

# Sıçanlarda Gebelik Süresince Yeşil Çay Tüketiminin Maternal ve Neonatal Hepatositlerde Sitokeratin-18 Üzerindeki Etkisi

The Effects of Green Tea Consumption during Pregnancy on the Cytokeratin-18 in Maternal and Neonatal Hepatocytes in Rats

## Öz

**Amaç:** Bu çalışmada, gebelikleri süresince yeşil çay ekstraktıyla beslenen sıçanların ve yavrularının karaciğer dokularında sSitokeratin-18 (SK-18) düzey ve ekspresyonunu değerlendirmek amaçlanmıştır.

**Yöntem:** On sekiz adet Wistar albino gebe sıçan, iki gruba ayrıldı: kontrol grubu ve (oral gavaj ile 50 mg/kg yeşil çay ekstraktı verilen) yeşil çay grubu. Yirmi bir günlük gebelikten sonra, her iki gruptaki anne sıçanların ve doğdukları ilk gün yavruların karaciğer dokuları çıkarıldı. Bu doku örneklerinde SK-18 ekspresyonu ve düzeyi immünohistokimyasal olarak ve enzime bağlı immünosorbent analiz (ELISA) ile değerlendirildi.

**Bulgular:** İki grupta da maternal dokularda santral venlerin çevresindeki hepatositlerin hücre zarları yakınında kuvvetli SK-18 immünoreaksiyonu gözlemlendi. Kontrol grubu yenidoğan dokularında santral ven çevresindeki hepatositlerde zayıf SK-18 immünoreaksiyonu gözlenirken, yeşil çay grubunda hepatositlerin hücre zarı yakınında oldukça kuvvetli SK-18 immünoreaksiyonu gözlemlendi. Biyokimyasal incelemede de, maternal SK-18 düzeyleri her iki grupta da yüksek olup birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermezken, neonatal SK-18 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yeşil çay grubunda anlamlı biçimde daha yüksekti.

**Sonuç:** İmmünohistokimya ve ELISA sonuçlarımız gebelik süresince maternal yeşil çay tüketiminin yenidoğan karaciğerinde hücre hasarına neden olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Sözcükler:** karaciğer; sitokeratin-18; yenidoğan; yeşil çay

## Abstract

**Aim:** In this study, we aimed to evaluate the cCytokeratin-18 (CK-18) levels and expression in liver tissues of rats that were fed with green tea extract during pregnancy and their pups.

**Methods:** Eighteen pregnant Wistar albino rats were divided into two groups: the control group and the green tea group (orally gavaged with 50 mg/kg of green tea extract). After 21- days of gestation, liver tissues were removed from the mother rats and their pups on the first postnatal day in both groups. The CK-18 levels and expression in these tissue samples were evaluated immunohistochemically and by use of enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA).

**Results:** Strong CK-18 immunoreaction was observed near the cell membranes of hepatocytes around the central veins in maternal liver tissues in both groups. While a weak CK-18 immunoreaction was observed in hepatocytes around the central veins in the control group neonatal tissues, a strong CK-18 immunoreaction was observed near the cell membranes of hepatocytes in the green tea group. Biochemically also, while maternal CK-18 levels were high in both groups with no statistically significant difference, neonatal CK-18 levels were significantly higher in the green tea group than in the control group.

**Conclusion:** Our immunohistochemical and ELISA results suggest that maternal consumption of green tea during pregnancy may lead to cell injury in the neonatal liver.

**Keywords:** cytokeratin-18; green tea; liver; newborn

Oya Sayın<sup>1</sup>, Seren Gülşen Gürgeç<sup>2</sup>, Ferihan Çetin<sup>3</sup>, Ayşe Tuç Yücel<sup>4</sup>, Selda İldan Çalım<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Biyokimya Bölümü

<sup>2</sup> Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Histoloji ve Embriyoloji Bölümü

<sup>3</sup> İstanbul Medeniyet Üniversitesi, Tıp Fakültesi, Fizyoloji Anabilim Dalı

<sup>4</sup> Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Anatomi Bölümü

<sup>5</sup> Celal Bayar Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Fakültesi, Ebelik Bölümü

Geliş/Received : 17.02.2021

Kabul/Accepted: 10.04.2021

DOI: 10.21673/anadoluklin.881516

Yazışma yazarı/Corresponding author

Oya Sayın

Dokuz Eylül Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri Meslek Yüksekokulu, Biyokimya Bölümü, İzmir, Türkiye  
E-posta: oya.sayin@deu.edu.tr

ORCID

Oya Sayın: 0000-0003-0879-9091

Seren Gülşen Gürgeç: 0000-0002-5514-1404

Ferihan Çetin: 0000-0003-1852-4622

Ayşe Tuç Yücel: 0000-0001-8500-4251

Selda İldan Çalım: 0000-0001-8500-4251

## GİRİŞ

Yeşil çay *Camellia sinensis* bitkisinin yapraklarından elde edilen ve dünyada (sudan sonra) ikinci en çok tüketilen içecektir. (-)-Epigallokateşin gallat (EGKG), (-)-epikateşingallat (EKG), (-)-epigallokateşin (EGK) ve (-)-epikateşin (EK), yapısında bulunan en önemli kateşinlerdir (1). Epidemiyoloji ve laboratuvar çalışmalarında yeşil çayın antioksidan, antihiperglisemik, hipokolesterolemik ve antikarsinojenik etkileri olduğu gösterilmektedir (2).

Literatürde yeşil çayın karaciğerde iskemi-reperfüzyon hasarını, fibrozisi ve alkolün indüklediği hasarı azaltıcı, olumlu etkileri olduğu gösterilmişken (3–9), son zamanlarda yüksek miktarda EGKG (750–1500 mg/kg) ile yapılan çalışmalarda karaciğer toksisitesi bildirilmiştir (10–12). İnsanda 4 hafta boyunca 800 mg/gün, sıçanlarda ise kısa dönemde (28 gün) 2000 mg/gün, uzun dönemde (6 ay) 1200 mg/gün yeşil çay tüketiminin güvenli olduğu gösterilmiştir (13–15). Yine maternal yeşil çay tüketiminin embriyoda kuyruk gelişim geriliğine, anormal aksiyal fleksiyona ve ekstremite oluşum gecikmelerine ve yenidoğanda spina bifida ve anensefali gibi sonuçlara yol açtığına dair çalışmalar da mevcuttur (16,17).

Sitokeratinler epitel dokularda sitoplazmada bulunan, dokuya/organa spesifik proteinlerdir. Sitokeratin-18 (SK-18) hepatik, intestinal ve diğer epitel dokularda total proteinlerin yaklaşık %5'inde bulunan ara filament proteindir. Kaspazlar olarak bilinen hücre içi sistein proteaz ailesi, SK-18 gibi substratlarla reaksiyona girmek suretiyle hepatosit hasarında ve apoptozda rol oynar, re. SK-18 salınımı; DNA sentezi, protein sentezi ve hücre bölünmesi ile paraleldir ve bu nedenle karaciğer karsinomunda yüksek düzeyde gözlenir (18,19).

Literatürde gebelik süresince yeşil çay tüketiminin yenidoğanlar üzerindeki olası yan etkileri henüz açıklığa kavuşturulamamıştır. Bu eksiklikten hareketle, bu çalışmada gebe sıçanlara gebelik süresince verilen yeşil çay ekstraktının yenidoğan sıçanların karaciğer dokularında neden olabileceği hücre hasarını immünohistokimyasal ve biyokimyasal olarak incelemek amaçlanmıştır, bu amaçla hücre hasar belirtici olan SK-18 molekülünün ekspresyonu ve düzeyi değerlendirilmiştir.

## GEREÇ VE YÖNTEMLER

### Deney protokolü

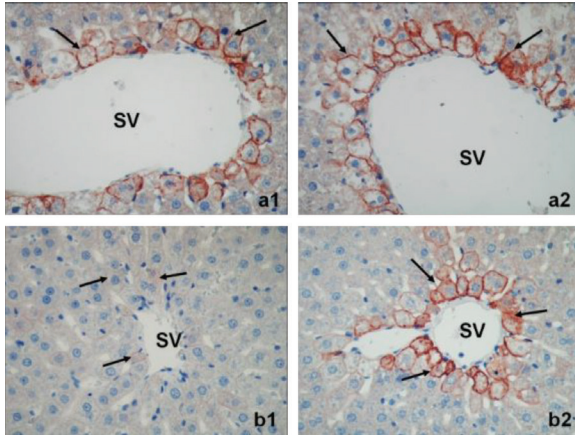
Deneyde 18 adet Wistar albino gebe sıçan kullanıldı. Denekler deney süresince Celal Bayar Üniversitesi Deney Hayvanları Uygulama ve Araştırma Merkezi hayvan laboratuvarında sıçan pelet yemi ve musluk suyu ile, 12 saat (07.00–19.00) aydınlık 12 saat (19.00–07.00) karanlık periyodunda,  $21 \pm 1^\circ\text{C}$  ortam sıcaklığında beslendi.

Dişi sıçanlar erişkin erkek sıçanlarla çiftleştirildi; vajinal smearlarda sperm gözlenen ve vajinal plağa sahip sıçanlarda tarih embriyonik 0. gün olarak kabul edildi. Çiftleşmesi tespit edilmiş olan gebe sıçanlar iki gruba ayrıldı: kontrol grubu (standart diyet ve sınırsız içme suyu) ve yeşil çay grubu (standart diyet ve sınırsız içme suyu ile oral gavajla 21 gün 50 mg/kg yeşil çay ekstraktı) (20).

Deneye 21 gün devam edildi ve 21 günlük gebelik sonunda her anneden rastgele 2 yavru seçildi. İki grupta toplam 18 anne ve doğdukları ilk gün 36 yavru sıçan intraperitoneal ketamin (90mg/kg) ve ksilazin (5mg/kg) enjeksiyonu ile sakrifiye edildi. Servikal dislokasyondan sonra iki grupta da anne ve yenidoğan sıçanların karaciğer dokuları çıkarıldı. Bu dokuların bir kısmı ışık mikroskopuyla takip için %10'luk formaldehit fiksatifine kondu; diğer kısmı ise serum fizyolojik ile hızlıca yıkanıp kan uzaklaştırıldıktan sonra biyokimyasal parametreleri değerlendirmek üzere  $-80^\circ\text{C}$ 'de derin dondurucuda saklandı. Maternal ve neonatal dokularda apoptoz belirtici olan SK-18'in ekspresyonu immünohistokimyasal olarak, dokudaki düzeyleri ise enzime bağlı immünosorbent analiz (ELISA) ile değerlendirildi.

### Yeşil çayın sıçanlara oral gavajla verilmesi

Anne sıçanlara 21 gün boyunca oral gavajla yeşil çay ekstraktı verildi. Yüz gramlık kurutulmuş yeşil çay yaprakları laboratuvar blendırından geçirildi ve 1 saat süresince 1L distile suda  $35^\circ\text{C}$ 'de ekstrakte edildi (model no: 64825; Merck, Darmstadt, Almanya). Ekstrakt filtreden geçirilerek 3000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi. Temiz süpernatant alındı; kalan pelet distile suyla karıştırılarak  $35^\circ\text{C}$ 'de tekrar ekstrakte edildi ve ardından santrifüj edildi. Temiz süpernatant toplandı, yüksek basınç altında vakumlandı ve  $-20^\circ\text{C}$ 'de saklandı (20).



**Görsel 1.** Anne ve yenidoğan sıçanlarda karaciğer santral ven (SV) bölgesi SCK-18 immünohistokimya boyaması: (a1) anne kontrol grubu; (a2) anne yeşil çay grubu; (b1) yenidoğan kontrol grubu; (b2) yenidoğan yeşil çay grubu. (°: hücre periferleri boyanan hepatositler, (X400).

### İmmünohistokimyasal çalışmalar

İmmünohistokimyasal çalışmalar için SK-18 antikorunu kullanıldı. Deparafinizasyon ve rehidrasyondan sonra kesitler tris tamponu (distile suda çözünmüş 50 mM tris baz ve 150 mM NaCl) içinde bekletildi. Ardından kesitlere doku endojen peroksidazını inhibe etmek amacıyla 5 dk süresince %3'lük hidrojen peroksit (LabVision, ABD) uygulandı. Fosfat tampon solüsyonu (FTS) (Neomarker, Fremont, CA, ABD) ile yıkanan kesitler 1 saat oda ısısında bloklama solüsyonu (Invitrogen, CA, ABD) ile inkübe edildi ve ardından SK-18 antikorunu ile +4°C'de 1 saat inkübe edildi. Daha sonra FTS ile 3 defa yıkanan kesitlere biyotinlenmiş sekonder antikorunu ve streptavidin-konjuge *horseradish* peroksidazı (HRP) 30 dk süresince uygulandı (Invitrogen, CA, ABD). Reaksiyon diaminobenzidin (AEC, Thermo Scientific, Fremont, CA, ABD) ile görünür hale getirildi. Zemin boyaması Harris hematoksileni ile yapıldı. Fotoğraflar CX31 ışık mikroskobu (Olympus, Tokyo, Japonya) kullanılarak değerlendirildi (21).

### Biyokimyasal çalışmalar

**Sıçan doku örneklerinin hazırlanması ve protein ölçümleri:** Örnekler homojenizasyondan önce üzerindeki kandan arındırılmak üzere 1xFTS (pH: 7,4) ile yıkandı; sonrasında tartım yapıldı. Doku homojenizasyonu için 100 mM tris, pH 7,4, 150 mM NaCl, 1 mM EDTA, %1 triton X-100, %5 sodyumdeoksikolat, proteaz inhibitör kokteyli karışımı ile hazırlanmış

doku ekstraksiyon tamponu kullanıldı. Her doku örneğinde 0,1 g ağırlık için 1:10 şeklinde doku ekstraksiyon tamponu kullanıldı. Elde edilen homojenatlar 4000 rpm'de 15 dk santrifüj edildi ve süpernatantlarda bikinkoninik asit yöntemi ile protein ölçümü yapıldı (Thermo Scientific, Rockford, IL, ABD). Süpernatantlar biyokimyasal çalışmalara dek -80°C'de saklandı.

**ELISA ölçümleri:** Kontrol ve yeşil çay gruplarında maternal ve neonatal karaciğer dokusunda SK-18 düzeyleri ELISA kiti (LifeSpan Bioscience Inc., katalog no. LS-F5977) ile çalışıldı. Kit *sandwich* ELISA prensibine dayanmaktadır. Doksan altı kuyucuklu plakların iç yüzeyleri SK-18'e özgü antikorlarla kaplıdır. Örnekler ve SK-18 içeriği bilinen standartlar, spesifik SK-18 antikorlarıyla birlikte bu kuyucukların içinde inkübe edildi. Oluşan antijen-antikor kompleksinde bağlanamayan moleküller kuyucuklar yıkanarak ortamdan uzaklaştırıldı. Ardından SK-18 antijenine spesifik biyotinlenmiş monoklonal antikor ile muamele edildi. Sekonder antikorun fazlası yıkandıktan sonra kuyucuklara HRP-avidin eklendi ve dört üyeli kompleks tamamlanmış oldu. İnkübasyon süresi bitiminde bir yıkama işlemi ile serbest kalan konjugat ortamdan uzaklaştırıldı. Peroksidaz ile reaksiyona giren tetrametil benzidin (TMB) substratı kuyucuklara eklendiğinde enzimatik reaksiyon başlatılmış oldu. Belirlenen inkübasyon süresinin bitiminde enzimatik reaksiyon durdurma solüsyonu ile durdurularak kuyucuklarda oluşan sarı renkli çözeltinin 450 nm'de absorbansı okundu. Renk yoğunluğu doğrudan örnekteki SK-18 miktarıyla orantılıdır. Kitin deteksiyon limitleri 0,156–10 ng/ml arasındadır.

Standartlar duplike olarak çalışıldı. Stok standarttan (40 ng/ml) 10,5, 2,5, 1,25, 0,625, 0,313 ve 0,157 ng/ml konsantrasyonlarında standartlar hazırlandı. Standart ve örneklerden 100 µl her kuyucuğa eklendi. Bir saat süresince 37°C'de inkübe edildi. Kitin prosedürüne uygun olarak Reaktif A'dan 100 µl eklenerek 1 saat süresince 37°C'de inkübe edildi. Solüsyon aspire edildi ve yıkama solüsyonu ile 3 kez yıkandı. Reaktif B'den 100 µl eklenerek 30 dakika süresince 37°C'de inkübe edildi. Solüsyon aspire edildi ve yıkama solüsyonu ile 5 kez yıkandı. Doksan µl TMB substratı eklenerek 10–20 dakika 37°C'de inkübe edildi. Elli µl durdurma solüsyonu eklenerek reaksiyon durduruldu. Absorbanslar (Synergy HT Multi-Detection Microplate Reader,

BIO-TEK) plaka okuyucu ile 450 nm dalga boyunda ölçüldü. Sonuçlar pg/mg protein şeklinde hesaplandı ve ifade edildi.

### İstatistiksel analiz

İstatistiksel analiz SPSS (v. 15.0) programı kullanılarak gerçekleştirildi. Grupların ikili karşılaştırmalarında Mann-Whitney -U testi kullanıldı. Veriler ortanca±standart sapma olarak ifade edildi.  $p < 0,05$  istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

### Çalışma etiği

Çalışma protokolü için, Celal Bayar Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından'n onaylanmıştır dan (21.01.2015-/77.637.435.11). tarih ve protokol no ile Etik onay alınmıştır.

## BULGULAR

### İmmünohistokimyasal bulgular

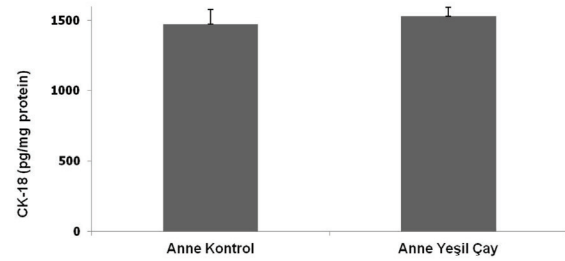
Kontrol grubu maternal dokularında santral venlerin çevresindeki hepatositlerin hücre zarları yakınında kuvvetli SK-18 immünoreaksiyonu gözlemlendi. Benzer bir reaksiyon yeşil çay grubu maternal dokularındaki santral ven çevresindeki hepatositlerde de izlendi. Böylece maternal dokular bakımından kontrol ve yeşil çay grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı fark tespit edilmedi ( $p > 0,05$ ) (Görsel 1.a1 ve 1.a2). Neonatal dokularda ise, kontrol grubunda santral ven çevresindeki hepatositlerde zayıf SK-18 immünoreaksiyonu gözlenirken, yeşil çay grubunda hepatositlerin hücre zarı yakınında kontrol grubuna kıyasla kuvvetli SK-18 immünoreaksiyonu gözlemlendi ( $p = 0,018$ ) (Görsel 1.b1 ve 1.b2).

### Biyokimyasal bulgular

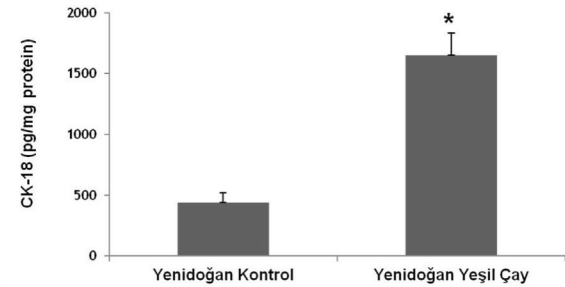
Maternal SCK-18 düzeyleri her iki grupta da yüksek olup birbirinden istatistiksel olarak anlamlı farklılık göstermezken, neonatal SCK-18 düzeyleri kontrol grubuna kıyasla yeşil çay grubunda anlamlı biçimde daha yüksekti SK-18SK-18( $p = 0,003$ ) (Görsel 2 ve 3).

## TARTIŞMA VE SONUÇ

Erken gkte mbriyonun kimyasal ajanlara karşı çok hassas olduğu erken gebelikte ve da olsa alkol ya da uyuşturucu madde alımı kısa süreli ve düşük dozda



Görsel 2. Anne sıçanlarda SCK-18 düzeyi karşılaştırması (ortanca±SDstandart sapma;  $p > 0,05$ ).



Görsel 3. Yenidoğan sıçanlarda SK-18 düzeyi karşılaştırması (ortanca±standart sapmaSD;  $p < 0,05$ )

dahi olsa nöronal gelişimde defekte yol açabilmektedir. Bazı ksenobiyotiklerin de yetişkinlerde toksik olmayan konsantrasyonlarıyla da dahi teratojenik etkileri olagösterebilir (16). Erken gebelikte yeşil çay tüketiminin güvenliliği konusunda da endişeler artmakta olup gebelik öncesinde fazla miktarda yeşil çay tüketiminin nöral tüp defektine neden olduğu gösterilmiştir (17). Bu nedenle bu çalışmada, gebelik süresince yeşil çay tüketiminin anne ve yenidoğan sıçanlar üzerindeki olası etkileri apoptoz belirteci olan SK-18 molekülü ile değerlendirilmiştir. Bulgularımız bu tüketimin anne üzerinde olumsuz etkileri olmadığını, fakat yenidoğanda apoptozu indüklediğini göstermiştir.

Karaciğerde hücre içi SK-18 molekülünün proteolizi dahil birçok mekanizmanın organ hasarını ve apoptozu indükleyici etkileri olabilmektedir. SK-18 molekülü DNA ve protein sentezinde ve hücre bölünmesinde önemli bir rol oynamaktadır. Apoptoz ise kronik karaciğer hastalığında merkezi bir rol oynamaktadır. SK-18 hepatositlerin apoptozu esnasında kaspazların (aspartat-spesifik sistein proteaz) substratlarından biri ve karaciğerde majör olarak bulunan ara filament proteinidir. SK-18, apoptozun erken döneminde yani membran asimetrisinin kaybindan ve DNA fragman-

tasyonundan önce kaspaz 3, 7 ve 9 tarafından, Asp238 ve Asp396 olmak üzere 2 farklı bölgeden kesilmektedir. Kesim sonucu oluşan SK18Asp396 neo-epitopu, spesifik olarak M30 monoklonal antikoru tarafından tanınmaktadır. Hepatositlerde SK-18 formları, M30 ve M65 fraksiyonlarıyla ölçülebilmektedir. M30, kaspazlar tarafından kesildikten sonra SK18Asp396 neo-epitopu olarak adlandırılan ve selektif hepatosit apoptotik belirteci olarak kabul edilen fraksiyonu tanınmaktadır. M65 fraksiyonu ise nekroza giden hücrelerden salınan bozulmamış, tam uzunlukta SK-18 epitopunu tespit etmektedir. Kısaca M30 ve M65 fraksiyonları hücrenin ölüm şeklini (apoptotik/nekrotik) yansıtmaktadır (19,20,22).

Çalışmamızda apoptozu göstermek amacıyla SK-18 molekülünün immünohistokimyasal olarak ekspresyonu ve biyokimyasal olarak doku düzeyi değerlendirildi ve hem SK-18 ekspresyonda hem doku düzeyinde artış saptandı. Apoptoz belirteci olan SK-18 molekülünün artışı, gebelik süresince yeşil çay tüketiminin yenidoğan karaciğerinde apoptotik süreç neden olabileceğini göstermektedir.

Literatürde yeşil çayın hepatik hücre hasarını azaltıcı etkisi olduğu gösterilmiştir. Bun ve ark. (2) yeşil çayı iki grup sıçana 2500 mg/kg/gün 6 hafta ve 1440–2000 mg/kg/gün 12 hafta şeklinde uygulamış ve karaciğer fonksiyonlarında iyileşme gözlemlenmiştir. Morita ve ark. (23) gebe sıçanlara 6.–17. günlerde oral gavajla 200, 600 ve 2000 mg/kg/gün dozlarında yeşil çay vermiş ve fetal gelişimin olumsuz etkilenmediğini göstermiştir. Chu ve ark. da (24,25) 7,5 günlük gebe sıçanlarda yeşil çay ekstraktının (tek doz 550 mg/kg) plasenta aracılığıyla fetüse ulaştığını, fetal organlara dağıldığını ve fetal gelişimi olumsuz etkisilemediğini bildirmiştir. Yine Isbrucker ve ark. (26) gebe sıçanlara organogenez aşamasında (6.–17. günlerde) 111, 337 ve 1079 mg/kg/gün dozlarında yeşil çay verildiğinde bunun teratojenik etkisi olmadığını gözlemlenmiştir.

Fakat bazı çalışmalarda ise olumsuz bulgular ortaya konmuştur. Wang ve ark. (16) sıçan embriyolarına embriyogenez aşamasında (9,5.–11,5. günlerde) yeşil çay verdikleri *in vitro* çalışmalarında, yeşil çayın orta derecede embriyotoksik olup yüksek dozda embriyoda malformasyonlara yol açtığını bildirmiş ve, bu bölgelerdeki apoptotik hücreleri göstermiştir. Correa ve ark. (17), gebelik öncesi yeşil çay tüketiminin dihid-

rofolat redüktaz enzim aktivitesini inhibe ederek nöral tüp defektine neden olduğunu saptamıştır. Lambert ve ark. (11) erkek farelerde tek doz EGKG'nin (1500 mg/kg) oksidatif stresi indükleyerek karaciğer toksisitesine neden olabileceğini göstermiştir. Galati ve ark. (12) da farelerde 100 mg/kg EGKG'nin karaciğer toksisitesine neden olduğunu bildirmiştir. EGKG karaciğerde enzimatik olan ya da olmayan oksidasyona maruz kalmakta ve bu da hücrede reaktif ara ürünlerinin oluşumu ile sonuçlanmaktadır ki, daha sonra bu reaktif oksijen ürünleri makromoleküllerle etkileşime girmekte ve karaciğerde toksisiteye neden olmaktadır (11).

Bizim bulgularımız da oksidasyona uğramasıyla oluşan oksidatif stres sonucunda yeşil çayın karaciğerde apoptozu indüklemekte olabileceğine işaret etmektedir. Bu nedenle daha geniş imkanlarla yapılacak yeni çalışmalarda oksidatif parametreler de (malondialdehit, 4-hidroksinonenal) değerlendirilmelidir.

Şimdiye kadarki çalışmalarda yeşil çay gebe sıçanlara gebeliğin belli dönemlerinde verilmiş olup bizim çalışmamızda olduğu gibi gebelik süresince verilmemiştir. Çalışmamızın bu açıdan literatüre önemli bir katkısı olabileceğini düşünmekteyiz. Bir diğer özelliği de sıçanlarda gebelik süresince yeşil çay tüketiminin maternal ve neonatal hepatik etkilerinin SK-18 gibi apoptotik belirteçlerle değerlendirildiği ilk çalışma olmasıdır.

Sonuç olarak yeşil çayın gebelikte kontrollü kullanılması gerektiğini düşünmekteyiz. İleriki çalışmalarımızda gebe sıçanlarda yeşil çayın farklı dozlarda tüketimine bağlı farklılıklara ve apoptotik süreç mekanizmalarına odaklanılacaktır.

### Çıkar Çatışması ve Finansman Bildirimi

Yazarlar bildirecek bir çıkar çatışmaları olmadığını beyan eder. Yazarlar bu çalışma için hiçbir finansal destek almadıklarını da beyan eder.

### KAYNAKLAR

1. Singh BN, Shankar S, Srivastava RK. Green tea catechin, epigallocatechin-3-gallate (EGCG): mechanisms, perspectives and clinical applications. *Biochem Pharmacol.* 2011;82(12):1807–21.
2. Bun SS, Bun H, Guédon D, Rosier C, Ollivier E. Effect of

- green tea extracts on liver functions in Wistar rats. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(7):1108–13.
3. Nakamoto K, Takayama F, Mankura M, Hidaka Y, Egashira T, Ogino T, ve ark. Beneficial effects of fermented green tea extract in a rat model of non-alcoholic steatohepatitis. *J Clin Biochem Nutr.* 2009;44(3):239–46.
  4. Zhi Z, Froh M, Connor HD, Li X, Conzelmann LO, Mason RP, ve ark. Prevention of hepatic ischemia-reperfusion injury by green tea extract. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2002;283:957–64.
  5. Zhong Z, Froh M, Lehnert M, Schoonhoven R, Yang L, Lind H, ve ark. Polyphenols from *Camellia sinensis* attenuate experimental cholestasis induced liver fibrosis in rats. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2003;285:1004–13.
  6. Li YM, Zhang XG, Zhou HL, Chen SH, Zhang Y, Yu CH. Effects of tea polyphenols on hepatic fibrosis in rats with alcoholic liver disease. *Hepatobiliary Pancreat Dis Int.* 2004;3:577–9.
  7. Arteel GE, Uesugi T, Bevan LN, Gäbele E, Wheeler MD, McKim SE, ve ark. Green tea extract protects against early alcohol-induced liver injury in rats. *Biol Chem.* 2002;383(3–4):663–70.
  8. Chen JH, Tipoe GL, Liong EC, So HSH, Leung KM, Tom WM, ve ark. Green tea polyphenols prevent toxin-induced hepatotoxicity in mice by down-regulating inducible nitric oxide-derived prooxidants. *Am J Clin Nutr.* 2004;80:742–51.
  9. Oz HS, McClain CJ, Nagasawa HT, Ray MB, Villiers WJ, Chen TS. Diverse antioxidants protect against acetaminophen hepatotoxicity. *J Biochem Mol Toxicol.* 2004;18:361–8.
  10. Mazzanti G, Menniti-Ippolito F, Moro PA, Cassetti F, Rascchetti R, Santuccio C, ve ark. Hepatotoxicity from green tea: a review of the literature and two unpublished cases. *Eur J Clin Pharmacol.* 2009;65:331–41.
  11. Lambert JD, Kennett MJ, Sang S, Reuhl KR, Ju J, Yang CS. Hepatotoxicity of high oral dose (-)-epigallocatechin-3-gallate in mice. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(1):409–16.
  12. Galati G, Lin A, Sultan AM, O'Brien PJ. Cellular and in vivo hepatotoxicity caused by green tea phenolic acids and catechins. *Free Radic Biol Med.* 2006;15:40(4):570–80.
  13. Chow HHS, Cai Y, Hakim IA, Crowell JA, Shahi F, Brooks CA, ve ark. Pharmacokinetics and safety of green tea polyphenols after multiple-dose administration of epigallocatechin gallate and polyphenon E in healthy individuals. *Clin Cancer Res.* 2003;9(9):3312–9.
  14. Chengelis CP, Kirkpatrick JB, Regan KS, Radovsky AE, Beck MJ, Morita O, ve ark. 28-day oral gavage toxicity studies of green tea catechins prepared for beverages in rats. *Food Chem Toxicol.* 2008;46(3):978–89.
  15. Morita O, Kirkpatrick JB, Tamaki Y, Chengelis CP, Beck MJ, Bruner RH. Safety assessment of heat-sterilized green tea catechin preparation: a 6-month repeat-dose study in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(8):1760–70.
  16. Wang CC, Chu KO, Chong WS, Li WY, Pang CP, Shum ASW, ve ark. Tea epigallocatechin-3-gallate increases 8-isoprostane level and induces caudal regression in developing rat embryos. *Free Radic Biol Med.* 2007;43(4):519–27.
  17. Correa A, Stolley A, Liu Y. Prenatal tea consumption and risks of anencephaly and spina bifida. *Ann Epidemiol.* 2000;10(7):476–7.
  18. Ismail SA, El-Saadany S, Ziada DH, Zakaria SS, Mayah WW, Elashry H, ve ark. Cytokeratin-18 in diagnosis of HCC in patients with liver cirrhosis. *Asian Pac J Cancer Prev.* 2017;18(4):1105–11.
  19. Yilmaz Y. Systematic review: caspase-cleaved fragments of cytokeratin 18—the promises and challenges of a biomarker for chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther.* 2009;30(11–12):1103–9.
  20. Abdel-Majeed S, Mohammad A, Shaima AB, Mohammad R, Mousa SA. Inhibition property of green tea extract in relation to reserpine-induced ribosomal strips of rough endoplasmic reticulum (rER) of the rat kidney proximal tubule cells. *J Toxicol Sci.* 2009;34(6):637–45.
  21. Gürgeç SG, Sayın O, Cetin F, Tuç Yücel A. Transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS) accelerates cutaneous wound healing and inhibits pro-inflammatory cytokines. *Inflammation.* 2014;37(3):775–84.
  22. Gürgeç SG, Karakuş AÇ, Çeçen D, Özen G, Koçtürk S. Usage of whey protein may cause liver damage via inflammatory and apoptotic responses. *Hum Exp Toxicol.* 2015;34(7):769–79.
  23. Morita O, Knapp JF, Tamaki Y, Stump DG, Moore JS, Nemeč MD. Effects of green tea catechin on embryo/fetal development in rats. *Food Chem Toxicol.* 2009;47(6):1296–303.
  24. Chu KO, Wang CC, Chu CY, Chan KP, Rogers MS, Choy KW, ve ark. Pharmacokinetic studies of green tea catechins in maternal plasma and fetuses in rats. *J Pharm Sci.* 2006;95:1372–81.
  25. Chu KO, Wang CC, Chu CY, Choy KW, Pang CP, Rogers MS. Uptake and distribution of catechins in fetal organs following in utero exposure in rats. *Hum Reprod.* 2006;22:280–7.
  26. Isbrucker RA, Edwards JA, Wolz E, Davidovich A, Bausch J. Safety studies on epigallocatechin gallate (EGCG) preparations. Part 3: teratogenicity and reproductive toxicity studies in rats. *Food Chem Toxicol.* 2006;44(5):6516–61.