

Sıçanlarda Bisfenol A'nın Neden Olduğu Pankreatik Değişimler Üzerine Koenzim Q10'un Etkileri

The Effects of Coenzyme Q10 on Bisphenol A-Induced Pancreatic Changes in Rats

Mustafa YILDIZ¹ , Özey GÜLEŞ² , Mustafa SANDIKÇI³ , Şadiye KUM³ 

1 Çanakkale Onsekiz Mart Üniversitesi, Çan Uygulamalı Bilimler Yüksekokulu, İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü, Çan/Çanakkale, TÜRKİYE

2 Afyon Kocatepe Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Afyonkarahisar, TÜRKİYE

3 Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı, Aydın, TÜRKİYE

Öz.

Amaç: Çalışmada bisfenol A (BPA)'ya maruz bırakılan sıçanların pankreasındaki değişikliklerin belirlenmesi ve bu değişiklikler üzerine koenzim Q10 (KoQ10)'un etkilerinin ortaya çıkarılması amaçlandı.

Materyal ve metod: Sıçanlar kontrol, sham, KoQ10, BPA ve KoQ10+BPA olmak üzere rastgele beş gruba ayrıldı. KoQ10 ve BPA uygulamaları on dört gün boyunca devam etti. Histopatolojik ve histomorfolojik incelemeler için pankreas kesitlerine Crossmon'un üçlü boyama yöntemi uygulandı. Ayrıca pankreas dokusunda immünohistokimyasal olarak östrojen reseptör α (ER α) immünoaktivitesi incelendi.

Bulgular: Pankreasın endokrin bölümündeki histopatolojik değişiklikler ile pankreatik beta hücrelerindeki ER α immünoaktivitesinin kontrol grubuna göre BPA grubunda anlamlı bir şekilde arttığı tespit edildi. Ancak histomorfolojik bulgular açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Diğer taraftan, çalışmada incelenen parametreler üzerinde KoQ10'un anlamlı bir etkisi gözlenmedi.

Sonuç: BPA, pankreasta yapısal ve fonksiyonel bozukluklara neden olabilir. Ayrıca ER α immünoaktivitesini de değiştirebilir. Bununla birlikte, KoQ10'un BPA'ya maruz kalan sıçanların pankreasındaki muhtemel koruyucu etkilerini ortaya çıkarmak için daha ileri çalışmalar gereklidir.

Anahtar Kelimeler: Beta hücresi, Bisfenol A, Koenzim Q10, Östrojen reseptör α , Pankreas

Abstract

Background: In the study, it was aimed to determine the changes in the pancreas of rats exposed to bisphenol A (BPA) and to reveal the effects of coenzyme Q10 (CoQ10) on these changes.

Materials and Methods: The rats were randomly divided into five groups as follows: control, sham, CoQ10, BPA and CoQ10+BPA. The applications of CoQ10 and BPA continued for fourteen days. Crossmon's triple staining method was applied to the pancreas sections for histopathological and histomorphological examinations. Also, estrogen receptor α (ER α) immunoreactivity on the pancreas tissue was examined immunohistochemically.

Results: It was determined that histopathological changes in the endocrine part of the pancreas and ER α immunoreactivity on the pancreatic beta cells significantly increased in BPA group compared to control group. But a significant difference wasn't found between the groups in terms of histomorphological findings. On the other hand, a significant effect of CoQ10 wasn't observed on the parameters analyzed in the study.

Conclusion: BPA might cause structural and functional disorders in the pancreas. Also, it might change ER α immunoreactivity, too. However, further studies are required to reveal the possible protective effects of CoQ10 in the pancreas of rats exposed to BPA.

Key words: Beta cell, Bisphenol A, Coenzyme Q10, Estrogen receptor α , Pancreas

Sorumlu Yazar / Corresponding Author

Dr. Öğr. Üyesi Mustafa YILDIZ

Çanakkale Onsekiz Mart
Üniversitesi,
Çan Uygulamalı Bilimler
Yüksekokulu,
İş Sağlığı ve Güvenliği Bölümü,
17400, Çan/Çanakkale, TÜRKİYE

E-mail: mustafayildiz17@yahoo.com,
mustafayildiz@comu.edu.tr

Tel: 0 (286) 4166188
Fax: 0 (286) 4160653

Geliş tarihi / Received:
13.02.2020

Kabul tarihi / Accepted:
12.10.2020

DOI: 10.35440/hutfd.688689

Giriş

Bisfenol A (BPA), dünyada en fazla üretilen kimyasallardan biridir. Birçok gıda ambalajında hammadde olarak bulunan polikarbonat plastik ve epoksi reçinelerin üretiminde kullanılır (1). Ayrıca BPA östrojenik özelliğe sahip çevresel bir endokrin bozucudur (2). İnsanlarda BPA maruziyeti oral, inhalasyon ve dermal absorpsiyonla gerçekleşmektedir. BPA'nın insan sağlığına zararlı olduğu kanıtlanmış olup, BPA maruziyeti ile kanser, kısırlık ve diyabet gibi sağlık sorunları arasında ilişki olabileceği bildirilmiştir (3-6).

Pankreas ürettiği salgılarıyla hem enerji metabolizması hem de besinlerin sindiriminde rol oynayan bir organdır (7). Yapılan çalışmalarda, BPA'nın pankreasta insülin salınımını artırdığı (8), kan glukoz homeostazisini bozduğu (9) ve insülin direncini uyardığı bildirilmektedir (10). Bununla birlikte, pankreasta makrofaj sayısını azalttığı (11,12), düzenleyici T lenfosit (12) ve apoptotik hücre sayısını ise artırdığı tespit edilmiştir (11,12). Ayrıca BPA'nın pankreasta beta hücre sayısı ile proliferasyon kapasitesini (13) ve insülin salgılayan INS-1E hücrelerinde canlılık oranını azalttığı saptanmıştır (14). Yanı sıra, BPA'nın vücudun enerji metabolizmasını yavaşlattığı ve iskelet kasında insülin sinyalini bozduğu rapor edilmiştir. Bu nedenle, BPA'nın diyabet gelişimi için risk faktörü olabileceği düşünülmektedir (6). Diğer taraftan, BPA'nın pankreasın α hücrelerinde Ca^{2+} sinyallerini zayıflattığı (15) ve glukagon ekspresyonunu artırdığı belirlenmiştir (16). Ayrıca BPA plazma glutatyon (GSH), süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon peroksidaz (GPx) ve katalaz (CAT) seviyelerini önemli ölçüde azaltmakta, tiyobarbitürik asit reaktif maddeler (TBARS) ile nitrik oksit (NO) seviyelerini ise artırmaktadır. Bu sebeple, BPA'nın oksidatif strese neden olduğu da ifade edilmektedir (17).

Pankreas adacıklarında beta hücreleri östrojen reseptör α (ER α) ve östrojen reseptör β (ER β) eksprese ederler (18). ER α , glukoz ve lipid metabolizmasında yer alan anahtar bir moleküldür. İnsülin biyosentezi ve sekresyonunda rol oynar. Beta hücrelerinin canlılıklarının sürdürülmesine katkı sağlar (19). Diğer taraftan; BPA, ER α ve ER β ile etkileşime girebilir (20) ve pankreasta östrojen reseptörlerinin mRNA seviyelerini yükseltir (21). Bununla birlikte; ER α 'nın 17 β -östrodiol ve çevresel östrojen BPA tarafından aktivasyonu pankreasta insülin biyosentezini artırır. ER α , 17 β -östrodiol veya BPA tarafından fazla uyarılırsa aşırı insülin sinyali üretir. Bu durumun karaciğer ile kasta insülin direncinin oluşmasına ve beta hücrelerinin tükenmesine sebep olup, tip II diyabetin gelişiminde rol oynayabileceği bildirilmektedir (19).

Koenzim Q10 (KoQ10), mitokondriyal elektron taşıma zincirinin temel bileşenidir (22). Redoks özelliği ile elektronların enzimler arasında taşınmasını sağlayarak, ATP üretiminde önemli rol oynar (23). Ayrıca KoQ10, serbest radikal oluşumu ile protein, lipid ve DNA modifikasyonlarını önle-

yen en önemli antioksidanlarından biridir (24). Yapılan çalışmalarda, KoQ10'un pankreasta lipid peroksidasyonunu azalttığı (25) ve beta hücre hattı olan INS-1E hücrelerini oksidatif stres ile hücre ölümünden koruduğu bildirilmiştir (26). Bununla birlikte; KoQ10'un pankreasta histopatolojik değişiklikleri azalttığı, antioksidan enzimlerden SOD ve GSH aktivitelerini ise artırdığı tespit edilmiştir (27). Diğer taraftan, KoQ10'un diyabetik sıçanlarda açlık kan glukoz seviyesini düşürdüğü saptanmış olup, diyabet kaynaklı komplikasyonların önlenmesinde yararlı olduğu vurgulanmıştır (28).

Sunulan çalışmada, BPA'ya maruz kalan sıçanların pankreasındaki histomorfolojik ve histopatolojik değişiklikler ile ER α immünoreaktivitesinin incelenmesi ayrıca KoQ10'un bu parametreler üzerindeki etkilerinin ortaya çıkarılması amaçlandı.

Materyal ve Metod

Deney Hayvanları

Araştırmada 90 günlük, ortalama 350 gr ağırlığında, erişkin erkek Wistar albino cinsi 40 adet sıçan kullanıldı. Sıçanlar Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Deney Hayvanları Ünitesinden temin edildi. Sıçanlar 24 ± 1 °C sıcaklıkta, 12 saat aydınlık / karanlık döngüsüyle konvansiyonel koşullar altında tutuldu. Ayrıca sıçanlar ad libitum yem ve su ile beslendi. Çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun izni ile gerçekleştirildi. (Tarih:30/07/2019 No:64583101/2019/072)

Deney Prosedürü

Sıçanlar kontrol (n= 8), sham (n= 8), KoQ10 (n= 8), BPA (n= 8) ve KoQ10+BPA (n= 8) olmak üzere rastgele beş gruba ayrıldı. Kontrol grubuna hiçbir uygulama yapılmadı. Sham grubuna oral gavaj yoluyla 2 ml/kg/gün dozunda mısır yağı verildi. KoQ10 grubuna 10 mg/kg/gün dozunda KoQ10 (Sigma C9538) 2 ml/kg/gün mısır yağı içinde çözülmüş şekilde oral gavaj yoluyla uygulandı. BPA grubuna 100 mg/kg/gün dozunda BPA (Sigma 239658) 2 ml/kg/gün mısır yağı içinde çözülmüş şekilde oral gavaj yoluyla verildi. KoQ10+BPA grubuna önce 1 ml/kg/gün mısır yağı içinde çözülmüş 10 mg/kg/gün dozunda KoQ10, 1 saat sonra ise 1 ml/kg/gün mısır yağı içinde çözülmüş 100 mg/kg/gün dozunda BPA oral gavaj yoluyla uygulandı (29, 30). KoQ10'un sıçanlara BPA uygulanmasından bir saat önce verilmesiyle KoQ10'un BPA'ya karşı koruyucu etkisinin araştırılması amaçlandı. Deney prosedürü 14 gün boyunca devam etti.

Doku Örneklerinin Alınması

Deney sonunda sıçanlar intraperitoneal (IP) 75 mg/kg ketamin ve 10 mg/kg ksilazin anestezisi altında servikal dislokasyon yoluyla öldürüldü. Ardından pankreas örnekleri alındı. Doku örnekleri 24 saat süreyle % 10'luk tamponlu formalinde tespit edildi. Rutin histolojik işlemlerden sonra doku örnekleri parafine gömüldü ve 100 μ m ara ile 5 μ m kalınlıkta seri kesitler alındı.

Histopatolojik ve Histomorfolojik Analizler

Histopatolojik ve histomorfolojik incelemeler için her hayvandan alınan iki kesit kullanıldı. Doku kesitleri histopatolojik değerlendirme için Crossmon'un üçlü boyama yöntemi ile boyandı. Ardından pankreasın endokrin bölümü olan Langerhans adacıkları vakuoler dejenerasyon açısından incelendi. Bu amaçla kesitler semikuantitatif olarak değerlendirildi ve hasarın şiddeti 0 (normal), 1 (hafif), 2 (orta) ve 3 (şiddetli) olarak skorlandı (31). Böylece grupların histopatolojik hasar skorları belirlendi. Diğer taraftan, insülin antikoruna ile boyanan kesitlerde histomorfolojik olarak pankreasta adacık sayısı, adacık çapı, adacık alanı ve beta hücre alanı parametreleri incelendi. Adacık sayısı 10x büyütmede on farklı mikroskopik alanda adacıklar sayılarak belirlendi. Adacık çapı, adacık alanı ve beta hücre alanı değerleri ise her gruptan rastgele seçilen 50 adacığın 40x büyütmede ölçülmesiyle saptandı. Ölçüm ve sayım işlemleri görüntü analiz sistemi (Kameram 2.11.5.1) ile donatılmış bir ışık mikroskobu (Olympus BX51) ile yapıldı.

İmmunohistokimyasal Analiz

Pankreasta insülin ve ERα immünoaktivitelerini belirlemek için streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi uygulandı. Doku örneklerinden elde edilen kesitler organosilane ile kaplı lamlara alındı. Kesitler ilk olarak deparafinizasyon işleminden geçirildi. Daha sonra antijen retrieval işlemi için 98 °C'de 0,01 M sodyum sitrat pH: 6 solüsyonu içinde mikrodalga fırında 3 defa 5 dk kaynatıldı. Ardından kesitler endojen peroksidaz aktivitesini gidermek için 10 dk distile su ile hazırlanmış %3'lük H₂O₂'de bekletildi. Sonrasında kesitler 1 saat boyunca bloke edici çözelti (Reaktif A, Histostain-Plus Bulk Kit, Broad Spectrum, 85-9043; Invitrogen, Camarillo, CA) içinde tutuldu. Bu işlemden sonra, kesitler 1 gece boyunca +4 °C'de 1/200 oranında dilüe edilmiş olan primer antikorda (Bioss, rabbit anti-insulin polyclonal antibody, bs-0862R; Bioss, rabbit anti-ER alpha polyclonal antibody, bs-0122R) bekletildi. Ertesi gün kesitler, sırasıyla 1'er saat biotinli sekonder antikorda (Reaktif B, 85-9043; Invitrogen) ve streptavidin HRP'de (Horseradish peroksidaz) (Reaktif C, 85-904; Invitrogen) inkübe edildi. Daha sonra kesitler, antikor bağlanma gösteren hücrelerin boyanması için 2 dk 3,3'-diaminobenzidin (DAB)'de (Sigma D5637) bekletildi. Son olarak, kesitler Harris Hematoksilin ile 10 saniye boyandı ve entellan ile kapatıldı. Primer antikor yerine tris tamponunda (TBS, pH 7.4) inkübe edilen doku kesitleri ise negatif kontrol olarak değerlendirildi.

Pankreasın ekzokrin ve endokrin bölümlerinde ERα immünoaktivitesinin yoğunluğu her bir hayvana ait iki kesitte incelendi. Bu amaçla, 0 ile 3 arasında değerler verilen subjektif puanlama sistemi kullanıldı [0, immünoaktivite yok; 1, zayıf immünoaktivite; 2, orta immünoaktivite; 3, şiddetli immünoaktivite] (32). Skorumlama işlemi, görüntü analiz sistemi (Kameram 2.11.5.1) ile donatılmış bir ışık mikroskobu (Olympus BX51) ile yapıldı. Ayrıca kesitlerin ge-

rekli görülen yerlerinden kamera (Olympus DP20) ile fotoğraflar çekildi.

İstatistiksel Analiz

Verilerin istatistiksel analizi için SPSS 17.00 paket programı kullanıldı. Bütün parametreler normal dağılım açısından değerlendirildi. Normal dağılım gösterenler için grup ortalamaları arasında farklılık olup olmadığı tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ile karşılaştırıldı. Farkın hangi grup ya da gruplardan kaynaklandığını belirlemek amacıyla Post Hoc Duncan testi uygulandı. Normal dağılım göstermeyenlerin grup ortalamaları arasındaki farklılıkları Kruskal-Wallis testi ile belirlendi. Post hoc çoklu karşılaştırmalar Bonferroni düzeltmeli Mann-Whitney U testi kullanılarak gerçekleştirildi. Veriler ortalama ± standart hata olarak sunuldu. Farklılıkları p<0.05 (*) ve p<0.001 (***) olan değerler istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

Bulgular

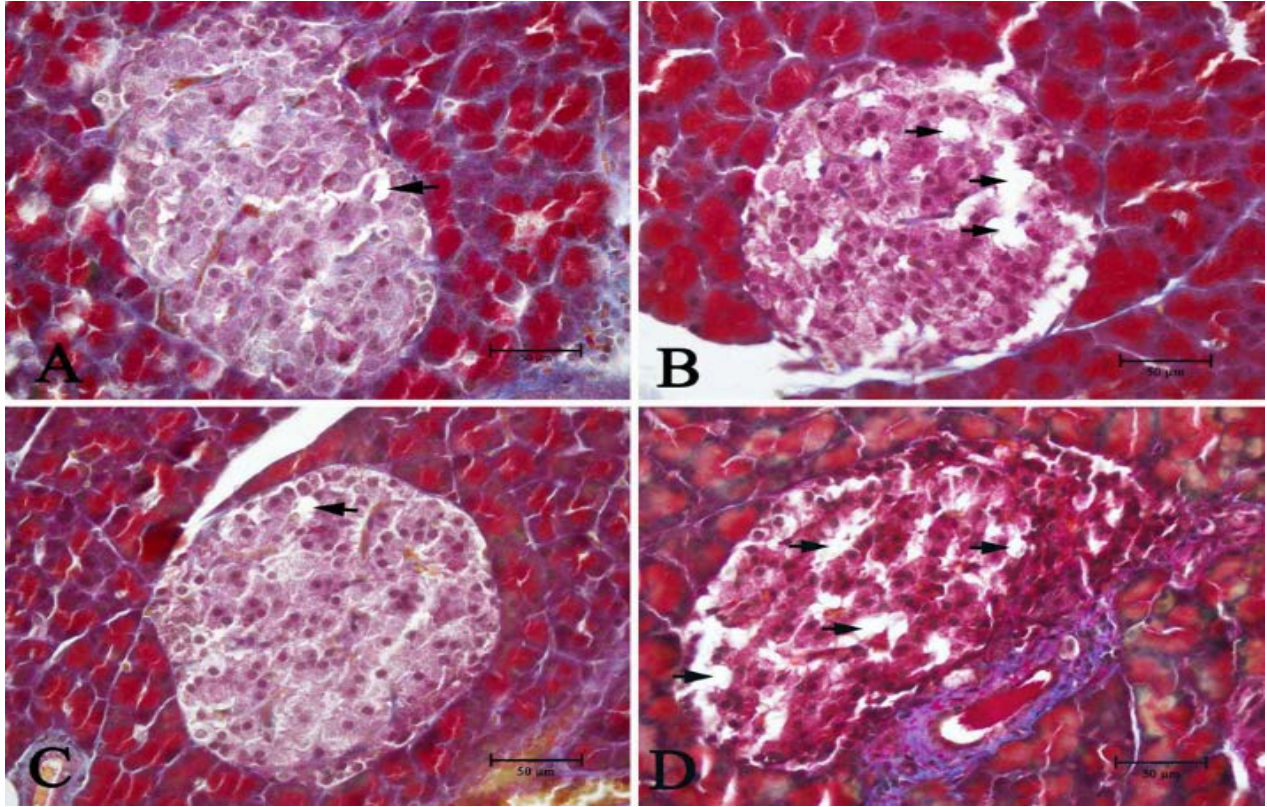
Sunulan çalışmada, insülin pozitif hücrelerin pankreasın endokrin bölümü olan Langerhans adacıklarında merkezi olarak yerleştikleri tespit edildi. Pankreas adacıklarındaki insülin immünoaktivitesi sitoplazmik olarak gözlemlendi. Bu bulgular tüm gruplarda benzerdi. Gruplar arasında adacık sayısı, adacık çapı, adacık alanı ve beta hücre alanı açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 1).

Tablo 1. Pankreas dokusundan elde edilen histomorfolojik veriler

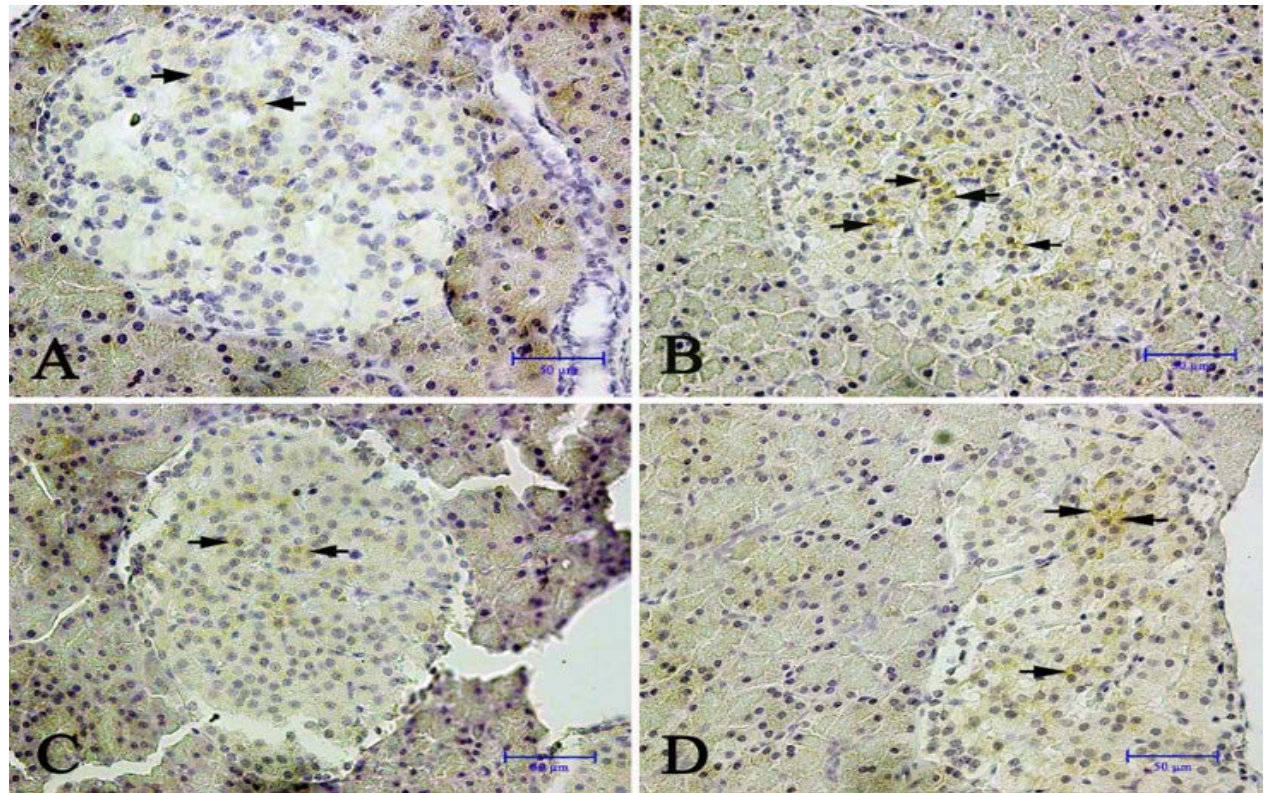
Gruplar	n	Adacık sayısı	Adacık çapı (µm)	Adacık alanı (µm ²)	Beta hücre alanı (µm ²)
Kontrol	8	3,57 ±0,16	148,00 ±3,64	24576,67 ±1054,60	19329,00 ±894,65
Sham	8	3,43 ±0,15	144,63 ±2,94	24600,13 ±877,58	18360,72 ±627,57
KoQ10	8	3,85 ±0,17	140,80 ±3,42	21947,46 ±1131,70	16744,46 ±900,47
BPA	8	3,49 ±0,16	144,0 ±2,71	23926,31 ±1015,36	18083,81 ±783,29
KoQ10 + BPA	8	3,52 ±0,16	143,64 ±3,51	21680,30 ±1018,70	18021,84 ±991,21
p		ÖD	ÖD	ÖD	ÖD

ÖD: Önemli değil.

Pankreas kesitleri üzerinde yapılan histopatolojik incelemede, BPA grubunda pankreasın endokrin bölümünde vakuoler dejenerasyon alanları dikkati çekti. Pankreasın ekzokrin bölümünde ise herhangi bir değişiklik belirlenmedi. Ayrıca bu histopatolojik değişiklik BPA grubuna benzer olarak KoQ10+BPA grubunun endokrin bölümünde de tespit edildi. Histopatolojik hasar skorunun kontrol, sham ve KoQ10 gruplarına kıyasla BPA ve KoQ10+BPA gruplarında anlamlı bir şekilde arttığı saptandı (p<0.001). Ancak BPA ile KoQ10+BPA grupları arasında histopatolojik hasar skoru açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 2 ve Şekil 1).



Şekil 1. Kontrol (A), BPA (B), KoQ10 (C) ve KoQ10+BPA (D) gruplarına ait pankreas dokularının mikroskopik görünüşleri. Pankreasın endokrin bölümlerinde kontrol ve KoQ10 gruplarına göre BPA ve KoQ10+BPA gruplarında vakuoler dejenerasyonun anlamlı olarak arttığı gözlenmektedir (Oklar). Crossmon'un üçlü boyama yöntemi. Bar: 50 µm.



Şekil 2. Kontrol (A), BPA (B), KoQ10 (C) ve KoQ10+BPA (D) gruplarına ait pankreasların endokrin bölümlerindeki ERα immünoreaktivitesi (Oklar). ERα immünoreaktivitesinin kontrol ve KoQ10 gruplarına göre BPA grubunda anlamlı bir şekilde arttığı dikkati çekmektedir. Bununla birlikte; kontrol, KoQ10 ve KoQ10+BPA gruplarındaki ERα immünoreaktivitesi benzer olup, istatistiksel açıdan bir önem saptanamamıştır. Streptavidin-biotin-peroksidaz yöntemi. Bar: 50 µm.

Tablo 2. Pankreasın endokrin bölümündeki histopatolojik hasar skoru değerleri

Gruplar	n	Vakuoler dejenerasyon
Kontrol	8	0,21±0,04 ^b
Sham	8	0,25±0,04 ^b
KoQ10	8	0,22±0,04 ^b
BPA	8	0,42±0,05 ^a
KoQ10+BPA	8	0,55±0,06 ^a
p		***

^{a,b} Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel açıdan önem vardır.

***p<0.001.

Pankreasın ekzokrin ve endokrin bölümlerinde ERα pozitif boyanan hücrelerde sitoplazmik immünoreaktivite gözlemlendi. Pankreasın ekzokrin bölümünde ERα immünoreaktivitesinin yoğunluğu açısından gruplar arasında anlamlı bir fark bulunmadı. Endokrin bölümünde ise, kontrol, sham ve KoQ10 gruplarına göre BPA grubunda ERα immünoreaktivite yoğunluğunun anlamlı olarak arttığı tespit edildi (p<0.05). Bununla birlikte, BPA ve KoQ10+BPA grupları arasında ERα immünoreaktivitesinin yoğunluğu açısından anlamlı bir fark bulunmadı (Tablo 3 ve Şekil 2).

Tablo 3. Pankreasın ekzokrin ve endokrin bölümlerinde ERα immünoreaktivite yoğunlukları

Gruplar	n	Ekzokrin bölüm	Endokrin bölüm
Kontrol	8	1,22±0,05	0,70±0,06 ^b
Sham	8	1,13±0,04	0,73±0,05 ^b
KoQ10	8	1,09±0,05	0,71±0,07 ^b
BPA	8	1,11±0,05	0,91±0,05 ^a
KoQ10+BPA	8	1,24±0,05	0,86±0,05 ^{a,b}
p		ÖD	*

^{a,b} Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arasında istatistiksel açıdan önem vardır.

ÖD: Önemli değil, *p<0.05.

Tartışma

Çevresel endokrin bozucu bir kimyasal olan BPA'nın pankreasta beta hücre kümesini, proliferasyon kapasitesini (9,16,17,31) ve glukagon ekspresyonunu artırdığı (16); beta hücre apoptozunu ise azalttığı bildirilmiştir (33). Bazı çalışmalarda ise anılan bulguların aksine BPA'nın pankreasta beta hücre kümesini ve proliferasyon kapasitesini azalttığı; buna karşın beta hücre apoptozunu artırdığı ifade edilmiştir (11-13). Diğer taraftan, BPA'nın pankreasta adacık alanı üzerinde önemli bir değişiklik oluşturmadığı da tespit edilmiştir (17). Sunulan çalışmada ise, pankreasta adacık sayısı, adacık çapı, adacık alanı ve beta hücre alanı parametreleri açısından gruplar arasında anlamlı bir fark saptanmadı. Buna göre, çalışmamızdaki adacık alanı bulgusu Özyayın ve ark. (17)'nin adacık alanı verisi ile uyumluluk göstermektedir. Bununla birlikte, yukarıda ifade edildiği üzere çalışmalardaki beta hücre kümesi bulgularının bizim çalışmamızdaki beta hücre alanı verilerin-

den farklı olması, uygulanan BPA dozu ve uygulama süresindeki farklılıklardan kaynaklanabilir. Diğer taraftan, çalışmamızda sıçanlara 100 mg/kg/gün olmak üzere tek BPA dozu uygulanmıştır. Ancak BPA'nın hem yüksek hem de düşük dozlarda pankreas üzerinde oluşturduğu etkileri ortaya çıkarabilmek için daha geniş çerçeveli çalışmalara ihtiyaç duyulmaktadır.

Yapılan çalışmalarda, BPA'nın pankreas beta hücre hattı olan INS-1E hücrelerinde nekroz sonucu hücre canlılığı azalttığı bildirilse de (14), BPA grubu ile kontrol grubu pankreasları arasında belirgin farkların olmadığı da ileri sürülmüştür (17). Diğer taraftan, BPA'nın karaciğer dokusunda nekrotik lezyonlara, konjesyon alanlarına (34,35), venlerde dilatasyona, kupffer hücrelerinde artışa ve lenfosit infiltrasyonuna yol açtığı tespit edilmiştir. Bununla birlikte, BPA maruziyetinin böbrekte proksimal tübülde dilatasyona, tübül nekroza ve glomerüler konjesyona neden olduğu (34); ayrıca beyinde hiperkromatik hücre sayısını artırdığı rapor edilmiştir (36). Sunulan çalışmada ise, pankreasın endokrin bölümündeki histopatolojik hasar skorunun kontrol grubuna göre BPA grubunda anlamlı bir şekilde arttığı belirlendi. Çalışmamızdaki bu bulgu Özyayın ve ark. (17)'nin çalışması ile paralellik göstermemektedir. Bunun sebebi, çalışmamızda 100 mg/kg/gün olmak üzere yüksek BPA dozu kullanılırken, Özyayın ve ark. (17)'nin çalışmasında sırasıyla 5, 50 ve 500 µg/kg/gün olan düşük BPA dozlarının kullanılmasıdır. Bu yüzden pankreasta histopatolojik değişiklikler oluşmamış olabilir. Histopatolojik değişikliklerin gözlemlendiği diğer çalışmalara bakıldığında; Poormosavi ve ark. (34)'nin 10 mg/kg/gün, Aydoğan ve ark. (36) ile Korkmaz ve ark. (35)'nin ise 25 mg/kg/gün olan daha yüksek BPA dozlarını kullandıkları dikkati çekmektedir. Buna göre, BPA'nın doza bağlı olarak dokularda histopatolojik değişikliklerin oluşumunu tetikleyebileceği ve hücre fonksiyonlarını olumsuz etkileyebileceği düşünülebilir. Bununla birlikte, araştırma imkanlarının kısıtlı olması nedeniyle plazma insulin ve glukoz seviyeleri ölçülemedi. Söz konusu parametreler pankreasta meydana gelen hasarın klinik yansımalarını değerlendirebilmek açısından oldukça önem arz ettiğinden, bundan sonra planlanacak çalışmalarda bu parametrelerin de incelenmesi önerilmektedir.

Pankreas beta hücrelerinde ekspresyon alan ERα, insulin biyosentezinin ve sekresyonunun düzenlenmesinde rol oynar. ERα'nın 17β-östrodiol ve çevresel bir östrojen olan BPA tarafından aktivasyonu insulin biyosentezinin artışı sağlar (19). Yapılan çalışmalarda, BPA uygulanan diyabetik hayvanların pankreasında ERα mRNA seviyesinin arttığı bildirilmiştir (21). Bununla birlikte, BPA'nın ERα immünoreaktivitesini endometriumda (37), meme bezi kanal epitel hücrelerinde (38) ve testiste artırdığı (39); buna karşın vajinada azalttığı tespit edilmiştir (40). Çalışmamızda ise, pankreasın endokrin bölümünde ERα immünoreaktivitesinin kontrol grubuna göre BPA grubunda anlamlı bir şekilde

arttığı belirlendi. Çalışmamızdaki bu bulgu Ahmed ve ark. (40)'nin çalışmasıyla paralellik göstermemektedir. Bu durum, vücudun farklı organlarında ERα'nın rolüne göre immünoreaktivitesinde çeşitlilik görülebileceği ile açıklanabilir. Diğer taraftan, elde edilen bu sonuç pankreas (21) ve diğer birçok organ (37-39) üzerine yapılmış çalışmalarla uyumluluk göstermektedir. Buna göre, ERα'nın BPA tarafından uyarılması daha fazla insülin sinyali üretilmesine ve insülin biyosentezinin artmasına yol açabilir. Böylece vücutta glukoz homeostazisi bozulabilir ve insülin direncine yakınlık oluşabilir.

Protein, lipid ve DNA modifikasyonları ile serbest radikal oluşumunu önleyen en önemli antioksidanlarından biri KoQ10'dur (24). Yapılan çalışmalarda, KoQ10'un diyabetik sıçanlarda metformin ile birlikte uygulandığında pankreasta apoptotik hücre sayısını azalttığı ve adacıklardaki insülin boyanma yoğunluğunda önemli bir iyileşme sağladığı tespit edilmiştir (41). Bununla birlikte, KoQ10'un deneysel pankreatit modelinde interstisyel ödem, inflamatuvar hücre infiltrasyonu ve asiner hücre nekrozu gibi histopatolojik değişiklikleri azalttığı bildirilirken (27), diyabetik hayvanlarda pankreas lezyonlarının gelişmesini engellemediği de ileri sürülmüştür (25). Çalışmamızda ise, BPA grubu ile KoQ10+BPA grubu arasında histopatolojik veriler açısından önemli bir fark olmadığı saptandı. Elde edilen bu sonuç Sena ve ark. (25)'nin verileri ile uyumluluk göstermektedir. Diğer taraftan, Akdeniz diyetine eklenen KoQ10'un tokluk serum ERα mRNA seviyesini artırdığı saptanmıştır (42). Sunulan bu çalışmada ise, pankreasın endokrin bölümündeki ERα immünoreaktivitesi açısından BPA grubuna ile KoQ10+BPA grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı tespit edildi. Buna göre, KoQ10'un BPA maruziyeti deney modelinde pankreas üzerindeki etkilerini ortaya çıkarabilmek için farklı doz ve sürelerde etkisini araştıran başka çalışmaların yapılması gereklidir.

Sonuç olarak; BPA, pankreasta ERα immünoreaktivitesini değiştirebilir ve histofizyolojik bozukluklara neden olabilir. Bununla birlikte, KoQ10'un BPA'ya maruz kalan sıçanların pankreasındaki olası etkilerini ortaya çıkarmak için daha fazla araştırmaya ihtiyaç duyulmaktadır.

Etik onam: Çalışma, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu'nun izni ile gerçekleştirildi (Tarih:30/07/2019 No:64583101/2019/072).

Kaynaklar

1. Suzuki A, Sugihara A, Uchida K, Sato T, Ohta Y, Katsu Y, et al. Developmental effects of perinatal exposure to bisphenol A and diethylstilbestrol on reproductive organs in female mice. *Reprod Toxicol*. 2002;16(2):107-16.
2. Tan BL, Kassim NM, Mohd MA. Assessment of pubertal development in juvenile male rats after sub-acute exposure to bisphenol A and nonylphenol. *Toxicol Lett*. 2003;143(3):261-70.
3. Markey CM, Michaelson CL, Veson EC, Sonnenschein C, Soto AM. The mouse uterotrophic assay: a reevaluation of its validity in assessing the estrogenicity of bisphenol A. *Environ Health Perspect*.

2001;109(1):55-60.

4. Song H, Zhang T, Yang P, Li M, Yang Y, Wang Y, et al. Low doses of bisphenol A stimulate the proliferation of breast cancer cells via ERK1/2/ERRγ signals. *Toxicol In Vitro*. 2015;30(1 Pt B):521-8.
5. Qiu LL, Wang X, Zhang XH, Zhang Z, Gu J, Liu L, et al. Decreased androgen receptor expression may contribute to spermatogenesis failure in rats exposed to low concentration of bisphenol A. *Toxicol Lett*. 2013;219(2):116-24.
6. Batista TM, Alonso-Magdalena P, Vieira E, Amaral ME, Cederroth CR, Nef S, et al. Short-term treatment with bisphenol-A leads to metabolic abnormalities in adult male mice. *PLoS One*. 2012;7(3):e33814.
7. Filiz AK. Pankreas fiziolojisi. *Türkiye Klinikleri J Gastroenterohepatol-Special Topics*. 2017;10(3):122-5.
8. Adachi T, Yasuda K, Mori C, Yoshinaga M, Aoki N, Tsujimoto G, et al. Promoting insulin secretion in pancreatic islets by means of bisphenol A and nonylphenol via intracellular estrogen receptors. *Food Chem Toxicol*. 2005;43(5):713-9.
9. Ding S, Fan Y, Zhao N, Yang H, Ye X, He D, et al. High-fat diet aggravates glucose homeostasis disorder caused by chronic exposure to bisphenol A. *J Endocrinol*. 2014;221(1): 167-79.
10. Alonso-Magdalena P, Morimoto S, Ripoll C, Fuentes E, Nadal A. The estrogenic effect of bisphenol A disrupts pancreatic beta-cell function in vivo and induces insulin resistance. *Environ Health Perspect*. 2006;114(1):106-12.
11. Bodin J, Bølling AK, Samuelsen M, Becher R, Løvik M, Nygaard UC. Long-term bisphenol A exposure accelerates insulinitis development in diabetes-prone NOD mice. *Immunopharmacol Immunotoxicol*. 2013;35(3):349-58.
12. Bodin J, Bølling AK, Becher R, Kuper F, Løvik M, Nygaard UC. Transmaternal bisphenol A exposure accelerates diabetes type 1 development in NOD mice. *Toxicol Sci*. 2014;137(2):311-23.
13. Alonso-Magdalena P, García-Arévalo M, Quesada I, Nadal Á. Bisphenol-A treatment during pregnancy in mice: a new window of susceptibility for the development of diabetes in mothers later in life. *Endocrinology*. 2015;156(5):1659-70.
14. Weldingh NM, Jørgensen-Kaur L, Becher R, Holme JA, Bodin J, Nygaard UC, et al. Bisphenol A is more potent than phthalate metabolites in reducing pancreatic β-cell function. *Biomed Res Int*. 2017;2017:4614379.
15. Alonso-Magdalena P, Laribi O, Ropero AB, Fuentes E, Ripoll C, Sorria B, et al. Low doses of bisphenol A and diethylstilbestrol impair Ca²⁺ signals in pancreatic alpha-cells through a nonclassical membrane estrogen receptor within intact islets of Langerhans. *Environ Health Perspect*. 2005;113(8):969-77.
16. 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 Investig*. 2016;25(3):171-9.
17. Ozaydin T, Oznurlu Y, Sur E, Celik I, Uluisik D, Dayan MO. Effects of bisphenol A on antioxidant system and lipid profile in rats. *Biotech Histochem*. 2018;93(4):231-8.
18. Nadal A, Alonso-Magdalena P, Soriano S, Ripoll C, Fuentes E, Quesada I, et al. Role of estrogen receptors alpha, beta and GPER1/GPR30 in pancreatic beta-cells. *Front Biosci*. 2011;16:251-60.
19. Nadal A, Alonso-Magdalena P, Soriano S, Quesada I, Ropero AB. The pancreatic beta-cell as a target of estrogens and xenoestrogens: Implications for bloodglucose homeostasis and diabetes. *Mol Cell Endocrinol*. 2009;304(1-2):63-8.
20. Gao H, Yang BJ, Li N, Feng LM, Shi XY, Zhao WH, et al. Bisphenol A and hormone-associated cancers: current progress and perspectives. *Medicine (Baltimore)*. 2015;94(1):e211.
21. Kang HS, Yang H, Ahn C, Kang HY, Hong EJ, Jaung EB. Effects of xenoestrogens on streptozotocin-induced diabetic mice. *J Physiol Pharmacol*. 2014;65(2):273-82.
22. Hernández-Camacho JD, Bernier M, López-Lluch G, Navas P. Coenzyme Q10 supplementation in aging and disease. *Front Physiol*. 2018;9:44.

23. Sun IL, Sun EE, Crane FL, Morré DJ. Evidence for coenzyme Q function in transplasma membrane electron transport. *Biochem Biophys Res Commun.* 1990;172(3):979-84.
24. Saini R. Coenzyme Q10: The essential nutrient. *J Pharm Bioallied Sci.* 2011;3(3):466-7.
25. Sena CM, Nunes E, Gomes A, Santos MS, Proença T, Martins MI, et al. Supplementation of coenzyme Q10 and alpha tocopherol lowers glycosylated hemoglobin level and lipid peroxidation in pancreas of diabetic rats. *Nutr Res.* 2008;28(2):113-21.
26. Lorza-Gil E, de Souza JC, García-Arévalo M, Vettorazzi JF, Marques AC, Salerno AG, et al. Coenzyme Q10 protects against β -cell toxicity induced by pravastatin treatment of hypercholesterolemia. *J Cell Physiol.* 2019;234(7):11047-59.
27. Mirmalek SA, Boushehrinejad AG, Yavari H, Kardeh B, Parsa Y, Salimi-Tabatabaee SA, et al. Antioxidant and anti-inflammatory effects of coenzyme Q10 on L-arginine-induced acute pancreatitis in rat. *Oxid Med Cell Longev.* 2016;2016:5818479.
28. Modi KP, Vishwakarma SL, Goyal RK, Bhatt PA. Beneficial effects of coenzyme Q10 in streptozotocin-induced type I diabetic rats. *Iranian Journal Of Pharmacology & Therapeutics.* 2006;5:61-5.
29. Yousaf B, Amina, Liu G, Wang R, Qadir A, Ali MU, et al. Bisphenol A exposure and healing effects of *Adiantum capillus-veneris* L. Plant extract (APE) in bisphenol A-induced reproductive toxicity in albino rats. *Environmental Science and Pollution Research International.* 2016;23(12):11645-57.
30. Fouad AA, Al-Sultan AL, Yacoubi MT. Coenzyme Q10 counteracts testicular injury induced by sodium arsenite in rats. *European Journal of Pharmacology.* 2011;655(1-3):91-8.
31. Elbe H, Öztürk F, Taşlıdere E, Çetin A, Doğan Z, Avcı S, et al. Wistar albino sıçanlarda streptozotocin ile oluşan diyabetik pankreas hasarında caffeic acid phenethyl ester (CAPE)'in tedavi edici etkileri. *Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Tıp Dergisi.* 2015;2(1):22-9.
32. Sandıkcı M, Karagenc L, Yıldız M. Changes in the pancreas in experimental diabetes and the effect of lycopene on these changes: Proliferating, apoptotic, and estrogen receptor α positive cells. *Anat Rec.* 2017;300(11):2000-7.
33. Garcia-Arévalo M, Alonso-Magdalena P, Serviña JM, Boronat-Belda T, Merino B, Villar-Pazos S, et al. Maternal exposure to bisphenol-A during pregnancy increases pancreatic β cell growth during early life in male mice offspring. *Endocrinology.* 2016;157(11):4158-71.
34. Poormoosavi SM, Najafzadehvarzi H, Behmanesh MA, Amirgholami R. Protective effects of asparagus officinalis extract against bisphenol A-induced toxicity in wistar rats. *Toxicol Rep.* 2018;5:427-33.
35. Korkmaz A, Ahabab MA, Kolankaya D, Barlas N. Influence of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced oxidative damages in liver of male rats. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(10):2865-71.
36. Aydoğan M, Korkmaz A, Barlas N, Kolankaya D. The effect of vitamin C on bisphenol A, nonylphenol and octylphenol induced brain damages of male rats. *Toxicology.* 2008;249(1): 35-9.
37. Markey CM, Wadia PR, Rubin BS, Sonnenschein C, Soto AM. Long-term effects of fetal exposure to low doses of the xenoestrogen bisphenol-A in the female mouse genital tract. *Biol Reprod.* 2005;72(6):1344-51.
38. Ibrahim MA, Elbakry RH, Bayomy NA. Effect of bisphenol A on morphology, apoptosis and proliferation in the resting mammary gland of the adult albino rat. *Int J Exp Pathol.* 2016;97(1):27-36.
39. Takao T, Nanamiya W, Nazarloo HP, Matsumoto R, Asaba K, Hashimoto K. Exposure to the environmental estrogen bisphenol A differentially modulated estrogen receptor-alpha and -beta immunoreactivity and mRNA in male mouse testis. *Life Sci.* 2003;72(10):1159-69.
40. Ahmed RA, ElGhamrawy TA, Salama EE. Effect of prenatal exposure to bisphenol a on the vagina of albino rats: immunohistochemical and ultrastructural study. *Folia Morphol.* 2014;73(4):399-408.
41. Sun IO, Jin L, Jin J, Lim SW, Chung BH, Yang CW. The effects of addition of coenzyme Q10 to metformin on sirolimus-induced diabetes mellitus. *Korean J Intern Med.* 2019;34(2): 365-74.
42. Lopez-Moreno J, Quintana-Navarro GM, Delgado-Lista J, Garcia-Rios A, Alcalá-Díaz JF, Gomez-Delgado F, et al. Mediterranean diet supplemented with coenzyme Q10 modulates the postprandial metabolism of advanced glycation end products in elderly men and women. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci.* 2018;73(3):340-6.