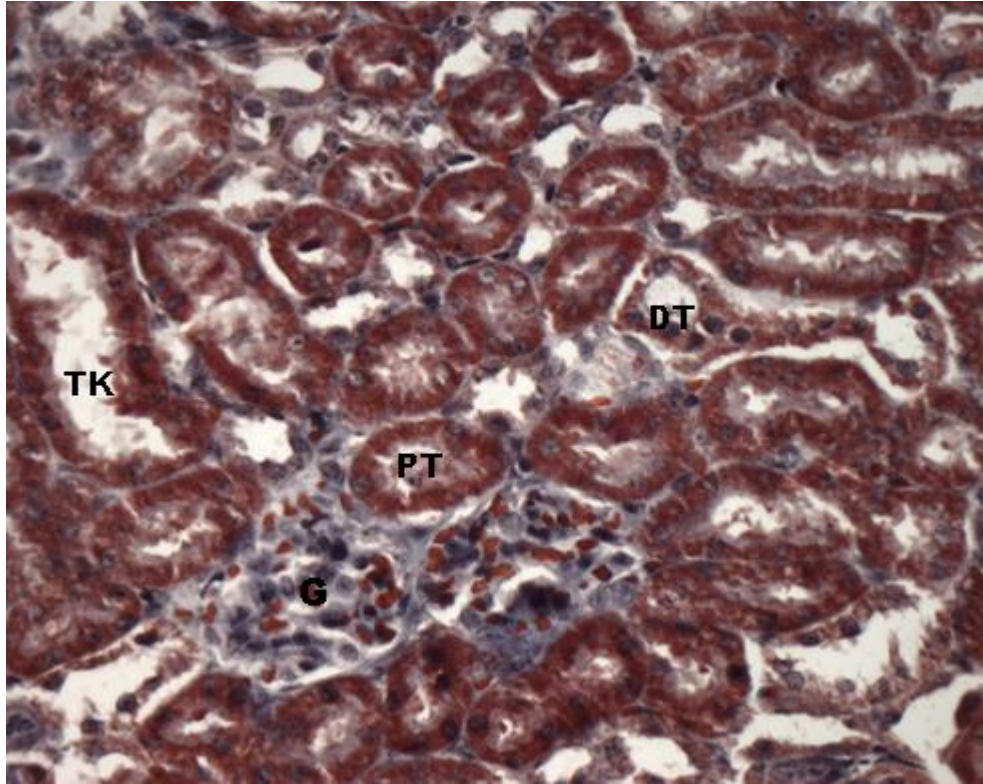
Şekil 11: 21 günlük kontrol grubuna ait böbrek dokusu, kortekste yer alan böbrek cisimciği yapısı (G), Bowman boşluğu (BB), makula densa hücreleri (MD) ile proksimal (PT) ve distal (DT) tübüller izlenmekte (H&E, 40x).



Şekil 12: 21 günlük kontrol grubuna ait sıçanların kortekse komşu medullar bölgesinde proksimal (PT), distal tübüleri (DT) ve toplama kanalları (TK) görülmekte (H&E, 40x).



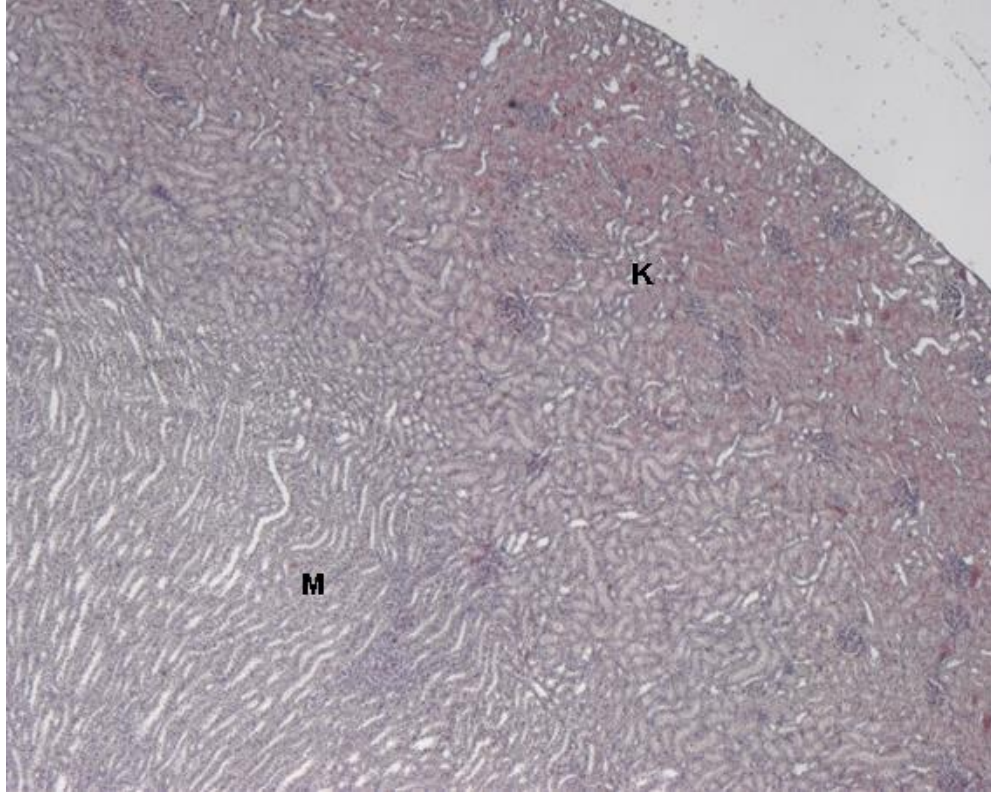
Şekil 13: 21 günlük kontrol grubuna ait böbrek dokusunun kalikslere komşu medulla katmanında yer alan Henle kulpu (H) ile toplama kanalları (TK) görülmekte (H&E, 40x).



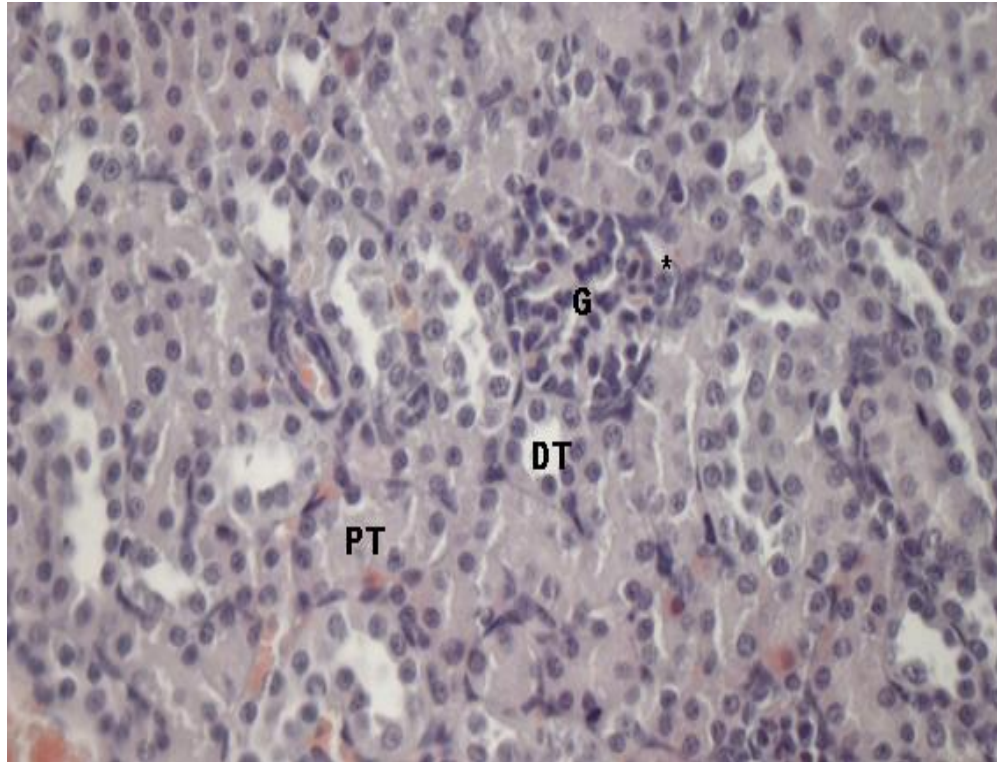
Şekil 14: 21 günlük kontrol grubuna ait böbrek cisimciği yapısı (G), proksimal (PT), distal tübüleri (DT) ve toplama kanalı (TK) normal görünümde izlenmektedir (MTK, 40x).

4.1.1.2. 25 mg BPA Grubuna (Grup 2) Ait Bulgular

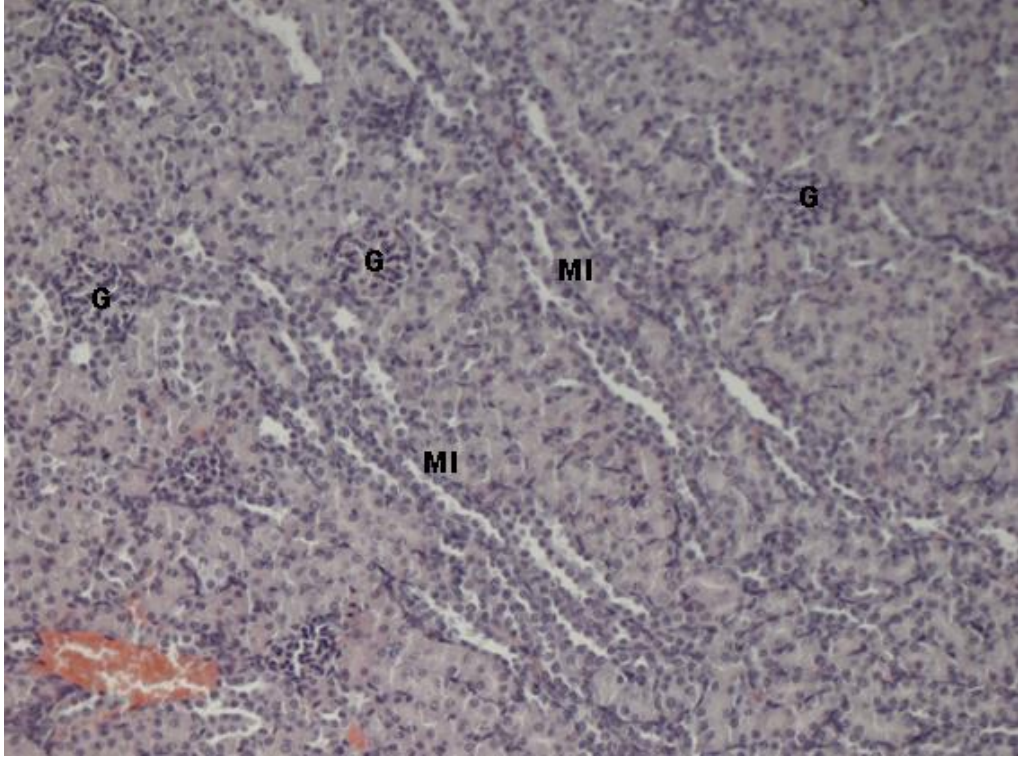
21. günde 25 mg BPA uygulanan grubunun yenidoğan sıçan böbreklerinden alınan doku örnekleri ışık mikroskopunda küçük büyütmede incelendiğinde böbrek dokusunun genel görünümünde korteks ve medulla ayrımının belirgin olduğu; kortekste çok sayıda böbrek cisimcikleri ve nefron tübüleri, medullada ise toplama kanalları ile tübüllerin yer aldığı gözlemlendi (Şekil 15). Yüksek büyütmede yapılan incelemelerde, kortekste yer alan birçok böbrek cisimciğinde BPA kaynaklı kapiller yumak kılcalarında genişleme sonucu Bowman boşluğunda daralmanın meydana geldiği gözlemlendi (Şekil 16, 17). Medullada yer alan proksimal ve distal tübüllerinin hücre ve epitellerinde ciddi bir deformasyon gözlemlenmedi (Şekil 16). Toplama kanallarının kübik epitel hücrelerinin yassı epitel hücrelere dönüştüğü gözlemlendi (Şekil 18, 19). Masson trikrom boyama ile incelenen kesitlerde, böbrek cisimcikleri ve tübüller arasında az miktarda bağ dokusu alanlarının olduğu görüldü (Şekil 20).



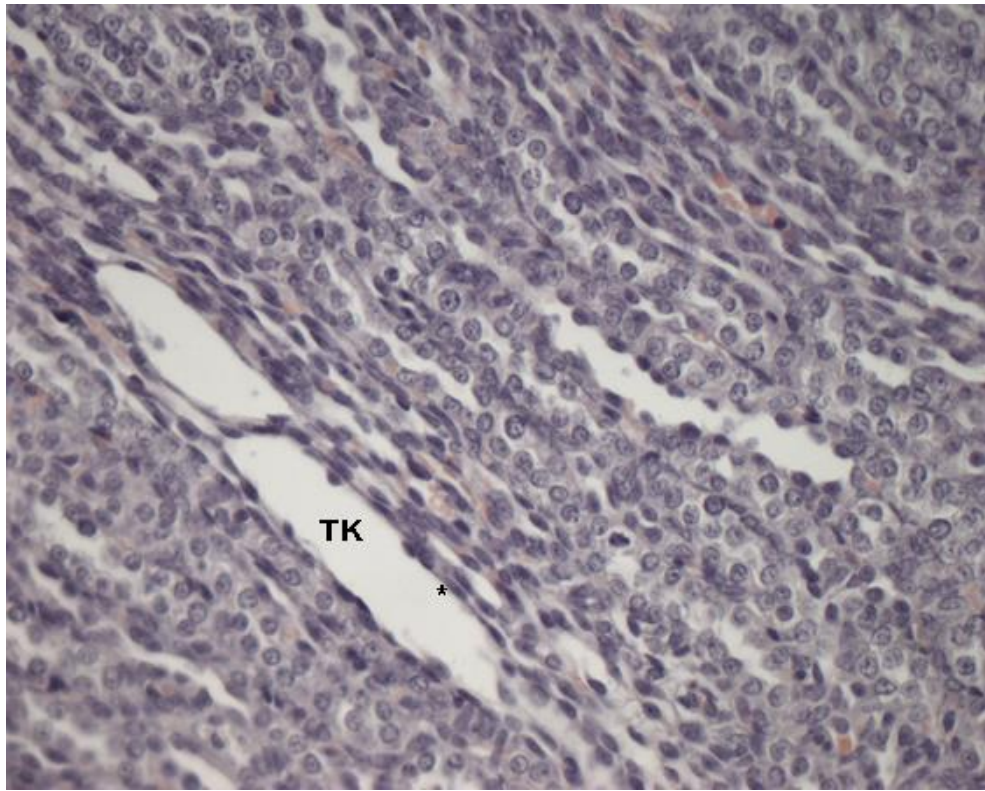
Şekil 15: 21 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek dokusuna ait genel görünüm; korteks (K), medulla (M) gösterilmekte (H&E, 4x).



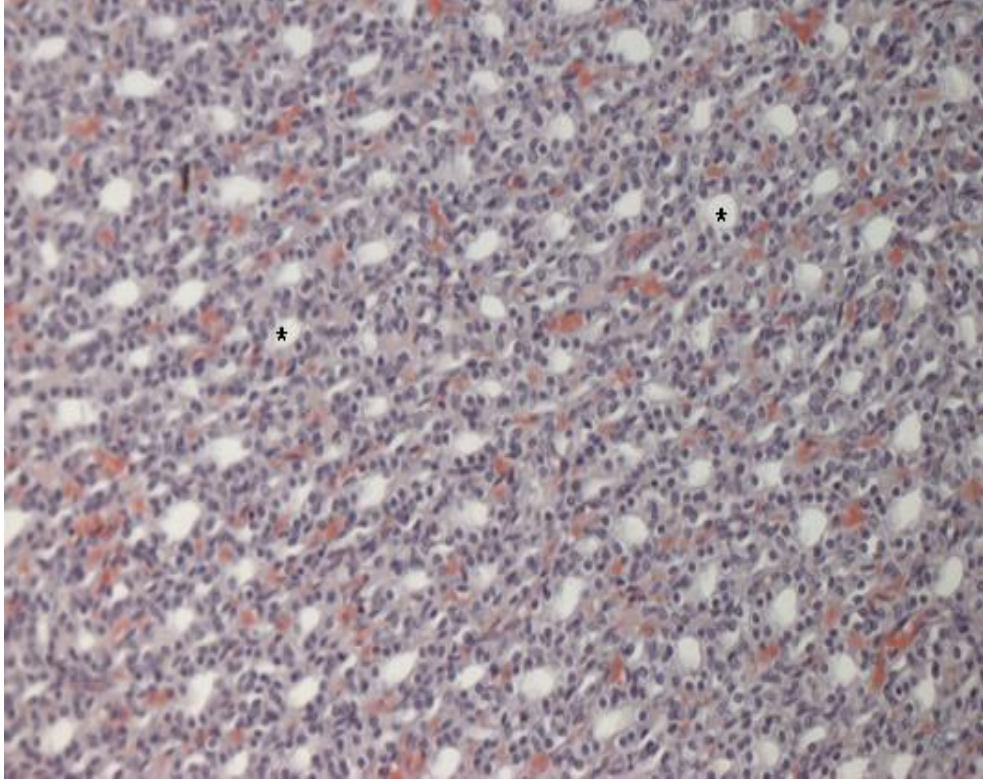
Şekil 16: 21 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek korteksinde böbrek cisimciği ve glomerül (G), Bowman boşluğunda daralma (*), proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) normal görünümde izlendi (H&E, 20x).



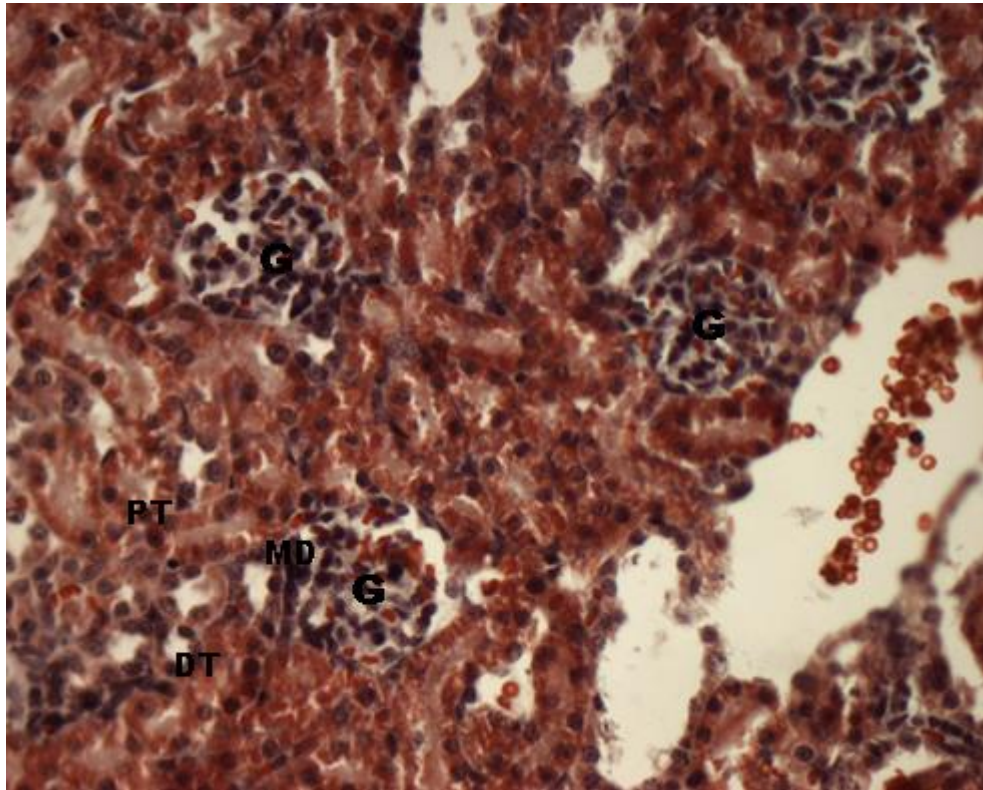
Şekil 17: 21 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek korteksinde yer alan böbrek cisimcikleri (G) ve medullar ışınlar (MI) görülmekte (H&E, 20x).



Şekil 18: 21 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek medullasında yer alan toplama kanalı (TK) epitel hücrelerinde yassılaşıma (*) ve dilatasyon (H&E, 20x).



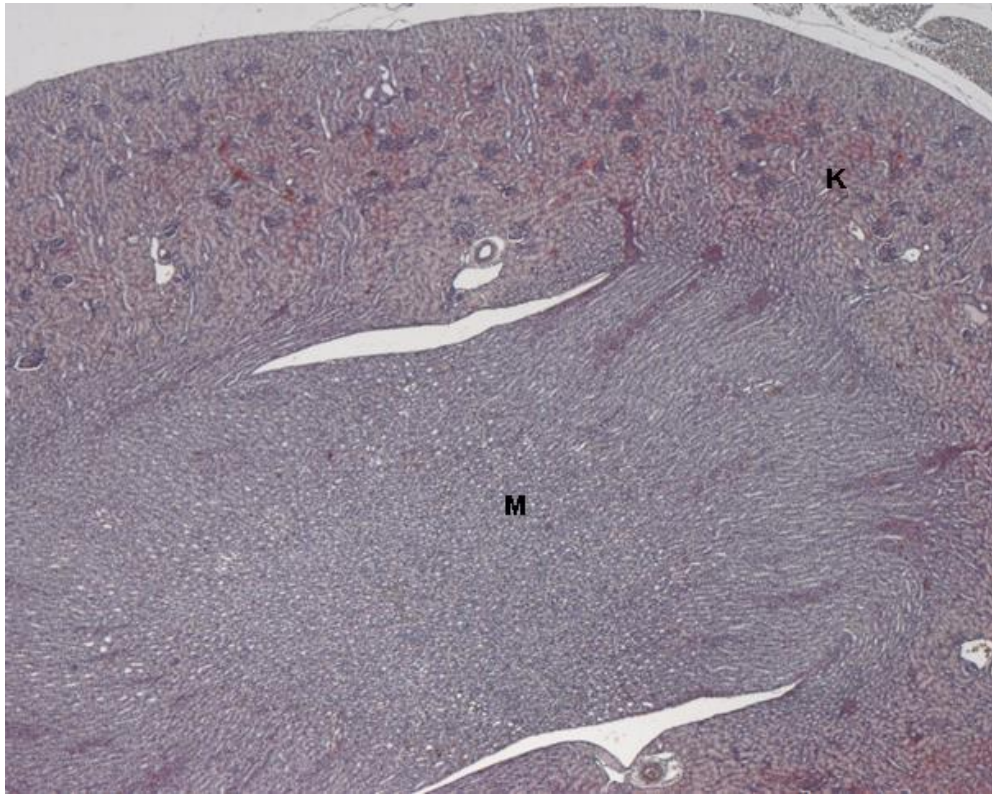
Şekil 19: 21 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek medullasındaki toplama kanalları (*) ve epitel hücrelerinde ciddi hasarlara rastlanmadı (H&E, 40x).



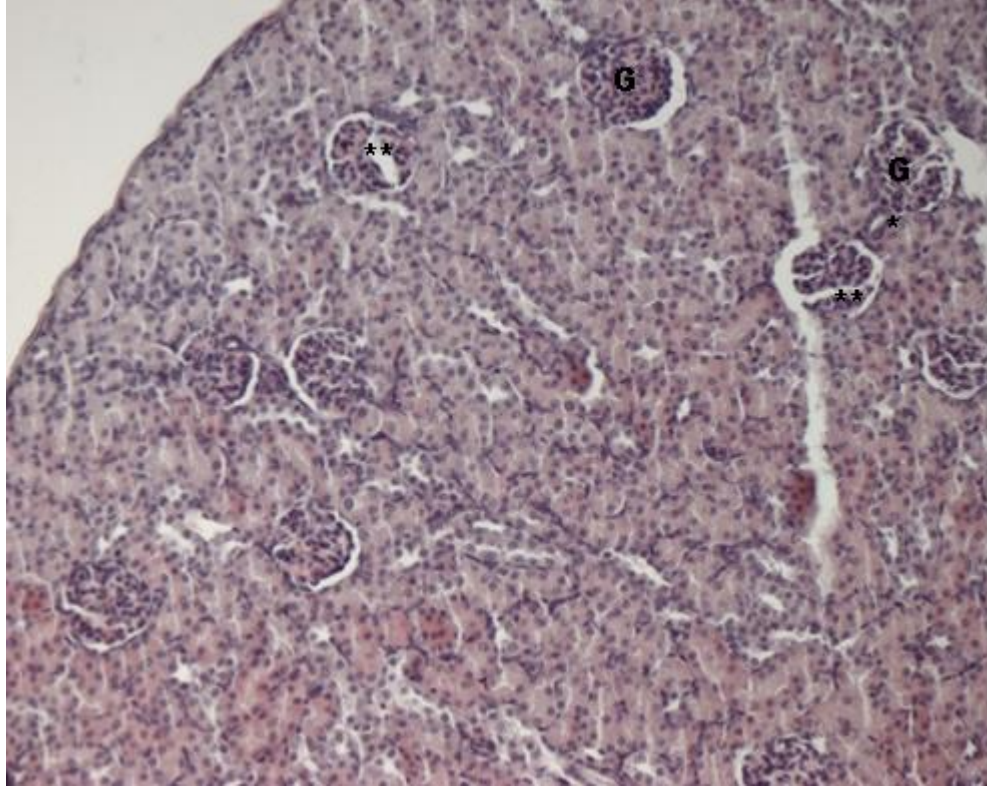
Şekil 20: 21 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek korteksindeki böbrek cisimciği (G), makula densa hücreleri (MD), proksimal tübül (PT) ve dİstal tübül (DT) izlenmekte (MTK, 40x).

4.1.1.3. 50 mg BPA Grubuna (Grup 3) Ait Bulgular

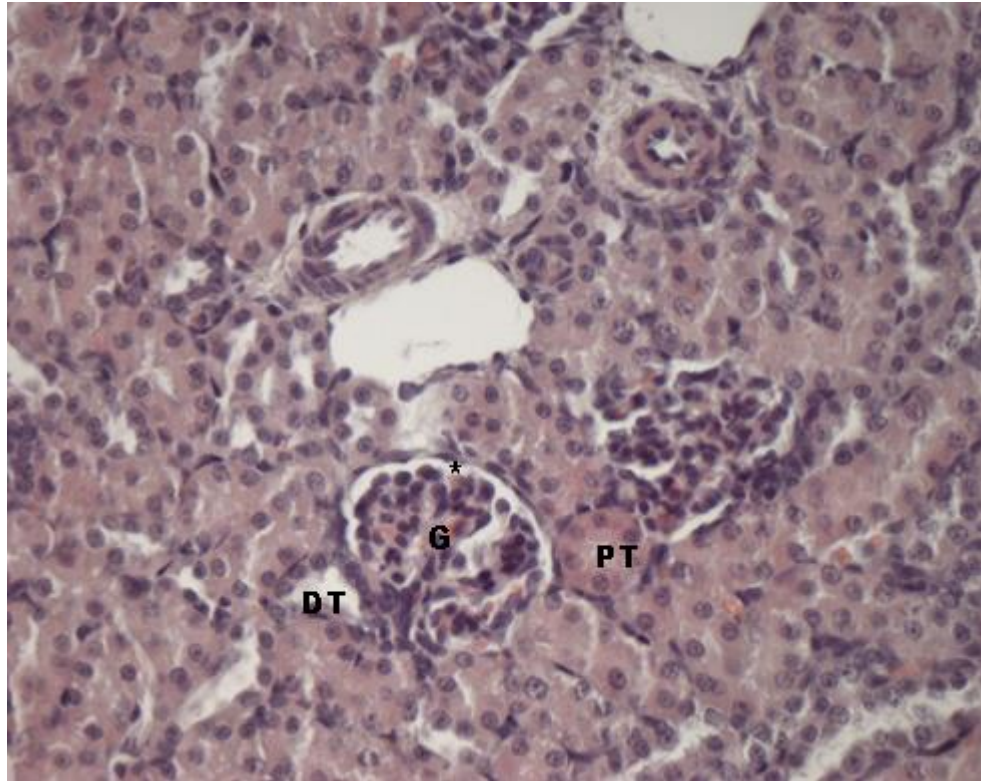
21 günlük 50 mg BPA uygulanan grubunun yenidoğan sıçan böbreklerinden alınan doku örnekleri ışık mikroskopunda küçük büyütmede incelendiğinde böbrek dokusunun genel görünümünde korteks ve medulla ayrımının belirgin olduğu; kortekste çok sayıda böbrek cisimciklerinin, medullada ise toplama kanalları ile tübüllerin yer aldığı gözlemlendi (Şekil 21). Yüksek büyütmede yapılan incelemelerde kortekste yer alan böbrek cisimciklerinin bazılarında BPA maruziyeti sonucunda kapiller yumakta deformasyonların olduğu tespit edildi (Şekil 22). Kapiller yumaktaki genişlemeler sonucu Bowman boşluğunda daralmanın meydana geldiği; medullada yer alan proksimal ve distal tübüllerinin hücre ve epitellerinde ciddi bir bozulmanın olmadığı gözlemlendi (Şekil 23). Toplama kanallarının kübik epitel hücrelerinin yassı epitel hücrelere dönüştüğü ve bazılarında tübül dilatasyonu olduğu gözlemlendi (Şekil 24). Masson trikrom boyama ile incelenen kesitlerde, kan damarlarının çevresinde, böbrek cisimcikleri ve tübüller arasında bağ dokusu alanlarının olduğu görüldü (Şekil 25).



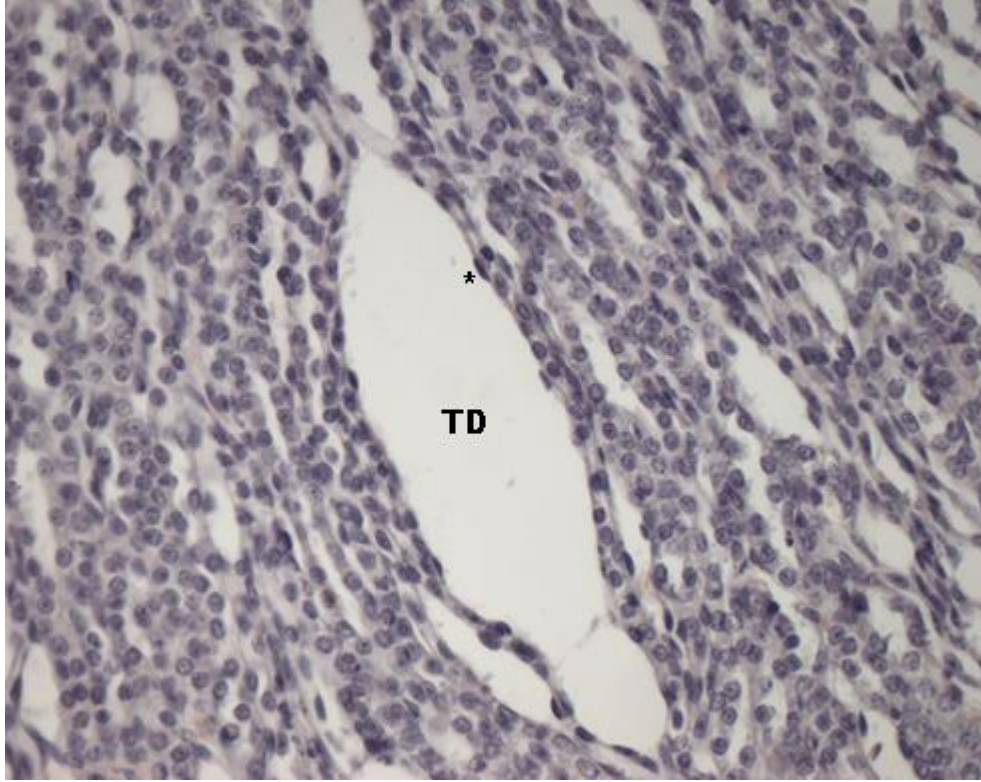
Şekil 21: 21 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek dokusuna ait genel görünüm; korteks (K), medulla (M) gösterilmekte (H&E, 4x).



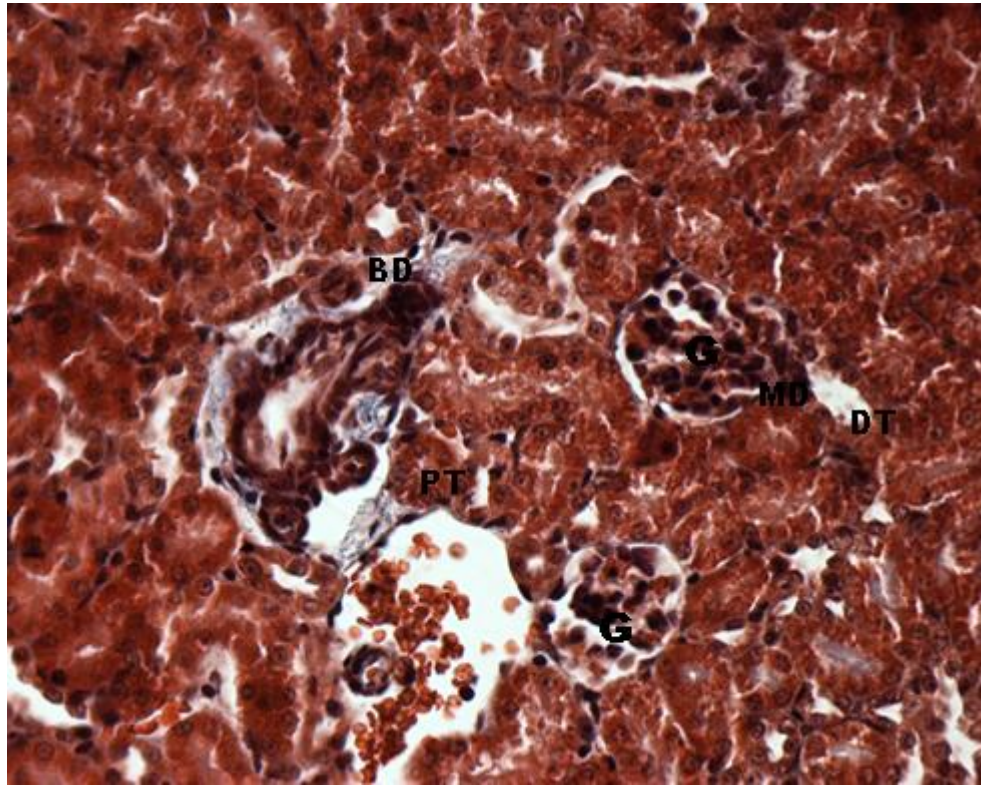
Şekil 22: 21 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek korteksi; böbrek cisimciği (G), makula densa hücreleri (*) ve böbrek cisimciğindeki kapiller yumakta deformasyon (**) gösterilmekte (H&E, 20x).



Şekil 23: 21 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek korteksi böbrek cisimciği (G), Bowman boşluğunda daralma (*), proksimal (PT) ve distal tübüller (DT) gösterilmektedir (H&E, 40x).



Şekil 24: 21 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek medullası; toplama kanalında tübül dilatasyonu (TD) ve epitel hücrelerinde yer yer yassılaşıma (*) gösterilmekte (H&E, 40x).

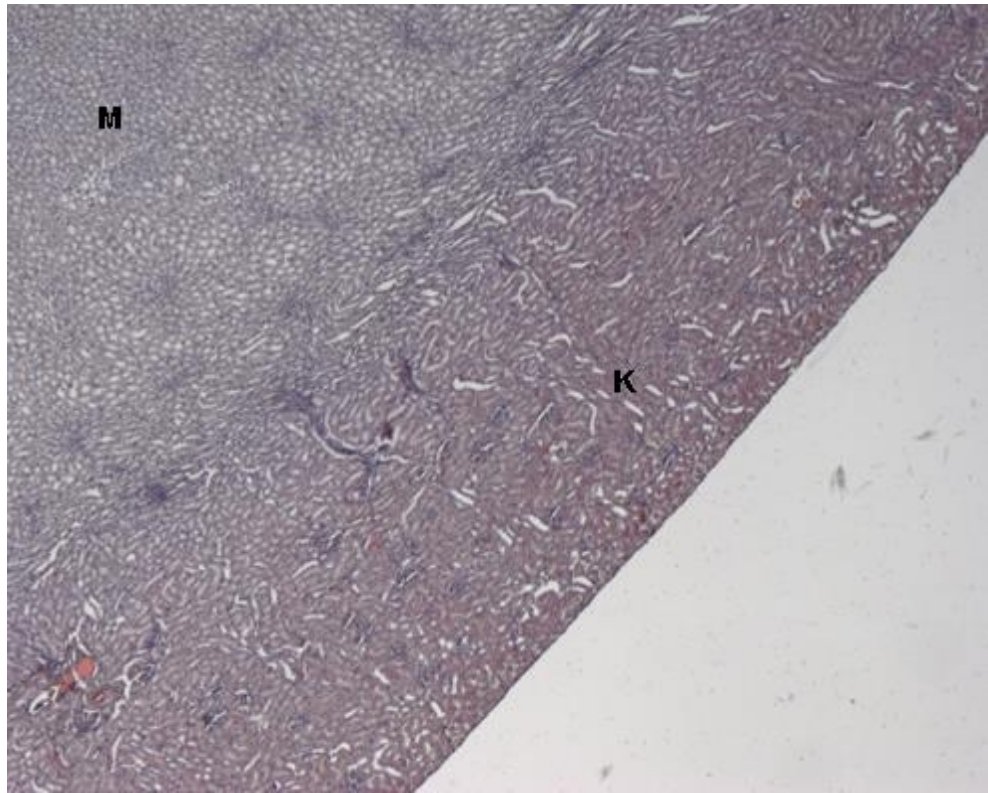


Şekil 25: 21 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek korteksindeki böbrek cisimciği (G), makula densa hücreleri (MD), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve bağ doku (BD) izlenmekte (MTK, 40x).

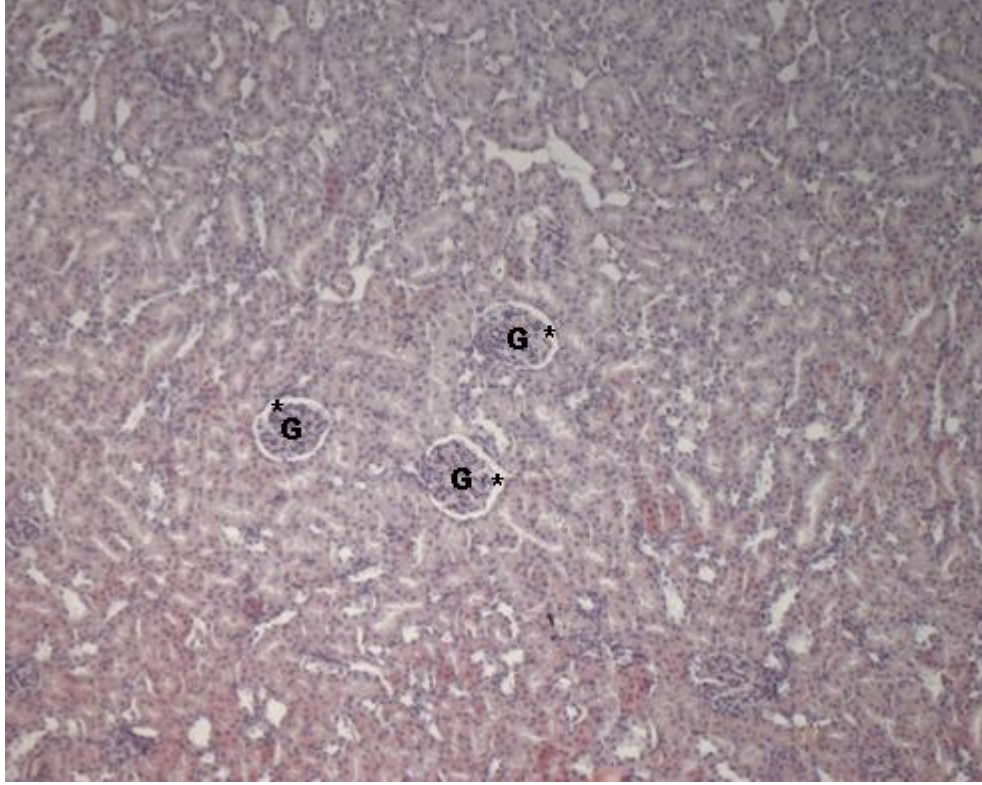
4.1.2. 45 Günlük Sıçanlara Ait Histopatolojik Bulgular

4.1.2.1. Kontrol Grubuna (Grup 1) Ait Bulgular

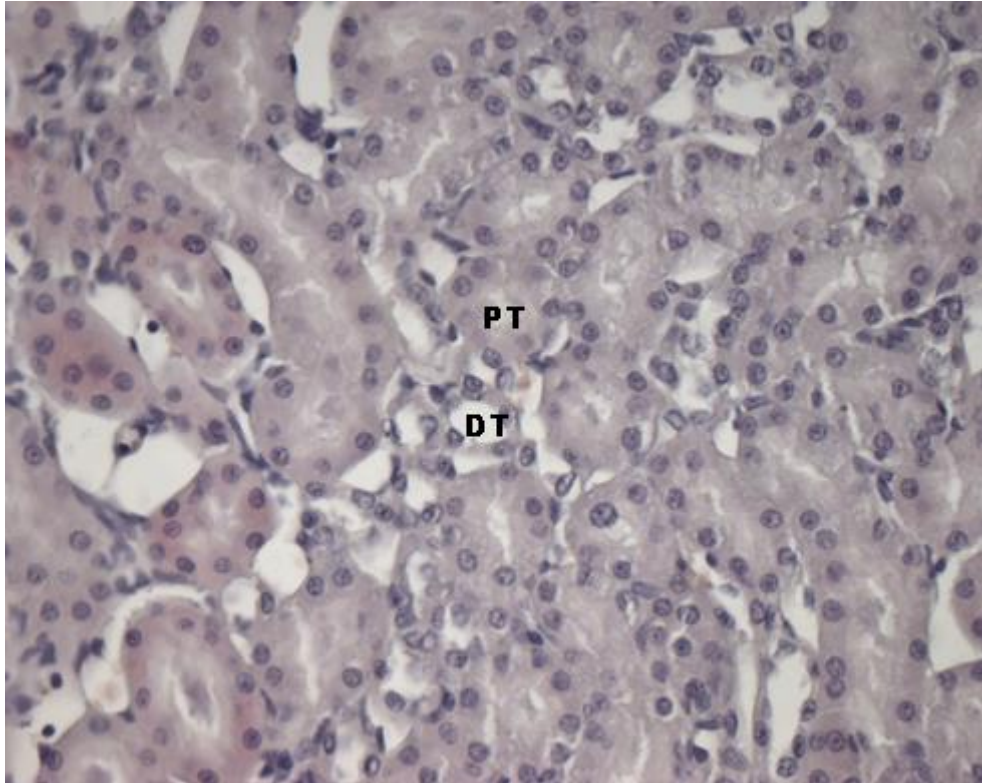
45 günlük kontrol grubunda ışık mikroskopuyla küçük büyütmede yapılan incelemelerde böbrek dokusunun genel görünümünde korteks medulla ayrımının belirgin olduğu; kortekste nefron tübülleri ile çok sayıda böbrek cisimciklerinin, medullada ise toplama kanalları ile tübüllerin yer aldığı gözlemlendi (Şekil 26). Kortekste yer alan böbrek cisimcikleri yüksek büyütmede incelendiğinde dış kısmında yer alan Bowman kapsülü ile pariyetal yaprak epitel hücreleri, filtratın süzülüp idrara gönderildiği boşluk olan Bowman boşluğu, kılcacık damarların bir araya gelerek oluşturduğu glomerüller kapiller yumak ile makula densa hücreleri normal görünümde izlendi (Şekil 27). Medullada yer alan proksimal, distal tübül, henle kulpu ve toplama kanallarının hücre ve yapılarında deformasyon gözlenmedi. Toplama kanallarında herhangi bir patolojik bulguya rastlanmadı (Şekil 28, 29). Masson trikrom boyama ile incelenen kesitlerde, kan damarının çevresinde, az miktarda bağ dokusu olduğu görüldü (Şekil 30).



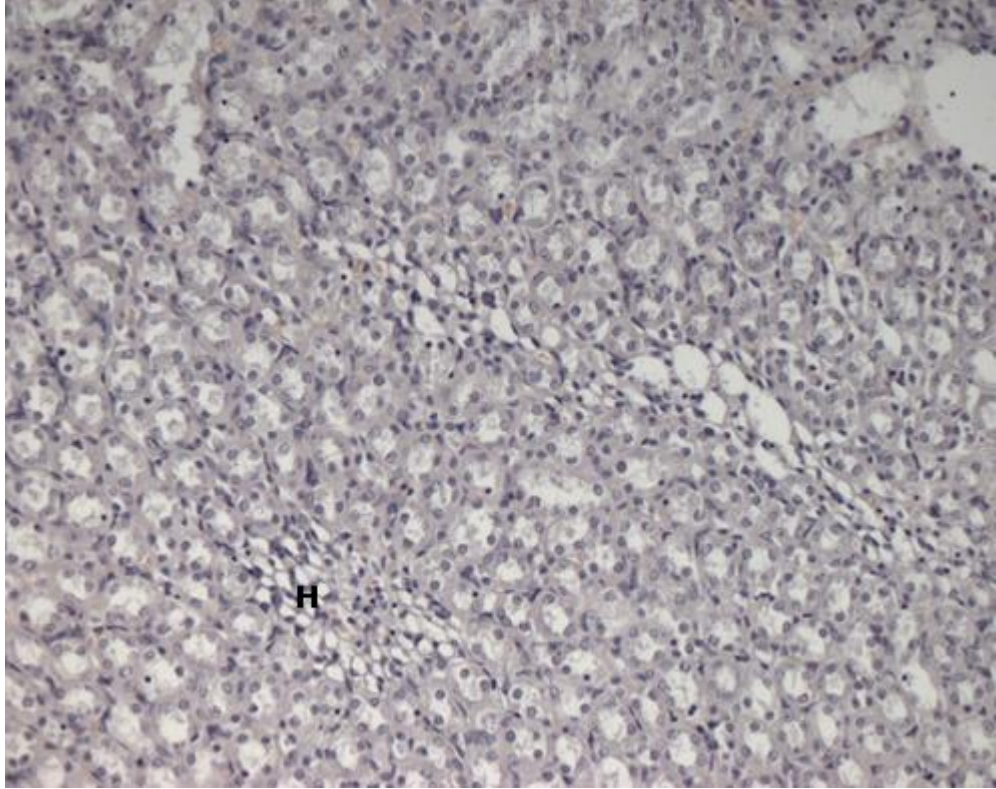
Şekil 26: 45 günlük kontrol grubuna ait böbrek korteksi genel görünümü; korteks (K) ve medulla (M) gösterilmektedir (H&E, 4x).



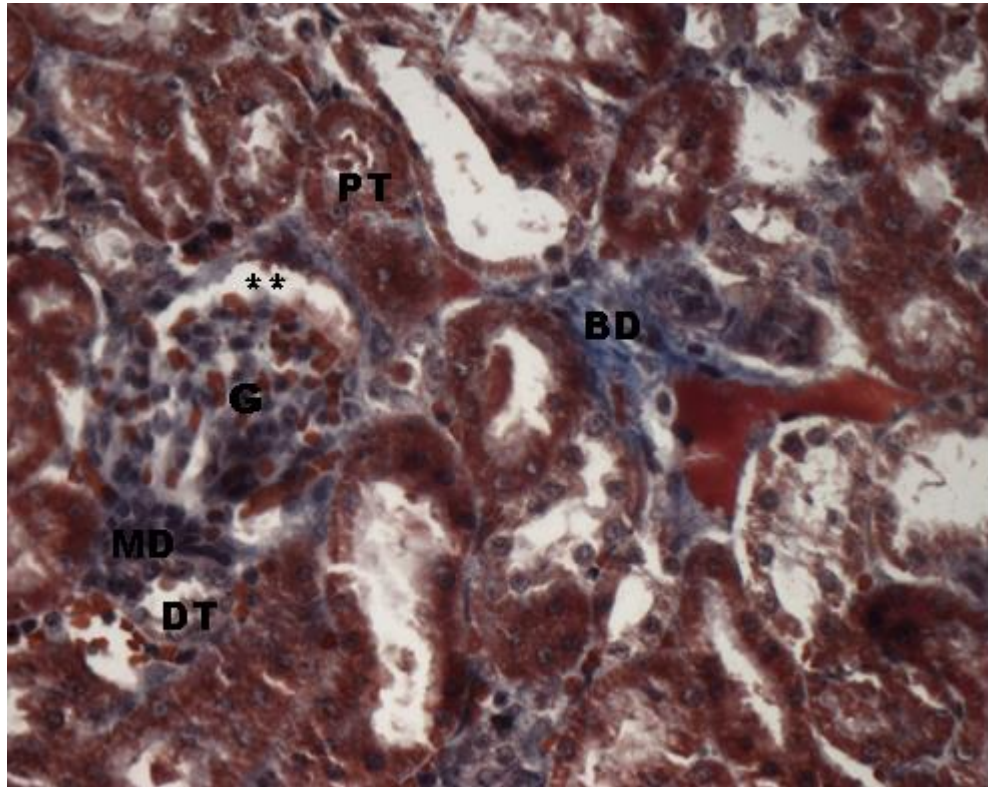
Şekil 27: 45 günlük kontrol grubuna ait böbrek korteksinde yer alan böbrek cisimcikleri (G) ve Bowman boşluğu (*) gösterilmektedir (H&E, 10x).



Şekil 28: 45 günlük kontrol grubuna ait böbrek medullası; proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT) gösterilmektedir (H&E, 40x).



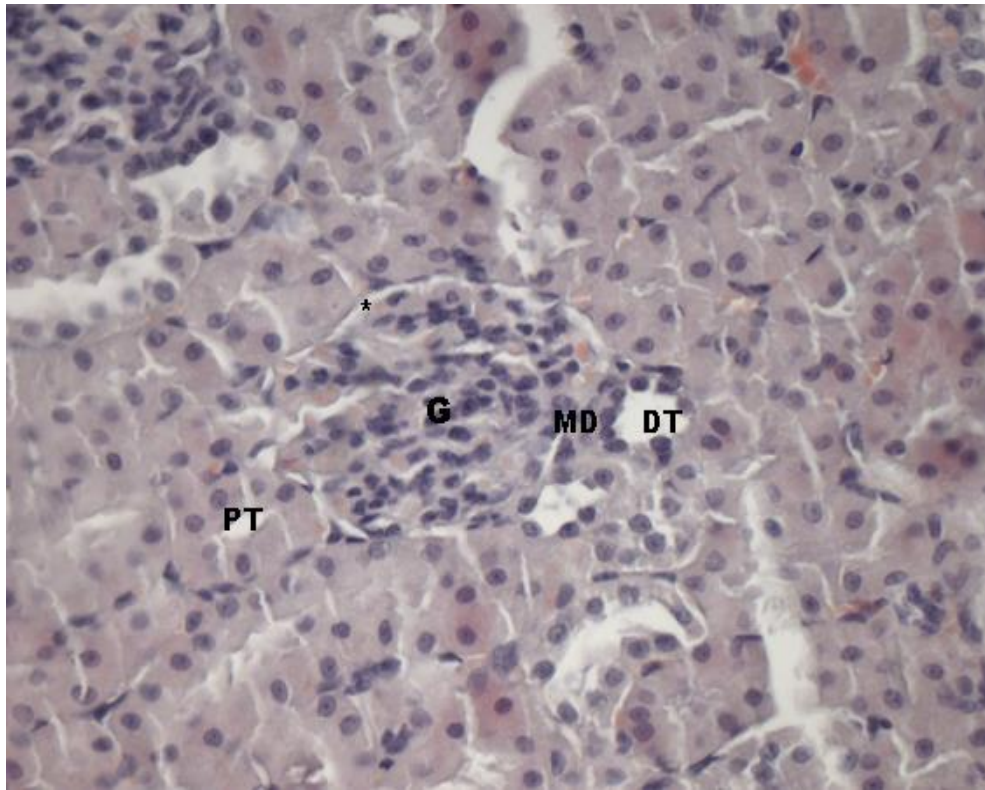
Şekil 29: 45 günlük kontrol grubuna ait böbrek medullası; henle kulpu (H) gösterilmektedir (H&E, 20x).



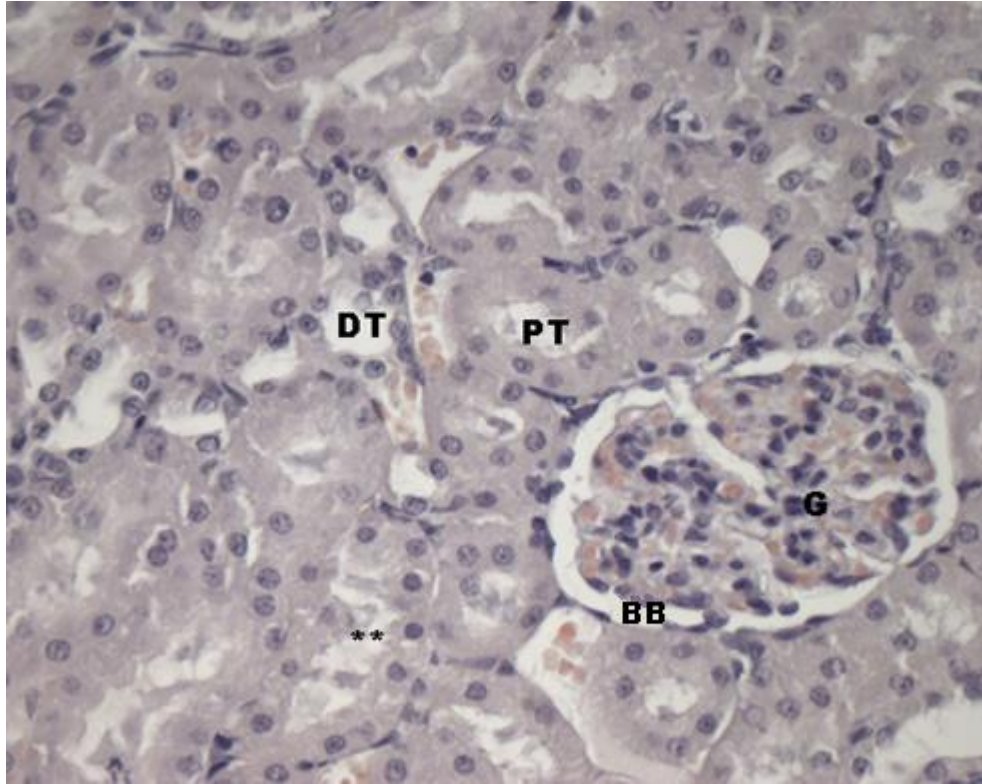
Şekil 30: 45 günlük kontrol grubuna ait böbrek korteksindeki böbrek cisimciği (G), Bowman boşluğu (**), makula densa hücreleri (MD), proksimal tübül (PT), distal tübül (DT) ve bağ doku (BD) izlenmekte (MTK, 40x).

4.1.2.2. 25 mg BPA Grubuna (Grup 2) Ait Bulgular

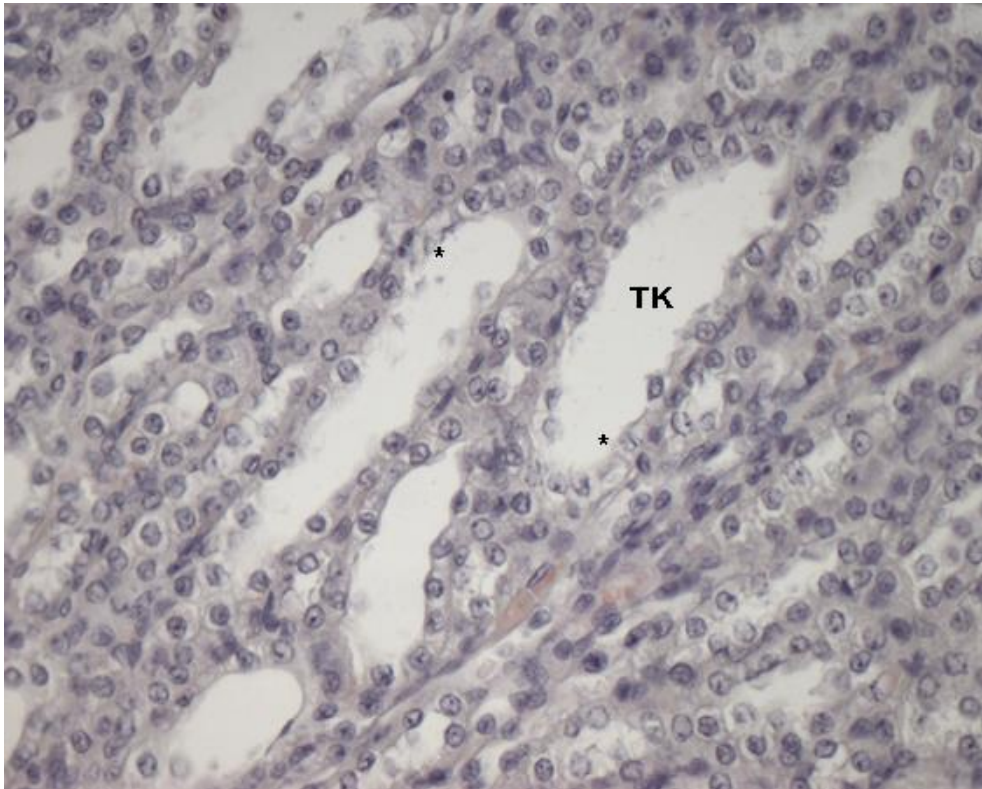
45 günlük 25 mg BPA grubunun yetişkin sıçan böbreklerinden alınan doku örnekleri ışık mikroskobu altında yüksek büyütmede yapılan incelemelerde, böbrek korteksindeki böbrek cisimciklerinde BPA maruziyetinden dolayı Bowman boşluğunda daralma hatta bu boşluğun tamamen kapandığı; medullada yer alan proksimal ve distal tübül hücre ve yapılarında yer yer hücre döküntülerinin olduğu gözlemlendi (Şekil 31, 32). Toplama kanallarında dilatasyon ve epitel hücrelerinde azalma olduğu saptandı (Şekil 33). Ayrıca kan damarları ve dokular arasındaki bağ dokusunda artış veya azalmaya ait bulgu saptanmadı (Şekil 34).



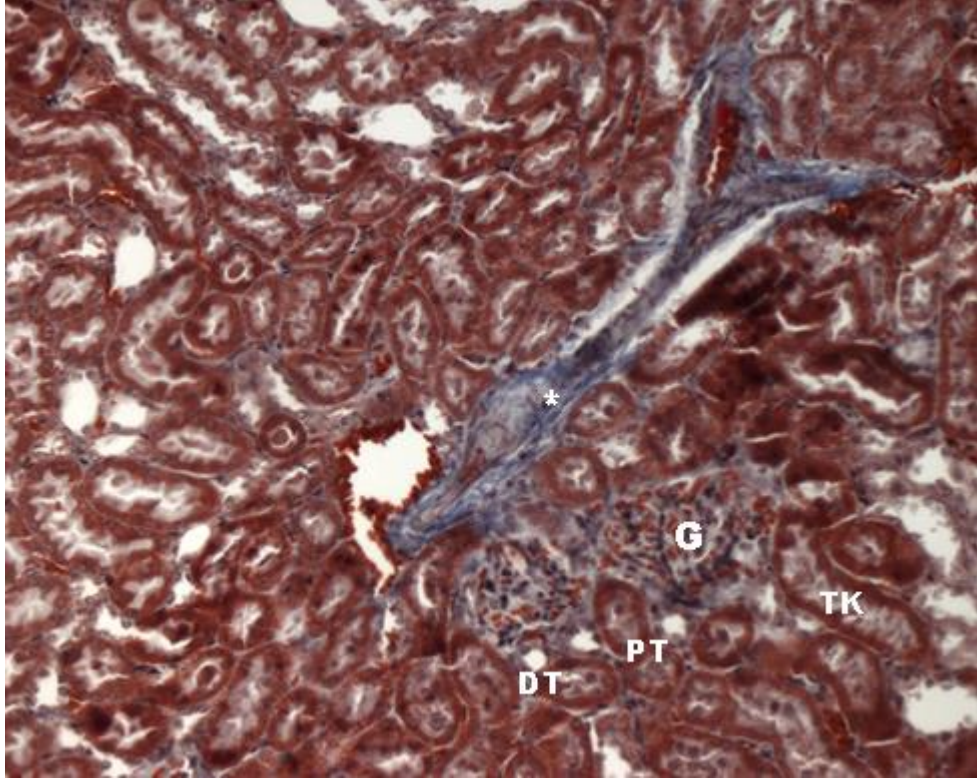
Şekil 31: 45 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek korteksindeki böbrek cisimciği (G), daralmış Bowman boşluğu (*), makula densa hücreleri (MD), proksimal (PT) ve distal tübül (DT) (H&E, 40x).



Şekil 32: 45 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek dokusundaki böbrek cisimciği yapısı (G), Bowman boşluğu (BB), proksimal (PT) ve distal tübüller (DT), hücre döküntüleri (**). (H&E, 40x).



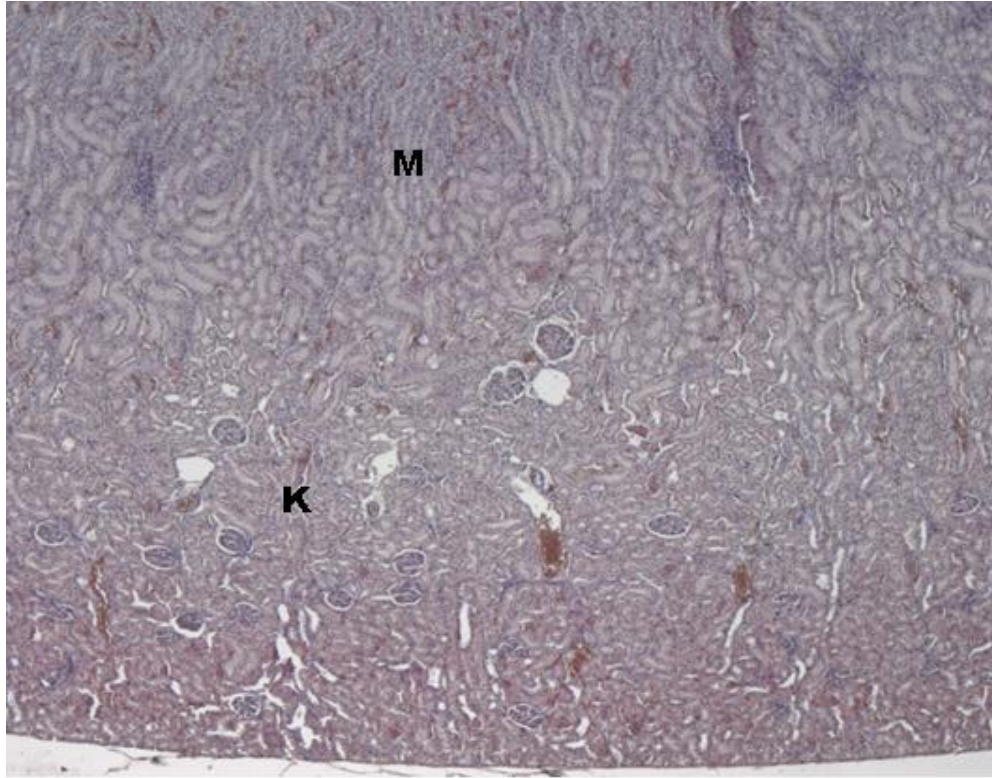
Şekil 33: 45 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek dokusu, toplama kanallarında dilatasyon (TK) ve epitel hücrelerinde azalma (*) (H&E, 40x).



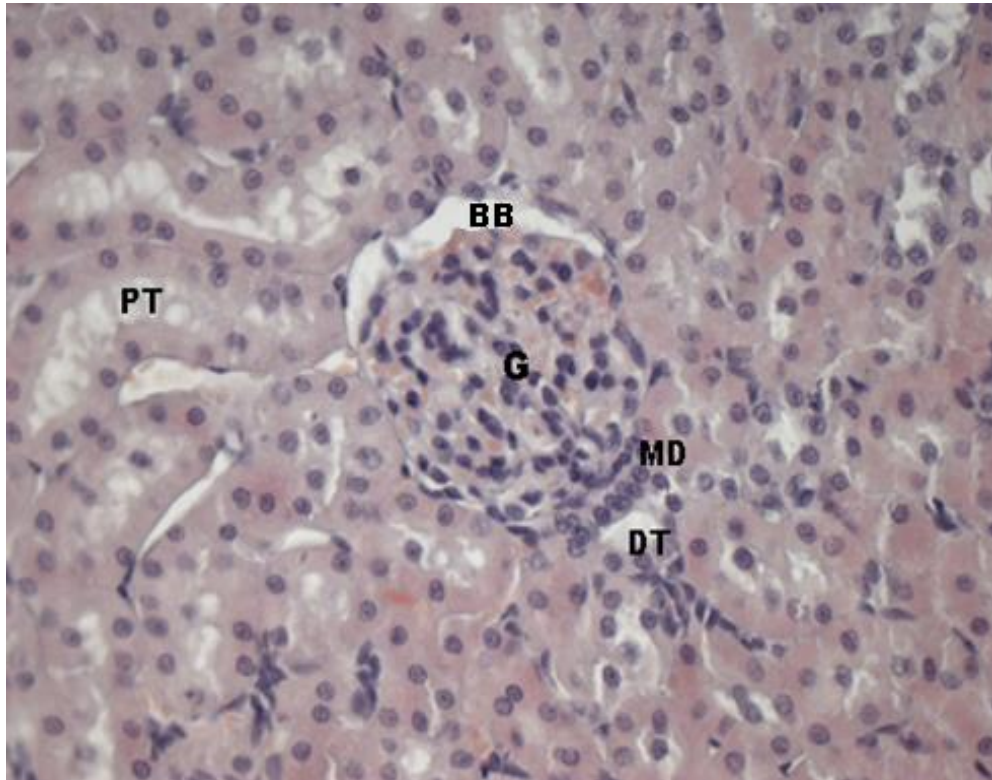
Şekil 34: 45 günlük 25 mg BPA grubuna ait böbrek dokusu, kan damarı etrafındaki bağ dokusu (*), böbrek cisimciği yapısı (G), proksimal (PT), distal tübülleri (DT) ve toplama kanalı (TK) görülmektedir (MTK, 20x).

4.1.2.3. 50 mg BPA Grubuna (Grup 3) Ait Bulgular

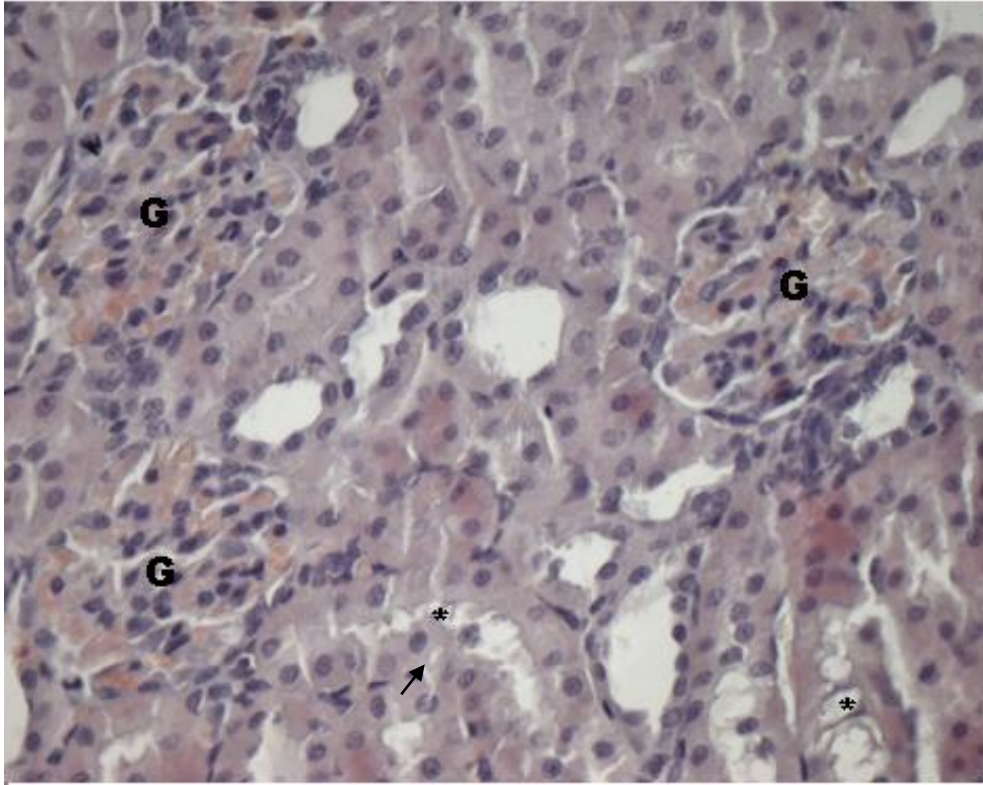
45 günlük 50 mg BPA grubuna ait yetişkin sıçan böbreklerinden alınan doku örnekleri ışık mikroskopunda küçük büyütmede incelendiğinde, kortekste böbrek cisimcikleri ve tübüller, medullada ise toplama kanalları ile tübüllerin yer aldığı gözlemlendi (Şekil 35). Yüksek büyütmede yapılan incelemelerde ise korteksteki böbrek cisimciklerinin çoğunda BPA kaynaklı kapiller yumakta genişlemeden dolayı Bowman boşluğunda daralma hatta bu boşluğun çoğunluğunda tamamen kapandığı gözlemlendi. Tübüllerde epitel hücrelerinin yıkımı yanında vakuol oluşumu da gözlemlendi (Şekil 36, 37). Medullada yer alan distal, proksimal tübül hücre ve epitelinde hücre kaybı ile deformasyon, vakuolleşme gibi ciddi hasarlar olduğu, distal tübüllerdeki hasarın proksimal tübüllerde daha fazla olduğu görüldü (Şekil 36). Toplama kanallarının kübik epitel hücrelerinin yer yer yassı epitel hücrelere dönüştüğü, bazı epitel hücrelerinin azaldığı ve bazı toplayıcı kanallarda da dilatasyon gözlemlendi (Şekil 38, 39). Masson trikrom ile boyanmış kesitlerde bağ dokusunda artışa ait bir değişim gözlemlenmedi (Şekil 40).



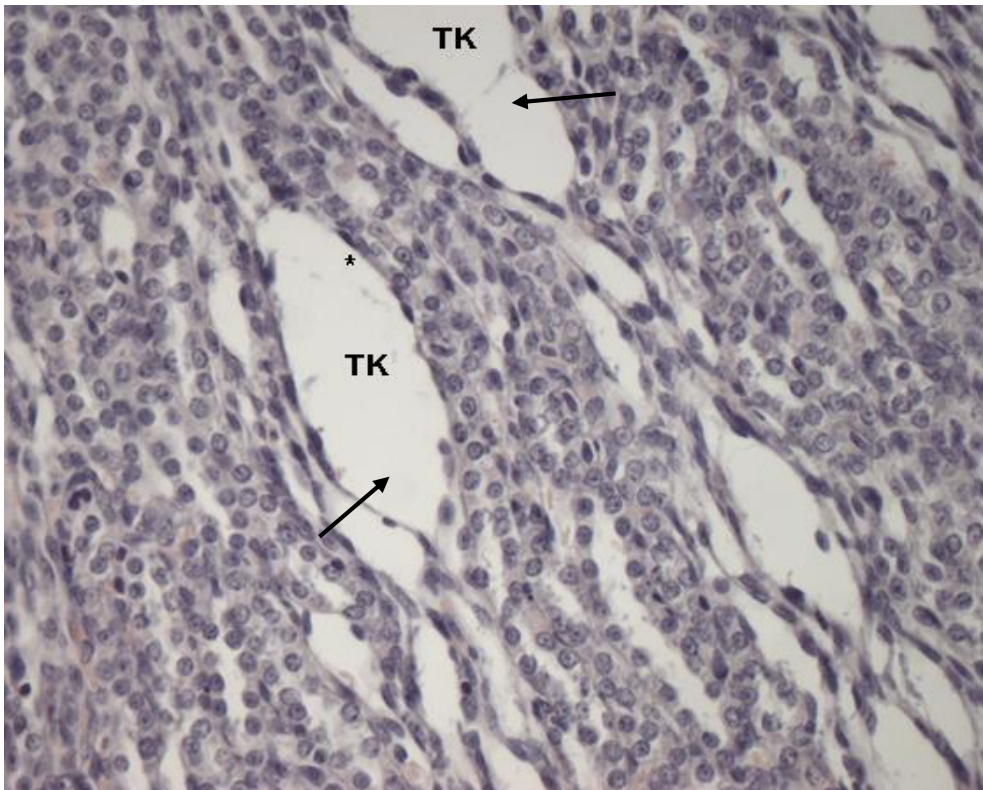
Şekil 35: 45 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek dokusunun genel görünümü. Korteks (K), medulla (M) (H&E, 4x).



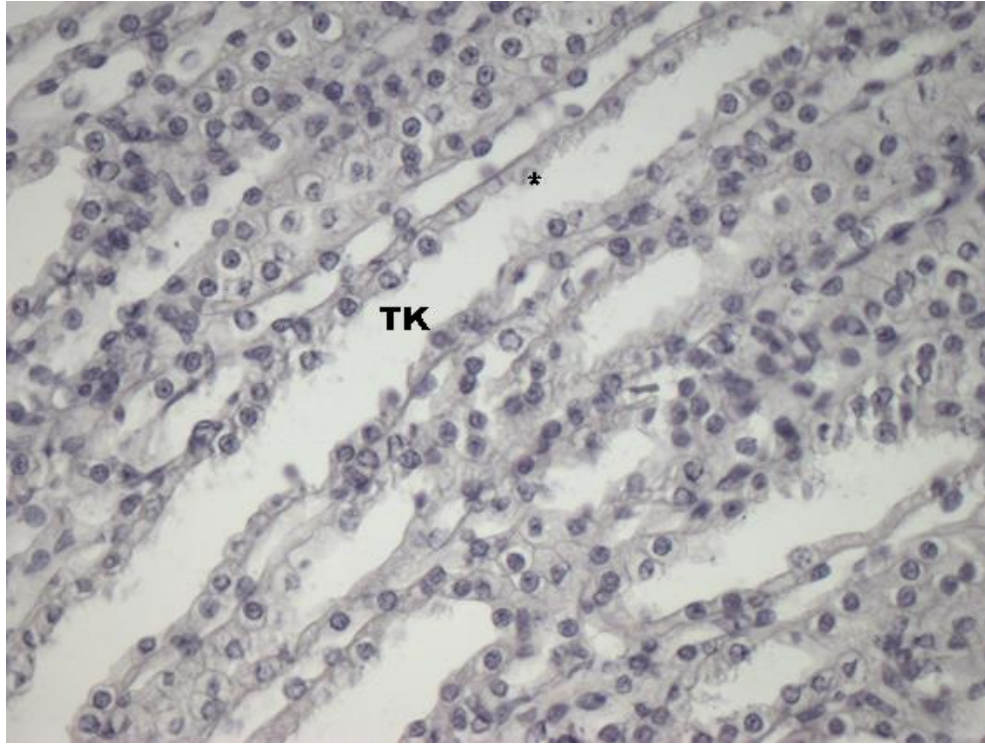
Şekil 36: 45 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek korteksinde yer alan böbrek cisimciği (G), Bowman boşluğu (BM), makula densa hücreleri (MD), proksimal tübüllerde hücre kaybı (PT) ve distal tübül (DT) gösterilmektedir (H&E, 40x).



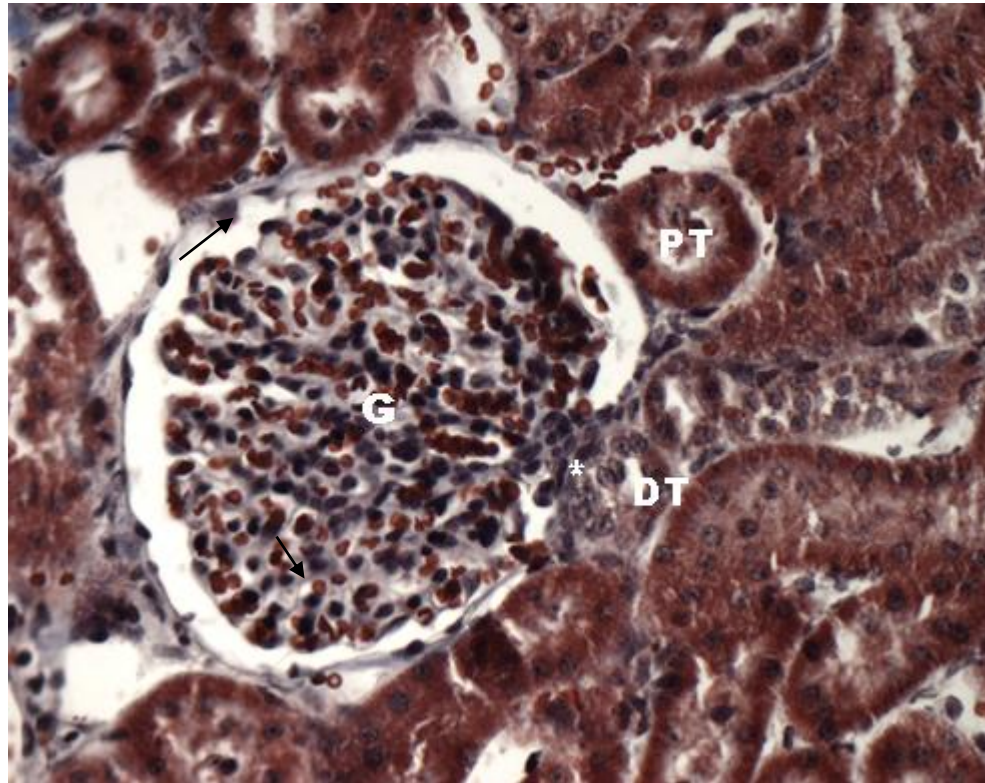
Şekil 37: 45 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek korteksi. Böbrek cisimciği (G), proksimal tübüllerde vakuolleşme (ok işareti) ve hücre kaybı (*) (H&E, 40x).



Şekil 38: 45 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek medullasındaki toplama kanalı (TK) hücrelerinde yassılaşıma (*) ve tübül dilatasyonu (Ok işareti) (H&E, 40x).



Şekil 39: 45 günlük 50 mg BPA grubuna ait böbrek dokusu. Medulla bölgesindeki toplama kanalı (TK) hücrelerinde azalma (*) (H&E, 40x).

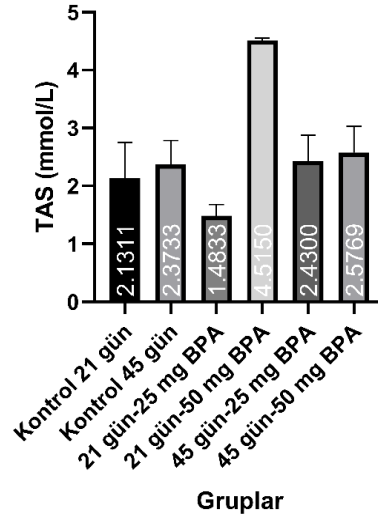


Şekil 40: 45 günlük 50 mg BPA grubuna ait Bowman kapsülü (ok işaretli), böbrek cisimciği (G), makula densa (*), proksimal tübül (PT) ve distal tübül (DT) gösterilmektedir (MTK, 40x).

4.2. Biyokimyasal Bulgular

4.2.1. Total Antioksidan Seviyesi Sonuçları

Total Antioksidan Seviyesi Grafiği



Şekil 41: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların TAS sonuçları.

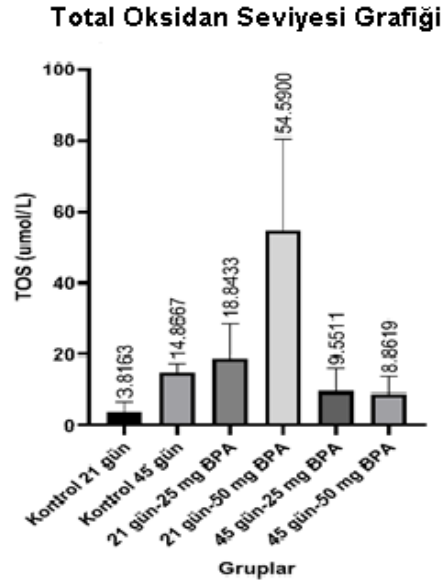
Tablo 3: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların TAS değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları.

Test details (Mean 1 vs. Mean 2)	Mean 1	Mean 2	Mean Diff,	SE of diff,	Summary	P Value
(21 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	2,131	1,483	0,6477	0,3113	Ns	0,3423
(21 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	2,131	4,515	-2,384	0,2756	****	<0,0001
(45 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	2,373	2,43	-0,05667	0,334	Ns	>0,9999
(45 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	2,373	2,577	-0,2035	0,3152	Ns	>0,9999
(21 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	1,483	4,515	-3,032	0,3826	****	<0,0001
(45 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	2,43	2,577	-0,1469	0,2087	Ns	>0,9999
25 mg BPA (21 gün) vs. 25 mg BPA (45 gün)	1,483	2,43	-0,9467	0,334	Ns	0,0536
50 mg BPA (21 gün) vs. 50 mg BPA (45 gün)	4,515	2,577	1,938	0,2801	****	<0,0001

Serumlardan çalışılan TAS değerlerinin analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek TAS değerinin 21 günlük 50 mg BPA grubuna (4,5150 mmol/L); en düşük TAS değerinin ise 21 günlük 25 mg BPA grubuna (1,4833 mmol/L) ait olduğu tespit edildi (Şekil 41). **** 21 günlük kontrol grubu (Grup 1) ile 21 günlük Grup 3 (50 mg BPA) arasında; 21 günlük Grup 2 (25 mg BPA) ile 21 günlük Grup 3 (50 mg BPA) arasında ve

21 ve 45 günlük 50 mg BPA grupları (Grup 3) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,0001$) (Tablo 3).

4.2.2. Total Oksidan Seviyesi Sonuçları



Şekil 42: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların TOS sonuçları.

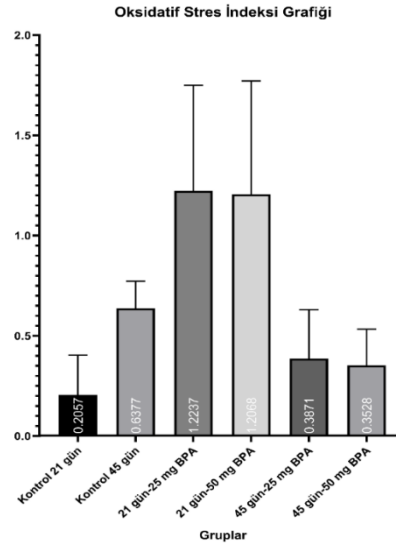
Tablo 4: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların TOS değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları.

Test details (Mean 1 vs. Mean 2)	Mean 1	Mean 2	Mean Diff,	SE of diff,	Summary	P Value
(21 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	3,816	18,84	-15,03	4,845	*	0,026
(21 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	3,816	54,59	-50,77	4,29	****	<0,0001
(45 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	14,87	9,551	5,316	5,199	Ns	>0,9999
(45 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	14,87	7,901	6,966	4,932	Ns	>0,9999
(21 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	18,84	54,59	-35,75	5,956	****	<0,0001
(45 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	9,551	7,901	1,65	3,288	Ns	>0,9999
25 mg BPA (21 gün) vs. 25 mg BPA (45 gün)	18,84	9,551	9,292	5,199	Ns	0,6426
50 mg BPA (21 gün) vs. 50 mg BPA (45 gün)	54,59	7,901	46,69	4,388	****	<0,0001

Serumlardan çalışılan TOS değerlerinin analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek TOS değerinin 21 günlük 50 mg BPA grubuna (54,5900 µmol/L); en düşük TOS değerinin ise 21 günlük kontrol grubuna (Grup 1) (3,8163 µmol/L) ait olduğu belirlendi (Şekil 42). * 21 günlük kontrol grubu (Grup 1) ile 21 günlük Grup 2 (25 mg BPA) arasında düşük derecede anlamlı fark; **** 21 günlük kontrol grubu (Grup 1) ile 21 günlük Grup 3

(50 mg BPA) arasında; 21 günlük 25 mg BPA (Grup 2) ile 21 günlük 50 mg BPA (Grup 3) arasında; 21 günlük ve 45 günlük 50 mg BPA grupları (Grup 3) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,0001$) (Tablo 4).

4.2.3. Oksidatif Stres İndeksi (OSİ) Sonuçları



Şekil 43: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların OSİ sonuçları.

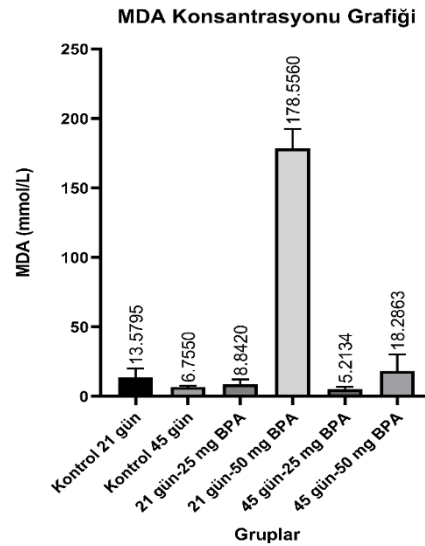
Tablo 5: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların OSİ değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları.

Test details (Mean 1 vs. Mean 2)	Mean 1	Mean 2	Mean Diff,	SE of diff,	Summary	P Value
(21 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	0,1519	1,224	-1,072	0,1528	****	<0,0001
(21 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	0,1519	1,207	-1,055	0,1356	****	<0,0001
(45 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	0,6377	0,3871	0,2506	0,1627	Ns	>0,9999
(45 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	0,6377	0,3528	0,2849	0,1535	Ns	0,5599
50 mg BPA (21 gün) vs. 50 mg BPA (45 gün)	1,207	0,3528	0,8539	0,1364	****	<0,0001
25 mg BPA (21 gün) vs. 25 mg BPA (45 gün)	1,224	0,3871	0,8366	0,1627	****	<0,0001
(21 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	1,224	1,207	0,01692	0,1864	Ns	>0,9999
(45 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	0,3871	0,3528	0,0343	0,1017	Ns	>0,9999

Serumlardan çalışılan OSİ değerlerinin analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek OSİ değerinin 21 günlük 25 mg BPA grubu (Grup 2) (1,224) ile 21 günlük 50 mg BPA grubuna (Grup 3) (1,207); en düşük OSİ değerinin ise 21 günlük kontrol grubuna (Grup 1) (0,1519) ait olduğu tespit edildi (Şekil 43). **** 21 günlük kontrol grubu (Grup 1)

ile 21 günlük Grup 2 (25 mg BPA) arasında; 21 günlük kontrol grubu (Grup 1) ile 21 günlük Grup 3 (50 mg BPA) arasında; 21 günlük ve 45 günlük 25 mg BPA grupları (Grup 2) ile 21 günlük ve 45 günlük 50 mg BPA grupları (Grup 3) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,0001$) (Tablo 5).

4.2.4. Malondialdehit (MDA) Seviyesi Sonuçları



Şekil 44: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının MDA konsantrasyonu sonuçları.

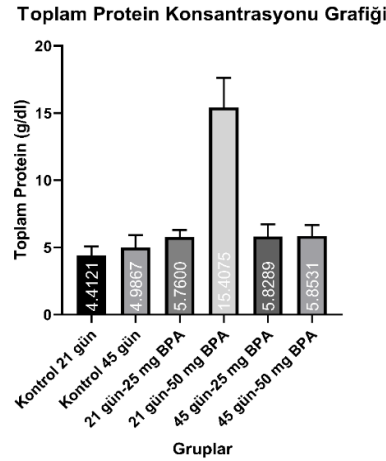
Tablo 6: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların MDA değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları.

Test details (Mean 1 vs. Mean 2)	Mean 1	Mean 2	Mean Diff,	SE of diff,	Summary	P Value
(21 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	13,58	8,842	4,737	5,308	ns	>0,9999
(21 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	13,58	178,6	-165	4,7	****	<0,0001
(45 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	6,755	5,213	1,542	5,696	ns	>0,9999
(45 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	6,755	18,29	-11,53	5,375	ns	0,2962
(21 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	8,842	178,6	-169,7	6,526	****	<0,0001
(45 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	5,213	18,29	-13,07	3,56	**	0,0048
25 mg BPA (21 gün) vs. 25 mg BPA (45 gün)	8,842	5,213	3,629	5,696	ns	>0,9999
50 mg BPA (21 gün) vs. 50 mg BPA (45 gün)	178,6	18,29	160,3	4,776	****	<0,0001

Serumlardan çalışılan MDA değerlerinin analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek MDA konsantrasyon değeri 21 günlük 50 mg BPA grubunda (Grup 3) (178,6 mmol/L); en düşük MDA değeri ise 45 günlük 25 mg BPA grubuna (Grup 2) (5,213 mmol/L) ait olduğu tespit edildi (Şekil 44). ** 45 günlük 25 mg BPA grubu (Grup 2) ile 45 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında düşük düzeyde anlamlı fark; **** 21 günlük

kontrol grubu (Grup 1) ile 21 günlük Grup 3 (50 mg BPA) arasında; 21 günlük 25 mg BPA grubu (Grup 2) ile 21 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında; 21 günlük ve 45 günlük 50 mg BPA grupları (Grup 3) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,0001$) (Tablo 6).

4.2.5. Toplam Protein Seviyesi Sonuçları



Şekil 45: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının toplam protein (TP) değerleri.

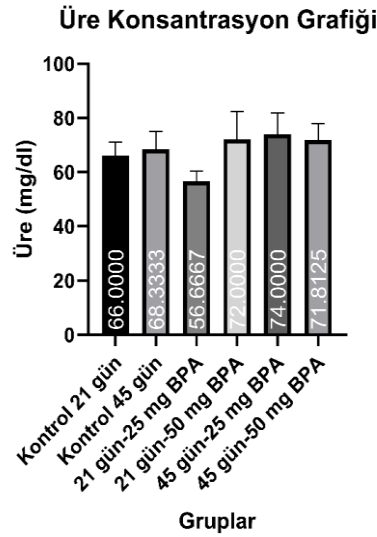
Tablo 7: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3' teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların TP değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları.

Test details (Mean 1 vs. Mean 2)	Mean 1	Mean 2	Mean Diff,	SE of diff,	Summary	P Value
(21 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	4,412	5,76	-1,348	0,5768	ns	0,1893
(21 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	4,412	15,41	-11	0,5107	****	<0,0001
(45 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	4,987	5,829	-0,8422	0,6189	ns	>0,9999
(45 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	4,987	5,853	-0,8665	0,5841	ns	>0,9999
25 mg BPA (21 gün) vs. 25 mg BPA (45 gün)	5,76	5,829	-0,06889	0,6189	ns	>0,9999
50 mg BPA (21 gün) vs. 50 mg BPA (45 gün)	15,41	5,853	9,554	0,519	****	<0,0001
(21 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	5,76	15,41	-9,648	0,7091	****	<0,0001
(45 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	5,829	5,853	-0,02424	0,3868	ns	>0,9999

Serumlardan çalışılan TP değerlerinin analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek TP konsantrasyon değeri 21 günlük 50 mg BPA grubunda (Grup 3) (15,41 g/dL); en düşük TP değeri ise 21 günlük kontrol grubuna (Grup 1) (4,412 g/dL) ait olduğu tespit edildi (Şekil 45). **** 21 günlük kontrol grubu (Grup 1) ile 21 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında; 21 günlük ve 45 günlük 50 mg BPA grupları (Grup 3) arasında ve 21 günlük 25 mg BPA grubu (Grup 2) ile 21 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,0001$) (Tablo 7). 21 günlük 50 mg BPA grubunda

en yüksek toplam protein konsantrasyonu seviyesine rastlanması BPA'nın proteinüriye neden olduğunu destekler niteliktedir.

4.2.6. Üre Seviyesi Sonuçları



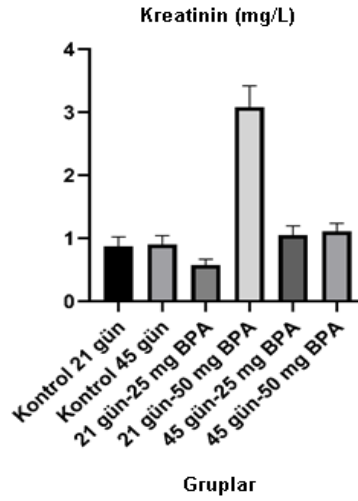
Şekil 46: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının üre sonuçları.

Tablo 8: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3'teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların üre değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları.

Test details (Mean 1 vs. Mean 2)	Mean 1	Mean 2	Mean Diff,	SE of diff,	Summary	P Value
(21 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	66	56,67	9,333	3,978	ns	0,1851
(21 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	66	72	-6	3,522	ns	0,7596
(45 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	68,33	74	-5,667	4,269	ns	>0,9999
(45 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	68,33	71,81	-3,479	4,028	ns	>0,9999
50 mg BPA (21 gün) vs. 50 mg BPA (45 gün)	72	71,81	0,1875	3,579	ns	>0,9999
25 mg BPA (21 gün) vs. 25 mg BPA (45 gün)	56,67	74	-17,33	4,269	**	0,0014
(21 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	56,67	72	-15,33	4,89	*	0,0234
(45 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	74	71,81	2,188	2,668	ns	>0,9999

Serumlardan çalışılan üre değerlerinin analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek üre konsantrasyon değeri 45 günlük 25 mg BPA grubunda (Grup 2) (74 mg/dL); en düşük üre değeri ise 21 günlük 25 mg BPA grubuna (Grup 2) (56,67 mg/dL) ait olduğu tespit edildi (Şekil 46). * 21 günlük 25 mg BPA grubu (Grup 2) ile 21 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında; ** 21 günlük ve 45 günlük 25 mg BPA grupları (Grup 2) arasında düşük düzeyde anlamlı bir fark olduğu saptandı ($p < 0,0001$) (Tablo 8).

4.2.7. Kreatinin Seviyesi Sonuçları



Şekil 47: Grup 1 (Kontrol) (21-45 gün), Grup 2 (25 mg BPA) (21-45 gün), Grup 3 (50 mg BPA) (21-45 gün) sıçanlarının kreatinin düzeyleri.

Tablo 9: Grup 1 (Kontrol), Grup 2 (25 mg BPA) ve Grup 3' teki (50 mg BPA) 21 ve 45 günlük sıçanların kreatinin değerlerinin istatistiksel analiz sonuçları.

Test details (Mean 1 vs. Mean 2)	Mean 1	Mean 2	Mean Diff,	SE of diff,	Summary	P Value
(21 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	0,8695	0,5767	0,2928	0,09917	*	0,0389
(21 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	0,8695	3,083	-2,213	0,08782	****	<0,0001
(45 gün) Kontrol vs. 25 mg BPA	0,9	1,052	-0,1522	0,1064	ns	>0,9999
(45 gün) Kontrol vs. 50 mg BPA	0,9	1,107	-0,2069	0,1004	ns	0,3589
(21 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	0,5767	3,083	-2,506	0,1219	****	<0,0001
(45 gün) 25 mg BPA vs. 50 mg BPA	1,052	1,107	-0,05465	0,06651	ns	>0,9999
25 mg BPA (21 gün) vs. 25 mg BPA (45 gün)	0,5767	1,052	-0,4756	0,1064	***	0,0004
50 mg BPA (21 gün) vs. 50 mg BPA (45 gün)	3,083	1,107	1,976	0,08924	****	<0,0001

Serumlardan çalışılan kreatinin değerlerinin analiz sonuçlarına bakıldığında en yüksek kreatinin seviyesi 21 günlük 50 mg BPA grubunda (Grup 3) (3,083 mg/L); en düşük kreatinin değeri ise 21 günlük 25 mg BPA grubuna (Grup 2) (0,5767 mg/L) ait olduğu tespit edildi (Şekil 47). * 21 günlük 25 mg BPA grubu (Grup 2) ile 21 günlük kontrol grubu (Grup 1) arasında düşük düzeyde anlamlı fark; *** 21 günlük ve 45 günlük 25 mg BPA grupları (Grup 2) arasında orta düzeyde anlamlı fark; **** 21 günlük kontrol grubu (Grup 1) ile 21 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında; 21 günlük 25 mg BPA grupları (Grup 2) ile 21 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında; 21 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) ile 45 günlük 50 mg BPA grubu (Grup 3) arasında yüksek düzeyde anlamlı fark olduğu saptandı ($p < 0,0001$) (Tablo 9).

5. TARTIŞMA

Günümüzde endüstrileşmenin artmasıyla çevre kirliliğine sebep olan çeşitli kimyasallar insan sağlığını olumsuz etkilemektedir. Bu ürünlerin önemli bir bölümünün çevrede yoğun dağılımı nedeniyle bireylerin bunlarla doğrudan maruziyeti kaçınılmazdır ve gıdalarla aşırı miktarlarda vücuda alınmaktadır (Liao ve Kannan 2014, Ayazgök ve Küçükkılınç 2017, Esplugas vd 2018).

Günlük hayatta maruz kaldığımız bu kimyasallar başta endokrin sistem olmak üzere birçok sisteme etki ederek kronik hastalıkların ortaya çıkmasına sebep olmaktadır. Metabolik bozukluklar, kanser ve doğurganlık ve gelişimdeki değişiklikler gibi hastalık etiolojisinde rol oynadığı öne sürülen bu kimyasallar “endokrin bozucu kimyasallar” olarak tanımlanmıştır (Gore vd 2015, ECHA 2017). Bu maddeler, üreme disfonksiyonu, obezite, diyabet gibi diğer rahatsızlıkların gelişmesine sebep olabileceği belirtilmiştir (Li vd 2018).

Endüstriyel olarak üretilen çevresel kirleticilerin başında, dünya çapında yüksek hacimlerde kullanılan fenolik bir bileşik olan BPA gelmektedir (Gore vd 2015). BPA, polikarbonat plastik ve epoksi reçinelerin üretiminde kullanılmaktadır. Plastik kaplar, su şişeleri, çocuk oyuncakları, tıbbi cihazlar, diş macunları ve yazar kasa makbuzları dahil olmak üzere birçok tüketici ürününde de BPA bulunmaktadır (Vandenberg vd 2010, Geens vd 2012, Mendonca vd 2014, Huang vd 2018). İnsanlar sürekli olarak farklı kaynaklardan BPA'ya maruz kalır, diyet ve dermal temas ana maruz kalma yollarıdır (Bernier ve Vandenberg 2017, Huang vd 2018). Bisfenol-A, oral yoldan vücuda alındıktan sonra, bağırsaklardan hızlı bir şekilde emilmekte; glomerüler filtrasyon hızının düşük olduğu durumlarda vücutta birikmektedir. Vücutta biriken BPA, ilk karaciğerde eliminasyona uğrayarak glukuronik asit ile konjuge edilmekte ve böbrekler tarafından idrar ile vücuttan atılmaktadır (Yaprak vd 2016, Ola-Davies ve Olukole 2018, Poormoosavi vd 2018). Ancak BPA'nın vücutta biyobirikim özelliklerine sahip olduğu gösterilmiştir ve kan, idrar, süt ve plasenta dahil olmak üzere farklı insan biyolojik örneklerinde ölçülmüştür (Andriana vd 2004, Vandenberg vd 2010, Johnson vd 2015, Mercogliano ve Santonicola 2018). BPA'nın böbrek, testis, beyin, kalp, karaciğer ve pankreas dahil olmak üzere birçok hayati organlarda birikim yaptığı ve bunun sonucunda da organların fonksiyonunu etkilediği gösterilmiştir (Kobroob vd 2018, Wang vd 2018). Örneğin BPA'nın tiroid hormon reseptörleri, androjen reseptörleri ile etkileşim halinde olduğu ve bu reseptörlere bağlanabildiği; merkezi sinir sistemi, kardiyovasküler sistem, solunum sistemi, boşaltım sistemi ve immün sistem üzerinde de BPA maruziyetinin olumsuz etkilerinin olduğu yapılan çalışmalarla tespit edilmiştir (Yuan vd 2019). Birkaç

çalışma, yaşam boyu BPA'ya maruz kalmanın obezite ve diyabet gibi hastalıkların ortaya çıkmasını desteklediğini, ayrıca davranışsal ve üreme değişikliklerini indüklediğini göstermektedir (Matthews vd 2001, Kurosawa vd 2002, Moriyama vd 2002, Chevrier 2013, Eladak vd 2015).

BPA ile ilgili yapılan deneysel çalışmaların büyük bölümünün, BPA'nın erişkin hayvanların kendi organları üzerine morfolojik ve biyokimyasal etkilerini incelemek üzere planlandığı görülmektedir. Bu araştırmalarda BPA'nın organizmadaki farklı organları kullanılan dozun miktarına ve süresine göre etkilediği görülmektedir. Biz çalışmamızı annenin maruz kaldığı BPA'nın doğum sonrasında yavru organlar üzerine etki yapabileceği hipotezi üzerine kurguladık. Organ gelişimin değerlendirilmesi amacıyla çalışmamızda böbrek dokusunu ele aldık. Literatür taramasında, maternal maruziyet sonrası BPA'nın böbrek gelişimi üzerine etkilerini inceleyen çalışmaların az ve olanların da çelişkili olduğunu gördük. Bu amaçla gebelik sırasında ve laktasyon döneminde BPA uygulanan annelerden doğan yavruların böbreklerinin gelişimini, dolaylı olarak maruz kalınan BPA'nın gelişmekte olan böbreklerin histolojik yapıları üzerine etkilerini ve ayrıca antioksidan mekanizmaları bozup bozmadığını değerlendirmek istedik. Çalışmamızda sıçanlara gebelik süresince ve doğum sonrası 21. güne kadar BPA'nın etkilerinin görülebileceği yüksek doz olan 25 mg ve 50 mg BPA ip enjeksiyon yapıldı. Ayrıca, kontrol grubu dışında süttten kesildiği, BPA uygulamasının sonlandırılmış olduğu puberte öncesi 21. günde ve ergenlik dönemine girmiş olduğu 45. günde böbrek dokuları ve kan örnekleri alındı. Alınan örnekler histopatolojik ve biyokimyasal olarak değerlendirildi. Böylece 45. günde BPA'nın etkilerinin de devam edip etmediğini yani en azından 45 günlük süre içinde kalıcı olup olmadığını da değerlendirmiş olduk.

Gelişmekte olan fetüsün, endokrin bozucu kimyasal maddelere karşı yüksek duyarlılığa sahip olabileceğine dair bazı bilgiler vardır. Fetüste, çeşitli kimyasalların farmakokinetiği değiştirilebilmekte ve fetüs endokrin bozuculara maruz kaldığında yüksek bir fetal duyarlılığa sahip olabilmektedir. Farklı araştırmalar gebelik ve emzirme gibi kritik gelişim dönemlerinde maternal BPA maruziyetinin değişik organlar üzerindeki zararlı etkilerinin olabileceğini göstermektedir. Bu nedenle birçok çocuk ürününde BPA'nın kullanımının yasaklandığı belirtilmektedir (Wassenaar vd 2017). Amniyon sıvısı, yenidoğan kanı, plasenta, göbek kordonu kanı ve anne sütünde BPA tespit edilmiş olup, bu bileşiğin anneden çocuğa doğum öncesi plasenta yoluyla ve doğum sonrası laktasyonla geçebileceğini göstermektedir (Vandenberg vd 2007). Gebelik sırasında BPA'ya maruz kalan bebeklerde ve yetişkin yavrularda artmış vücut kütlesinin geliştiği gözlenmiştir (Rubin vd 2001). Yine, gebelik ve emzirme döneminde BPA'ya maruz kalan yavrularda kahverengi adipoz dokuda daha fazla lipid birikimi olduğu ortaya çıkmıştır

(Van Esterik vd 2014). BPA'nın fetal gelişimi bozduğuna dair değişik kanıtlar ortaya konmuştur. Prenatal BPA maruziyetinin çalışıldığı hayvan modellerinde çeşitli nörodavranış bozuklukları (saldırganlık, anksiyete, depresyon vb.) (Braun 2017) ile seks hormonlarındaki ve üreme bozukluklarındaki değişiklikler arasında bağlantının olduğu ileri sürülmüştür (Tarapore vd 2017). İnsanlarda ve kemirgenlerde gebelik ve/veya emzirme sırasında farklı BPA dozlarının serum testosteron seviyesini azalttığı gösterilmiştir (Akingbemi vd 2004, Ma vd 2017).

BPA'nın etkileri ile ilgili mevcut olan tüm verilere rağmen, özellikle gebelik ve emzirme dönemini kapsayan dönemde BPA'ya maruz kalmanın kısa ve uzun vadeli etkilerini değerlendirmek için daha önce yapılmış çok fazla çalışma bulunmamaktadır. Bu nedenle, bu çalışmada gebelik ve emzirme döneminde yüksek BPA dozlarına (25 ve 50 mg/kg) maruz kalmanın kısa (21 gün) ve uzun vadeli (45 gün) etkilerini çeşitli parametreler kullanarak araştırdık. Endokrin bozucu kimyasallar arasında BPA, fetal maruziyetle ilgili olarak en çok tartışılan maddelerden biridir. Kordon plazmasında maternal plazmaya göre BPA seviyesinin önemli ölçüde daha yüksek gösterilmesi (Kolatorovaa vd 2018), fetal yapılarda birikmiş BPA varlığı, ayrıca dolaşımdaki maternal BPA'nın insan plasentası üzerinden aktarılabilirdiği ve fetüsün kordon kanına geçebildiğini gösteren bulgular (Balakrishnan vd 2010, Pinney vd 2017) çalışmamızın yol göstericisi olmuştur. Projenin kurgulanması sırasında BPA'nın plasentadan fetüse ve süttten yenidoğana geçtiği kabulü ile hipotezimiz ortaya konmuştur.

Takahasi ve Oishi (2020), BPA'nın plasental transferi ve emilimi üzerine yapmış oldukları çalışmada hamile sıçanlar gebeliğin 18. gününde 1 g/kg dozda BPA'ya oral gavaj yoluyla maruz bırakılmışlardır. BPA uygulamasından 10, 20, 30, 40 dakika ve 1, 2, 4, 6, 12, 24 ve 48 saat sonra BPA'nın karaciğer, böbrek, fetüs ve maternal serumdaki BPA konsantrasyonlarını, emilim sürelerini ve BPA'nın plasentadan geçişinin olup olmadığını incelemişlerdir. Yapmış oldukları bu çalışma sonucunda BPA'nın organlarda ve fetüste emiliminin hızlı olduğunu; plasentanın koruyucu bir bariyer olmadığını buradan da BPA'nın kolayca geçebileceği sonucuna varmışlardır. BPA'nın organlardaki emilim sürelerini incelediklerinde de böbrekteki ve fetüsteki emilim süresinin gavaj uygulamasından 20 dakika sonra maksimum seviyeye ulaştığını tespit etmişlerdir (Takahashi ve Oishi 2000).

Shin vd (2002), Bisfenol-A'nın plasental transferi ile plasenta, fetüs, maternal serum ve amniyotik sıvıya yayılımı üzerine inceleme yapmışlardır. Gebeliğin 17-19. gününde 2 mg/kg BPA'yı intravenöz enjeksiyon yoluyla uygulamışlardır. BPA uygulamasından 5, 10, 15, 30 dakika ve 1, 2, 4, 6, 8 saat sonra plasenta, fetüs, amniyotik sıvı ve maternal serumda BPA dağılım hızı ile BPA'nın yarılanma ömrü, konsantrasyon

dağılım alanını, maksimum konsantrasyona ulaştığı zaman dilimlerine ve BPA'nın aktarım hızı sabitleri ile klirens değerlerine bakılmıştır. Çalışma sonucunda da BPA'nın plasentaya, fetüse ve amniyotik sıvıya dağılımının hızlı bir şekilde gerçekleştiğini, amniyon sıvısında BPA birikiminin diğer plasenta, fetüs, maternal serumdakine göre daha az olduğunu ve maksimum konsantrasyon düzeyine intraventriküler (iv) enjeksiyondan sonra 0,6 saat (36 dakika) içinde ulaşıldığını tespit etmişlerdir (Shin vd 2002).

Nefrogenez yani böbrek gelişimi oldukça karmaşık bir süreçtir. Böbrek gelişimi insanlarda yaklaşık olarak gebeliğin 5. haftasında başlamakta ve 36. hafta civarında sona ermektedir (Quaggin ve Kreidberg 2008). Bu süreç sonunda, bireylerde farklılık gösterse de her bir böbrekte yaklaşık 250.000-1.000.000 arasında nefron oluşmaktadır (Nyengaard ve Bendtsen 1992, Hughson vd 2006). İnsanlarda doğumdan sonra yeni nefron oluşmamakta; böbreğin yetişkin boyutuna kadar büyümesi sadece hipertrofik büyümeye dayanmaktadır. Bununla birlikte, intrauterin dönemde böbreklerin büyümesi üzerine etkili olan faktörlerin nefron sayısında azalmaya yol açtığı bazı çalışmalarda gösterilmiştir (Schreuder vd 2006). Örneğin nefrogenezin tamamlanmasından önce gerçekleşen bir erken doğumun yeterli sayıda nefronun gelişmediğini gösteren veriler bulunmaktadır (Rodriguez vd 2004, Rodriguez vd 2005). Yetersiz nefron gelişimi, ekstrauterin büyümenin engellenmesi ile ortaya çıkabilmekte ve bu durum insanlarda prematüre bebeklerde oldukça yaygın görülmektedir (De Curtis ve Rigo 2004, Schreuder vd 2006). Prematüre bebeklerde doğum sonrası dönemde kullanılan nefrotoksik ilaçlar da nihai nefron sayısını etkileyebilmektedir. İlaç etkileri ışığında önemli bir örnek de renal tübüler disgenezdir.

Sıçanlarda nefrogenez 12. embriyonik günde başlamakta, doğumdan 10 ile 15 gün sonra da tamamlanmaktadır (Nigam vd 1996). Bu farklılık dışında, insan ve sıçanlarda böbrek gelişimi birbirine benzemektedir. Bu nedenle yenidoğan sıçanlar ve farelerdeki böbrek gelişiminin insanlarla karşılaştırılabileceği ve ilaçların böbrek gelişimi üzerindeki etkilerini incelemek için uygun bir model olabilecekleri belirtilmektedir (Schreuder vd 2011).

Böbreğin kongenital anomalilerinin spektrumu oldukça geniştir ve intrauterin dönemde zararlı bir çevresel faktöre maruz kalmanın, fetüsün veya yavruların fizyolojini ve metabolizmasını uzun vadeli sonuçlarla kalıcı olarak bozduğu belirtilse de fetal dönemde kullanılan ilaçların veya kimyasalların böbrek gelişimi üzerine etkileri hakkında çelişkili bilgiler bulunmaktadır (Barker vd 2006, Kerecuk vd 2008). Yetersiz sayıda nefron gelişiminin erişkin dönemde böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilecek sağlık sorunlarına yol açabileceği düşüncesi ile çeşitli ilaçların ve/veya kimyasal maddelerin doku ve organ

gelişimleri üzerine etkilerini incelemek toplum sağlığı açısından önemli hale gelmektedir (Luyckx ve Brenner 2010). İnsanlarda uzun gebelik dönemi nedeniyle, anne tarafından düzenli maruz kalınan maddeler hem annenin hem de plasentadan geçebildiği takdirde fetüsün metabolizması üzerinde etkili olabilecektir. Sıçanların gebelik sürelerinin kısa olması ise benzer kimyasalların etkilerinin incelenmesi için bir handikaptır ve etkilerini incelemek için çalışmalarda yüksek dozların kullanılması tercih edilmektedir.

Farklı şekillerde organizmaya alınan çevresel kimyasal maddeler birçok organda olduğu gibi böbrek fonksiyonları üzerine de etki edebilmektedir (Langley-Evans vd 1998). Bu şekilde bir bireyin beslenme alışkanlıkları kardiyovasküler hastalıklar ve hipertansiyon gibi farklı hastalıkların ortaya çıkışına sebep olabilir. Son zamanlarda doğum öncesi ve doğum sonrası dönemde maternal beslenmenin çocukta organogenezi etkilediği ve fonksiyonel bozulmaya yol açabildiği ile ilişkin çalışmalar yaygınlaşmaktadır. İntrauterin ve perinatal olayların ileri yaşlarda organ fonksiyonlarını etkileyebileceği kavramı perinatal programlama olarak adlandırılmaktadır (Julie 2002). Değişik çalışmalardan elde edilen veriler intrauterin ve/veya perinatal dönemde kimyasal maruziyetin çocukluk çağında veya erişkinde böbrek fonksiyonlarının etkilenebileceğini göstermiştir (Richter vd 2016).

Biz bu çalışmamızda, BPA'nın doğrudan kullandığımız deney hayvanları üzerine etkilerini değil, prenatal dönemde ve laktasyon sırasında, anneye uygulanan BPA'nın yavru da böbrek gelişimi üzerine etkilerini doğum sonrası 21. günde laktasyonun kesilmesi sırasında ve ergenlik dönemine girmiş 45. günde etkilerini incelemek istedik. Böylece sadece anne yoluyla dolaylı şekilde BPA'ya maruz kalan yavrularda, maruziyetin hemen ardından (21. gün) ve laktasyon sonrası 21. günden 45. güne kadar BPA uygulaması yapılmayan hayvanlardaki böbrek dokularını inceleyerek, anne maruziyetinin erişkin döneme geçen yavruların böbreklerinde de kalıcı etkisinin olup olmadığını araştırdık. Bu nedenle, doğrudan BPA'ya maruz kalan hayvanlarda gözlenen bulgular ile bizim bulgularımız arasında bir miktar farklılık gözlenmektedir.

BPA üzerine yapılan deneysel çalışmaların çoğunda, değerlendirmeler genel olarak BPA uygulanan hayvanların kendi üzerlerinde elde edilen bulgular ile yapılmıştır (Edres vd 2018, Aydos ve Boyacıoğlu 2019). Bu çalışmaların sonucunda en fazla gözlenen morfolojik bulgular böbrek cisimciğinde Bowman boşluğunda daralma, proksimal, distal tübüller ve toplama kanallarında dilatasyon, tübül epitellerinde hücre kaybı, vakuolleşme gibi yapısal hasarlar olmuştur. Biz yapmış olduğumuz bu çalışmada anne yoluyla dolaylı şekilde BPA'ya maruz kalan 21 günlük yavrularda BPA maruziyeti sonucunda glomerül filtrasyon hızında yavaşlamadan dolayı böbrek cisimciğindeki

Bowman boşluğunun daraldığını; proksimal, distal tübüller ve toplama kanallarında dilatasyon ile vakuolleşme meydana geldiğini; tübül epitel hücrelerinde de yer yer hücre kaybı olduğunu gözlemledik. Laktasyon dönemi bitiminde BPA uygulamasını sonlandırmamıza rağmen BPA'nın etkilerinin devam ettiğini yani 45 günlük yetişkin sıçanlarda da Bowman boşluğunun daraldığını hatta çoğunda bu boşluğun kapandığını, tübüllerde dilatasyon ile epitel hücrelerinde deformasyon olduğunu tespit ettik. Bu çalışma ile BPA maruziyetinin doku ve organlarda kalıcı hasarlara sebep olabileceğini göstermiş olduk.

Endokrin bozucu kimyasalların hücresel antioksidan mekanizmalarını etkilediği ve hücre farklılaşmasını bozduğu bilinmektedir (Hotchkiss vd 2008). Kabuto vd (2004), BPA'ya maruz kalan farelerde beyin, karaciğer, böbrek ve testislerde endojen antioksidan kapasite ile oksidatif hasardaki değişiklikleri araştırdıkları çalışmada fareler embriyonik/fetal yaşamları boyunca ve emzirme sırasında hamile/emziren anneleri BPA içeren içme suyu (5 µg/mL, 10 µg/m) ile besleyerek BPA'ya maruz bırakmışlardır. Deney bitiminde embriyonik/fetal yaşam boyunca ve laktasyon döneminde BPA'ya maruz kalmanın reaktif oksijen türleri ve peroksidasyonunu indükleyerek dokuda oksidatif hasara sebep olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca ortaya çıkan oksidatif hasardan dolayı da beyin, testis, karaciğer ve böbrekte organ gelişiminin normal gelişime göre geri olduğunu tespit etmişlerdir (Kabuto vd 2004).

Atay vd (2019), gebe sıçanlar üzerinde yapmış oldukları çalışmada BPA'nın prenatal dönemde maruziyeti sonucunda fetal kemik gelişimine etkisini araştırmışlardır. 0.5 mg/kg/gün, 5 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün doz BPA olmak üzere gebe sıçanlara farklı dozlarda uyguladıkları BPA maruziyeti sonucunda yenidoğan sıçanların doğum ağırlıklarının daha düşük, baş-kalça uzunluklarının daha kısa, kemik gelişiminde gecikme ve kemikleşme oranlarının daha düşük olduğunu tespit etmişlerdir (Atay vd 2019).

Edres vd (2018), BPA'nın böbrek hasarına sebep olup olmadığını araştırdıkları çalışmada sıçanları 70 gün boyunca oral yolla 50 mg/kg/gün BPA'ya maruz bırakmışlar ve BPA uygulamasından sonra serum üre, kreatinin düzeylerinde artış olduğunu; reaktif oksijen türlerinin oluşumu, böbrek tübüllerinde dejeneratif değişiklikler, hidronefroz ile birlikte böbrek cisimciği Bowman boşluğunda daralma, kortikal renal kan damarlarında belirgin genişlemelerle intertübüler hemorajik alanların ortaya çıktığını tespit etmişler ve BPA'nın böbrek dokularında ciddi hasarlara sebep olduğu sonucuna varmışlardır. Biz de yapmış olduğumuz çalışmada 21 günlük 50 mg/kg/gün BPA grubu sıçanlarının analiz sonuçlarında kontrol ve 25 mg BPA grubuna oranla serum üre, toplam protein, kreatinin

düzeyleri ile yapılan TAS, TOS, MDA testleri sonuçlarının daha yüksek; buna bağlı olarak da böbrek dokusunda yüksek doz BPA kaynaklı hasarın daha fazla olduğunu tespit ettik. Laktasyon bitiminde yavru sıçanlar sütten kesildiği için anne yoluyla BPA'ya maruz kalmadılar. Fakat yine de vücutlarında gebelik ve laktasyon sürecinde BPA birikimi meydana geldiği için 45 günlük 25 mg BPA ve 45 günlük 50 mg BPA sıçanlarının da biyokimyasal analizlerinin sonuçlarının kontrol grubuna göre daha yüksek; 21 günlük 25 mg BPA ve 21 günlük 50 mg BPA grubu sıçanlarının değerlerine oranla da daha düşük olduğunu belirledik. Ayrıca histopatolojik incelemelerimiz sonucunda da böbrek tübüllerinde dejenerasyon özellikle proksimal tübüllerde hücre kaybı ile vakuolizasyon, böbrek cisimciğinde yapısal bozulmalar, Bowman boşluğunda daralmalar ile renal kan damarlarında genişlemeler olduğunu gözlemledik. Bundan dolayı yapmış olduğumuz bu çalışma Edres vd (2018) öne sürmüştüğü hipotezi destekler niteliktedir (Edres vd 2018).

Korkmaz vd (2009), BPA ile ilgili yapmış olduğu çalışmada BPA'ya maruz kalan sıçanlar 50 gün boyunca (haftada 3 gün) oral yolla 25 mg/kg/gün BPA'ya maruz bırakılmıştır. Deney bitiminde sıçanlar sakrifiye edilerek serumlarından toplam protein, kreatinin ve malondialdehit değerleri çalışılarak böbrek dokusundaki MDA düzeylerinin kontrollere göre daha yüksek olduğunu, serum kreatinin ve toplam protein düzeylerinde ise anlamlı bir fark olmadığını tespit etmişlerdir (Korkmaz vd 2009). Biz de yapmış olduğumuz bu çalışmada dişi sıçanları kontrol, 25 mg/kg/gün ve 50 mg/kg/gün olmak üzere 3 gruba ayırarak anne sıçanları 5 hafta BPA'ya maruz bırakıp yenidoğan yavru sıçanlardaki etkilerini inceledik. Çalışmamız sonucunda yapılan istatistiksel analizler kontrol grubuna oranla BPA gruplarının MDA seviyelerinin daha yüksek olduğunu; kreatinin ve toplam protein düzeylerinin de kontrol grubu ile 21 günlük 50 mg BPA grubu arasında anlamlı derecede fark olduğunu göstermektedir.

Bu çalışmada yüksek doz BPA uygulaması yapıldı ve TAS, TOS, MDA, total protein, üre ve kreatinin düzeylerinin 50 mg/kg BPA uygulanan gruplarda 25 mg/kg BPA uygulananlara göre hem 21 günlük hemde 45 günlük 50 mg/kg BPA gruplarında daha yüksek olduğunu gördük. Bu da yüksek dozların daha etkili olduğunu göstermektedir. BPA dozu yüksek olduğunda, oksidatif hasar eski haline getirilemeyecek kadar keskin olabilmektedir. Belki düşük doz maruziyetlerde hücrelerin geri dönüşümlü tedavi yetenekleri ile düzelmeye gözlenebilecektir. Birlikte ele alındığında, oksidatif stresin BPA maruziyeti tarafından indüklendiği ve histopatolojik sonuçlarla birlikte maternal maruziyetin yavrularda kalıcı olabilen böbrek hasarına neden olabileceği gözlenmektedir.

6.SONUÇ

Yapmış olduğumuz bu çalışmada, yenidoğan yavrular hem intrauterin hemde laktasyon döneminde plasenta ve süt ile BPA'ya dolaylı olarak maruz kalmışlardır. Sütten kesildikten sonra yavrulara BPA uygulaması yapılmamıştır. BPA'ya maruz bırakılan annelerden doğan yavruların böbrek dokuları 21. günde ve ergenlik çağında oldukları 45. günde histopatolojik yapıları ve biyokimyasal verileri incelenmiş ve karşılaştırılması yapılmıştır. Elde ettiğimiz sonuçlara göre;

1. BPA'nın yüksek dozu daha etkili olmuştur.
2. Bisfenol-A bütün deney gruplarında serum üre, kreatinin ve toplam protein düzeyini yükseltmiştir.
3. TAS, TOS, MDA analizleri BPA'nın reaktif oksijen türlerinin oluşumunu indükleyerek böbrek dokusunda oksidatif hasara sebep olmuştur.
4. Biyokimyasal değerler üzerine etkisi yanında BPA, Bowman boşluğunda daralma, proksimal ve distal tübüller ile toplama kanallarında dilatasyon, tübül epitellerinde yer yer hücre kaybı ve vakuolleşme ile histopatolojik hasarın oluşmasına da sebep olmuştur.
5. 21. günde olduğu gibi 45. günde de hem biyokimyasal hem histopatolojik bulgular, anneye uygulanan BPA'nın yavru böbreğinde kalıcı hasar oluşturduğunu ve bu hasarın böbrek yetmezliği gibi önemli sağlık sorunu oluşturabileceğini göstermiştir.

Maternal BPA maruziyetinin yavrularda kısa ve uzun vadeli biyokimyasal ve histopatolojik değişikliklere neden olduğunu gösterdik. Çalışmamız, gebelik ve emzirme dönemleri ile sınırlı da olsa BPA'ya maruz kalmanın zararlı olduğu fikrini pekiştirmektedir. Sonuç olarak yavrulardaki oksidatif stres ve böbreklerden elde ettiğimiz bulgular gebelik ve emzirme dönemleri dışında da en azından doğurganlık çağındaki bireylerin doğrudan BPA maruziyetinden sakınmaları böbrek bozukluklarının insidansını önlemek için etkili bir strateji olabilir.

7. KAYNAKLAR

Akingbemi BT, Sottas CM, Koulova A, Klinefelter GR, Hardy MP. Inhibition of testicular steroidogenesis by the xenoestrogen bisphenol A is associated with reduced pituitary luteinizing hormone secretion and decreased steroidogenic enzyme gene expression in rat Leydig cells. **Endocrinology** 2004; 145: 592–603.

Ammirati AL. Chronic Kidney Disease. **Revassoc Med Bras** 2020; 66(1): 3-9.

Andriana BB, Tay TW, Hiramatsu R, Awal MA, Kanai Y, Kurohmaru M. Bisphenol A-induced morphological alterations in Sertoli and spermatogenic cells of immature Shiba goats in vitro: an ultrastructural study. **Reprod Med Biol** 2004; 3: 205–210.

Aydos Z, Boyacıoğlu M. Ratlarda Deneysel Bisfenol A Toksikasyonunda Folik Asitin Koruyucu Etkilerinin Araştırılması. **Animal Health, Production and Hygiene** 2019; 8(2): 642-646.

Atay E, Ertekin T, Yılmaz H, Güler HS, Al Ö, Nisari M, Yay A, Unur E, Özdamar S, Yalçın B. Impact of prenatal exposure to bisphenol A on pregnant rats: Fetal bone development and immunohistochemistry implications. **Toxicology and Industrial Health** 2019; 35(2): 119–135.

Ayazgök B, Tüylü Küçükılınç T. Düşük Doz Bisfenol A'nın Büyük Etkileri. **Fabad J. Pharm. Sci.** 2017; 42 (2): 139-150.

Balakrishnan B, Henare K, Thorstensen EB, Ponnampalam AP, Mitchell MD. Transfer of bisphenol A across the human placenta. **Am J Obstet Gynecol** 2010; 202(4): 393 (e1-e7).

Barker DJP, Bagby SP, Hanson MA. Mechanisms of disease: in utero programming in the pathogenesis of hypertension. **Nature Clinical Practice Nephrology** 2006; 2(12): 700–707.

Bernier MR, Vandenberg LN. Handling of thermal paper: implications for dermal exposure to bisphenol A and its alternatives. **PLoS One** 2017; 12(6): 1-14.

Braun JM. Early-life exposure to EDCs: role in childhood obesity and neurodevelopment. **Nat Rev Endocrinol** 2017; 13 (3): 161–173.

Chevrier J, Gunier RB, Bradman A, Holland NT, Calafat AM, Eskenazi B. Maternal urinary bisphenol a during pregnancy and maternal and neonatal thyroid function in the CHAMACOS study. **Environ Health Perspect** 2013; 121: 138–144.

Civan A. Ginseng uygulamasının sedanterlerde ve sporcularda nitrik oksit (NO), malondialdehit (MDA), glutatyon (GSH), glutatyon peroksidaz (GSHpx), katalaz (CAT) ve süperoksit dismutaz (SOD) üzerindeki etkisi. Doktora Tezi, **Selçuk Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü**, Konya, 2009, s. 69.

De Curtis M, Rigo J. Extrauterine growth restriction in very-low-birth weight infants. **Acta Paediatr** 2004; 93: 1563– 1568.

Edres HA, Taha NM, Mandour AEA, Lebda MA. Impact of L-Carnitine on Bisphenol A-Induced Kidney Damage in Rats. **Alexandria Journal of Veterinary Sciences** 2018; 56(1): 11-17.

- Eken A. Rat Kan ve Doku Örneklerinde Oksidatif Stres Parametreleri. ***Derman Tıbbi Yayıncılık***, Ankara, 2016, s.160-169.
- Eladak S, Grisin T, Moison D, Guerquin MJ, N'Tumba-Byn T, Pozzi-Gaudin S. A new chapter in the bisphenol A story: bisphenol S and bisphenol F are not safe alternatives to this compound. ***Fertil Steril*** 2015;103: 11–21.
- Erel O. Toplam antioksidan kapasitesi için yeni nesil, daha kararlı ABTS radikalleştirme kullanan yeni bir otomatik doğrudan ölçüm yöntemi. ***Clin Biochem*** 2004; 37: 277-285.
- Erel O. Toplam oksidan durumunu ölçmek için yeni bir otomatik kolorimetrik yöntem. ***Clin Biochem*** 2005; 38: 1103-1111.
- Esplugas R, Llové MI, Bellés M, Serra N, Vallvé JC, Domingo JL, Linares V. Renal and hepatic effects following neonatal exposure to low doses of Bisphenol-A and ¹³⁷Cs. ***Food and Chemical Toxicology*** 2018; 114: 270–277.
- Gassman NR. Induction of oxidative stress by bisphenol A and its pleiotropic effects. ***Environ Mol Mutagen*** 2017; 58(2): 60–71.
- Geens T, Aerts D, Berthot C, Bourguignon JP, Goeyens L, Lecomte P, Maghuin-Rogister G, Pironnet AM, Pussemier L, Scippo ML, Van Loco J, Covaci A. A review of dietary and non-dietary exposure to bisphenol-A. ***Food Chem Toxicol*** 2012; 50: 3725–3740.
- Gore AC, Chappell VA, Fenton SE, Flaws JA, Nadal A, Prins GS, Toppari J, Zoeller RT. EDC-2: The endocrine society's second scientific statement on endocrine-disrupting chemicals. ***Endocrine Reviews*** 2015; 36 (6): E1–E150.
- Harma M, Harma M, Erel O. Increased oxidative stress in patients with hydatidiform mole. ***Swiss Med Wkly*** 2003; 133(41-42): 563-536.
- Hotchkiss AK, Rider CV, Blystone CR, Wilson VS, Hartig PC, Ankley GT, Foster PM, Gray CL, Gray LE. Fifteen years after "Wingspread"—environmental endocrine disruptors and human and wildlife health: where we are today and where we need to go. ***Toxicol Sci*** 2008; 105(2): 235–259.
- Huang RP, Liu ZH. Yin H, Dang Z, Wu PX, Zhu NW, Lin Z. Bisphenol A concentrations in human urine, human intakes across six continents and annual trends of average intakes in adult and child populations worldwide: A thorough literature review. ***Sci Total Environ*** 2018; 626: 971–981.
- Hughson MD, Douglas-Denton R, Bertram JF, Hoy WE. Hypertension, glomerular number, and birth weight in African Americans and white subjects in the southeastern United States. ***Kidney Int*** 2006; 69: 671– 678.
- Jiang W, Zhao H, Zhang L, Wu B, Zha Z. Maintenance of mitochondrial function by astaxanthin protects against bisphenol A-induced kidney toxicity in rats. ***Biomedicine & Pharmacotherapy*** 2020; 121: 109629.
- Johnson SA, Painter MS, Javurek AB, Eilersieck MR, Wiedmeyer CE, Thyfault JF. Sex-dependent effects of developmental exposure to bisphenol A and ethinyl estradiol on metabolic parameters and voluntary physical activity. ***J Dev Orig Health Dis*** 2015; 6: 539–552.
- Kabuto H, Amakawa M, Shishibori T. Exposure to bisphenol A during embryonic/fetal life and infancy increases oxidative injury and causes underdevelopment of the brain and testis in mice. ***Life Sciences*** 2004; 74: 2931–2940.

Karakan M, Nazlıkul H. Oksidatif stres ve serbest radikallerin vücut üzerindeki etkisi. ***Bilimsel Tamamlayıcı Tıp, Regülasyon ve Nöralterapi Dergisi*** 2017; 11(2): 7-11.

Kerecuk L, Schreuder MF, Woolf AS. Renal tract malformations: Perspectives for nephrologists. ***Nat Clin Pract Nephrol*** 2008; 4: 312–325.

Kobroob A, Peerapanyasut W, Chattipakorn N, Wongmekiat O. Damaging Effects of Bisphenol A on the Kidney and the Protection by Melatonin: Emerging Evidences from In Vivo and In Vitro Studies. ***Hindawi Oxidative Medicine and Cellular Longevity*** 2018; Article ID 3082438, 15 pages.

Kolatorovaa L, Vitkua J, Hampla R, Adamcovab K, Skodovaa T, Simkovaa M, Parizekb A, Starkaa L, Duskovaa M. Exposure to bisphenols and parabens during pregnancy and relations to steroid changes. ***Environmental Research*** 2018; 163: 115–122.

Korkmaz A, Aydoğan M, Kolankaya D, Barlas N. Vitamin C Coadministration Augments Bisphenol A, Nonylphenol, and Octylphenol Induced Oxidative Damage on Kidney of Rats. ***Environ Toxicol*** 2009; 26: 325–337.

Kosecik M, Erel O, Sevinc E, Selek S. Increased oxidative stress in children exposed to passive smoking. ***Int J Cardiol*** 2005; 100: 61–64.

Kovacic P. How safe is bisphenol A? Fundamentals of toxicity: Metabolism, electron transfer and oxidative stress. ***Medical Hypotheses*** 2010; 75(1): 1–4.

Kurosawa T, Hiroi H, Tsutsumi O, Ishikawa T, Osuga Y, Fujiwara T. The activity of bisphenol A depends on both the estrogen receptor subtype and the cell type. ***Endocr J*** 2002; 49: 465–471.

Langley-Evans SC, Gardner DS, Welham SJM. Intrauterine programming of cardiovascular disease by maternal nutritional status. ***Nutrition*** 1998;14: 39–47.

Le Magueresse-Battistoni B, Multigner L, Beausoleil C, Rousselle C. Effects of bisphenol A on metabolism and evidences of a mode of action mediated through endocrine disruption. ***Molecular and Cellular Endocrinology*** 2018; 475: 74-91.

Li X, Wang L, Shen F, Zhou Q, Huang X. Impacts of exogenous pollutant bisphenol A on characteristics of soybeans. ***Ecotoxicol Environ*** 2018; 157: 463–471.

Liao C, Kannan K. Concentrations and composition profiles of parabens in currency bills and paper products including sanitary wipes. ***Sci Total Environ*** 2014; 475: 8-15.

Luyckx VA, Brenner BM. The clinical importance of nephron mass. ***J Am Soc Nephrol*** 2010; 21: 898 –910.

Ma S, Shi W, Wang X, Song P, Zhong X. Bisphenol A exposure during pregnancy alters the mortality and levels of reproductive hormones and genes in offspring mice. ***Biomed Research International*** 2017; 1-8.

Matthews JB, Twomey K, Zacharewski TR. In vitro and in vivo interactions of bisphenol A and its metabolite, bisphenol A glucuronide, with estrogen receptors alpha and beta. ***Chem Res Toxicol*** 2001; 14: 149–157.

Meli R, Monnolo A, Annunziata C, Pirozzi C, Ferrante MC. Oxidative Stress and BPA Toxicity: An Antioxidant Approach for Male and Female Reproductive Dysfunction. **Antioxidants** 2020; 9: 405.

Mendonca K, Hauser R, Calafat AM, Arbuckle TE, Duty SM. Bisphenol A concentrations in maternal breast milk and infant urine. **Int Arch Occup Environ Health** 2014; 87(1): 13–20.

Mercogliano R, Santonicola S. Investigation on bisphenol A levels in human milk and dairy supply chain: A review. **Food Chem Toxicol** 2018; 114: 98–107.

Mescher AL. Junqueira Temel Histoloji, Eds. Solakoğlu S, **Nobel Tıp Kitapevleri**, İstanbul, 2006, s.385-403.

Michałowicz J. Bisphenol A-sources, toxicity and biotransformation. **Environ Toxicol Pharmacol** 2014; 37(2): 738-758.

Moore KL, Persaud TVN, Torchia MG. Klinik Yönleriyle İnsan Embriyolojisi, Eds. Dalçık H, **Nobel Tıp Kitapevleri**, İstanbul, 2016, s.243-280.

Moriyama K, Tagami T, Akamizu T, Usui T, Saijo M, Kanamoto N. Thyroid hormone action is disrupted by bisphenol A as an antagonist. **J Clin Endocrinol Metab** 2002;87: 5185–5190.

Nakamura K, Itoh K, Sugimoto T, Fushiki S. Prenatal exposure to bisphenol A affects adult murine neocortical structure. **Neuroscience Letters** 2007; 420: 100–105.

Nyengaard JR, Bendtsen TF. Glomerular number and size in relation to age, kidney weight, and body surface in normal man. **Anat Rec** 1992; 232: 194 –201.

Nigam SK, Aperia AC, Brenner BM. Development and maturation of the kidney, Eds. Brenner BM, Rector FC, **The Kidney: Physiology and Pathology 5th edition**, WB Saunders, Philadelphia, Pa, USA, 1996, s. 72–98.

Ola-Davies OE, Olukole SG. Gallic acid protects against bisphenol A-induced alterations in the cardiorenal system of Wistar rats through the antioxidant defense mechanism. **Biomedicine & Pharmacotherapy** 2018; 107: 1786–1794.

Olea-Herrero N, Arenas MI, Muñoz-Moreno C, Moreno-Gomez-Toledano R, González-Santander M, Arribas I, J. Bosch R. Bisphenol-A Induces Podocytopathy With Proteinuria in Mice. **Journal of Cellular Physiology** 2014; 229: 2057–2066.

Ova G, Demirağ K, Gölge E. Bir Gıda Kontaminantı: Bisphenol A. **Akademik Gıda Dergisi**, 2005; 3(3), 16-18.

Özcan O, Erdal H, Çakırca G, Yönden Z. Oksidatif stres ve hücre içi lipit, protein ve DNA yapıları üzerine etkileri. **Journal of Clinical and Experimental Investigations** 2015; 6(3): 331-336.

Pinney SE, Mesaros CA, Snyder NW, Busch CM, Xiao R, Aijaz S, Ijaz N, Blair IA, Manson JM. Second trimester amniotic fluid bisphenol A concentration is associated with decreased birth weight in term infants. **Reprod Toxicol** 2017; 67: 1–9.

Podkowińska A, Formanowicz D. Chronic Kidney Disease as Oxidative Stress- and Inflammatory-Mediated Cardiovascular Disease. **Antioxidants** 2020; 9: 752.

Poormoosavi SM, Najafzadehvarzi H, Behmanesh MA, Amirgholami R. Protective effects of *Asparagus officinalis* extract against Bisphenol A induced toxicity in Wistar rats. ***Toxicology Reports*** 2018; 5: 427–433.

Quaggin SE, Kreidberg J. Embryology of the kidney. Ed., Eds. Brenner BM, ***Brenner and Rector's the Kidney 8 th edition***, Saunders, Elsevier, Philadelphia, 2008, s. 3-24.

Rezg R, El-Fazaa S, Gharbi N, Mornagui B. Bisphenol A and human chronic diseases: Current evidences, possible mechanisms, and future perspectives. ***Environment International*** 2014; 64: 83–90.

Richter VFI, Briffa JF, Moritz KM, Wlodek ME, Hryciw DH. The role of maternal nutrition, metabolic function and the placenta in developmental programming of renal dysfunction. ***Clinical and Experimental Pharmacology and Physiology*** 2016; 43: 135-141.

Rodriguez MM, Gomez AH, Abitbol CL, Chandar JJ, Duara S, Zilleruelo GE. Histomorphometric analysis of postnatal glomerulogenesis in extremely preterm infants. ***Pediatr Dev Pathol*** 2004; 7: 17–25.

Rodriguez MM, Gomez A, Abitbol C, Chandar J, Montane B, Zilleruelo G. Comparative renal histomorphometry: A case study of oligonephropathy of prematurity. ***Pediatr Nephrol*** 2005; 20: 945–949.

Ross MH, Pawlina W. Histoloji Konu Anlatımı ve Atlas, Eds. Baykal B, ***Palme Yayıncılık***, İstanbul, 2017, s.699-721.

Roy A, Bauer SM, Lawrence BP. Developmental Exposure to Bisphenol A Modulates Innate but Not Adaptive Immune Responses to Influenza A Virus Infection. ***PLoS One*** 2012; 7(6): e38448.

Rubin BS, Murray MK, Damassa DA, King JC, Soto AM. Perinatal exposure to low doses of bisphenol A affects body weight, patterns of estrous cyclicity, and plasma LH levels. ***Environ Health Perspect*** 2001; 109: 675–680.

Schreuder M, Delemarre-van de Waal H, van Wijk A. Consequences of intrauterine growth restriction for the kidney. ***Kidney Blood Press Res*** 2006; 29: 108 –125.

Schreuder MF, Nyengaard JR, Remmers F, van Wijk JA, Delemarre-van de Waal HA. Postnatal food restriction in the rat as a model for a low nephron endowment. ***Am J Physiol Renal Physiol*** 2006; 291: 1104 –1107.

Schreuder MF, Bueters RR, Huigen MC, Russel FGM, Masereeuw R, van den Heuvel LP. Effect of Drugs on Renal Development. ***Clin J Am Soc Nephrol*** 2011; 6: 212–217.

Shin BS, Yoo SD, Cho CY, Jung JH, Lee BM, Kim JH, Lee KC. Maternal–fetal disposition of Bisphenol-A in pregnant Sprague-Dawley rats. ***Journal of Toxicology and Environmental Health Part A*** 2002; 65: 395–406.

Takahashi O, Oishi S. Disposition of Orally Administered 2,2-Bis(4-hydroxyphenyl) propane (Bisphenol A) in Pregnant Rats and the Placental Transfer to Fetuses. ***Environ Health Perspect*** 2000; 108: 931–935.

Tarapore P, Hennessy M, Song D, Ying J, Ouyang B, Govindarajah V. High butter-fat diet and bisphenol A additively impair male rat spermatogenesis. ***Reprod Toxicol*** 2017; 68: 191–199.

Trasande L, Attina TM, Trachtman H. Bisphenol A exposure is associated with low-grade urinary albumin excretion in children of the United States. *Kidney International* 2013; 83: 741-748.

Van Esterik JC, Dollé ME, Lamoree MH, Van Leeuwen SP, Hamers T, Legler J. Programming of metabolic effects in C57BL/6JxFVB mice by exposure to bisphenol A during gestation and lactation. *Toxicology* 2014; 321: 40–52.

Vandenberg LN, Chahoud I, Heindel JJ, Padmanabhan V, Paumgartten FJR, Schoenfelder G. Urinary circulating and tissue biomonitoring studies indicate widespread exposure to bisphenol A. *Environ Health Perspect* 2010; 118: 1055–1070.

Vandenberg LN, Hauser R, Marcus M, Olea N, Welshons WV. Human exposure to bisphenol A (BPA). *Reprod Toxicol* 2007; 24: 139–177.

Wang M, Rang O, Liu F, Xia W, Li Y, Zhang Y, Lu S, Xu S. A systematic review of metabolomics biomarkers for Bisphenol A exposure. *Metabolomics* 2018; 14: 45.

Wassenaar PNH, Trasande L, Legler J. Systematic review and meta-analysis of early-life exposure to bisphenol A and obesity-related outcomes in rodents. *Environ Health Perspect* 2017; 125: 106001.

Whitehead R, Guan H, Arany E, Cernea M, Yang K. Prenatal exposure to bisphenol A alters mouse fetal pancreatic morphology and islet composition. *Horm Mol Biol Clin Invest* 2016; 25(3): 171–179.

Yaprak M, Bay F, Turgut F. Endokrin Bozucular ve Böbrek. *Turkiye Klinikleri J Endocrin-Special Topics* 2016; 9(3): 45-49.

Yokosuka M, Ohtani-Kaneko R, Yamashita K, Muraoka D, Kuroda Y, Watanabe C. Estrogen and environmental estrogenic chemicals exert developmental effects on rat hypothalamic neurons and glias. *Toxicol In Vitro* 2008; 22(1): 1-9.


Yuan J, Kong Y, Ommati MM, Tang Z, Li H, Li L, Zhao C, Shi Z, Wang J. Bisphenol A-induced apoptosis, oxidative stress and DNA damage in cultured rhesus monkey embryo renal epithelial Marc-145 cells. *Chemosphere* 2019; 234: 682-689.


Yumru M, Savas HA, Kalenderoglu A, Bulut M, Celik H, Erel O. Oxidative imbalance in bipolar disorder subtypes: a comparative study. *Prog Neuropsychopharmacol Biol Psychiatry* 2009; 33(6):1070-1074.

8. EKLER

Ek-1. Etik Kurul Onay Sayfası

Evrak Tarih ve Sayısı: 11/10/2019-E.72039


* B E A S K F F V *


T.C.
PAMUKKALE ÜNİVERSİTESİ
Hayvan Deneyleri Etik Kurulu

Sayı :60758568-020/72039 11/10/2019
Konu :Başvurunuz hk.

Sayın Prof. Dr. Saim ÖZDAMAR

İlgi :05/09/2019 tarihli dilekçeniz.

"Maternal Uygulanan Bisfenol-a'nın sıçan Böbreğinin Gelişimi Üzerine Etkilerinin İncelenmesi" konulu PAUHADYEK-2019/26 no'lu çalışmanız 09.10.2019 tarih ve 2019/07 sayılı toplantımızda görüşülmüş olup,

Yapılan görüşmelerden sonra, söz konusu çalışmanın yapılmasının Hayvan Deneyleri Etiği açısından uygun olduğuna ve 43 adet sıçan kullanılarak yapılmasına oy birliği ile karar verildi.

Gereğini bilgilerinize rica ederim.

Prof. Dr. Funda Fatma BÖLÜKBAŞI HATİP
Başkan

Tıp Fakültesi Dekanlığı/Kınıklı/Denizli
Tel: 0 (025) 8
E-Posta: hade@pau.edu.tr

Ayrıntılı bilgi için irtibat : Aysel ÖZKAN
Faks: 0 (258) 296 17 65
Elektronik Adres: http://www.pau.edu.tr