

TARTRAZİNİN RAT PLASENTASI ÜZERİNE ETKİSİ

Effect of Tartrazine on Rat Placenta

Osman ÖZTÜRK¹, Selda KAHVECİ², Aslı OKAN OFLAMAZ², Sümeyye UÇAR³, Seher YILMAZ⁴, Züleyha DOĞANYİĞİT²

ÖZET

Amaç: Bu çalışmada, gıdalarda yaygın olarak kullanılan Tartrazinin, önemli sitokinlerden olan ve tümör büyümesi ile yakından ilişkili olan IL-6'nın ve hücre farklılaşması, apoptoz ile otofajide önemli rol oynayan Beklin-1 proteininin rat plasenta dokusundaki ekspresyon yoğunluğu araştırılması amaçlanmıştır.

Gereç ve Yöntemler: Bu çalışmada, 10 adet 70-100 günlük, 250-300 gr ağırlığındaki, Sprague Dawley ırkı dişi ratlar erkek ratlarla çiftleştirilerek dişi ratların plasentaları kullanıldı. Kontrol grubu (n=5) ve Tartrazin grubu (n=5) deney hayvanları gebeliklerinin 20. gününde sakrifiye edilerek plasentaları alındı. Hematoksilin-Eozin boyamasıyla histopatolojik değerlendirmesi yapıldı ve IL-6 ile Beklin-1 ekspresyonunu analiz etmek için immunohistokimyasal olarak histolojik incelemeleri yapıldı.

Bulgular: Plasentaların histopatolojisine bakıldığında, Tartrazin grubunun kontrol grubuna kıyasla, plasenta dokularında morfolojik olarak major bir değişim görülmedi. İmmünohistokimyasal olarak, Tartrazin grubu plasenta dokusunda Labrint alanda ve glikojenik hücrelerde Beklin-1 proteininin yoğun ekspresyona olduğu, kontrol grubuyla kıyaslandığında ekspresyon şiddetinin istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir farkın olduğu görüldü (p<0,05). IL-6'nın ise Tartrazin grubunda Desidua alanında ekspresyona olduğu ve kontrol grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü (p<0,05).

Sonuç: Tartrazin rat plasenta dokusunda tümör aktivitesini ve otofaji ve/veya apoptozu indükleyerek IL-6'nın ve Beklin-1 proteininin ekspresyonunu artırmış olabileceğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlardan, Tartrazin kullanımının gerek plasentadan yavruya geçişinde gerekse hücre ölüm mekanizmalarının tetiklenmesinde etkili olabileceği ve bu sonuçlarla ilerideki protein ve mRNA düzeyinde yapılacak çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Anahtar Kelimeler: Tartrazin; Placenta; IL-6; Beklin-1

ABSTRACT

Objective: This study, it was aimed to investigate the relationship between Tartrazine, which is widely used in foods, with the expression intensity of IL-6, which is one of the important cytokines and closely associated with tumor growth, and Beclin 1 protein, which plays an important role in cell differentiation, apoptosis, and autophagy, in rat placenta tissue.

Material and Methods: In this study, 10 female Sprague Dawley rats, 70-100 days old, weighing 250-300 g, were mated with male rats, and their placentas were used. Control group (n=5) and Tartrazine group (n=5) experimental animals were sacrificed on the 20th day of gestation and placentas were removed. Histopathological evaluation was performed by Hematoxylin-Eosin staining and histological examinations were performed by immunohistochemistry to analyze IL-6 and Beclin-1 expression.

Results: Histopathology of the placentas revealed no major morphologic change in the placental tissues of the Tartrazine group compared to the control group. Immunohistochemically, it was observed that Beclin-1 protein was intensely expressed in the Labrint area and glycogenic cells in the placenta tissue of the Tartrazine group, and there was a statistically significant difference in the intensity of expression when compared with the control group (p<0.05). IL-6 was found to be expressed in the area of desidua in the Tartrazine group and there was a statistically significant difference between them when compared with the control group (p<0.05).

Conclusion: It suggests that Tartrazine may have increased the expression of IL-6 and Beclin-1 protein in rat placental tissue by inducing tumor activity and autophagy and/or apoptosis. From the results obtained, we suggest that the use of Tartrazine may be effective both in the transition from the placenta to offspring and in triggering cell death mechanisms, and these results will shed light on future studies at the protein and mRNA levels.

Keywords: Tartrazine; Placenta; IL-6; Beclin-1

¹Yozgat Bozok Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Anabilim Dalı.
²Yozgat Bozok Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı.
³Erciyes Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Anatomi Anabilim Dalı.
⁴Yozgat Bozok Üniversitesi,
Tıp Fakültesi,
Anatomi Anabilim Dalı.

Osman ÖZTÜRK, Dr. Öğr. Ü.
(0000-0003-1156-7419)
Selda KAHVECİ, Dr. Öğr. Ü.
(0000-0002-0734-6720)
Aslı OKAN OFLAMAZ, Dr. Öğr. Ü.
(0000-0001-8152-7338)
Sümeyye UÇAR, Arş. Gör. Dr.
(0000-0003-3378-3745)
Seher YILMAZ, Doç. Dr.
(0000-0003-4551-995X)
Züleyha DOĞANYİĞİT, Doç. Dr.
(0000-0002-6980-3384)

İletişim:

Dr. Öğr. Ü. Selda KAHVECİ
Yozgat Bozok Üniversitesi Tıp Fakültesi
Histoloji-Embriyoloji Anabilim Dalı,
66200 Yozgat/Merkez

Geliş tarihi/Received: 26.09.2023

Kabul tarihi/Accepted: 30.11.2023

DOI: 10.16919/bozoktip.1366830

Bozok Tıp Derg 2023;13(4):123-130

Bozok Med J 2023;13(4):123-130

Giriş

Tartrazin (E 102, FD & C Sarı No. 5 olarak da bilinen), bir azo boyası olmakla birlikte kimyasal formülü 3-karboksi-5-hidroksi-1 (p-sülfopenil)-4-(sülfopenil azo) pirazolone tuzudur (1). Gıdalarda en sık kullanılan renklendiricilerden birisidir ve sarı bir renk elde etmek için genellikle tatlılarda, meyve sularında, reçellerde, hardalda ve gazlı içeceklerde gıda boyası olarak kullanılır (2). Ratlarda yapılan bir çalışmada Tartrazinin oral subkronik toksisitesi araştırılmış ve sıçan eritrositlerinde diskoid şekilden ekinositik forma doğru morfolojik bir değişime neden olduğu, mevcut 13 haftalık subkronik çalışma ile Tartrazinin sadece hepatik ve renal parametrelerde değişikliklere neden olmakla kalmayıp, aynı zamanda serbest radikallerin oluşumu ile oksidatif stresi indükleyebildiği için daha yüksek dozlarda etkilerinin daha riskli hale gelebileceği belirtilmiştir (3). Yapılan bir çalışmada, Tartrazin uygulamasının hem serebellar hem de serebral korteksin hücresel katmanlarında nöronal kayıp, vakuolar dejenerasyon ve diğer bazı histopatolojik değişikliklere neden olduğu gösterilmiştir (4). Bu bulgular, Tartrazinin sıçan beyinde nörodejeneratif değişiklikler, kromatoliz, piknoz ve apoptotik hücre ölümüne neden olabileceğini bulan çalışmayla paraleldir (5). Diğer yandan deney hayvanlarının Tartrazinin kabul edilebilir günlük doz alımının üstünde kullandıklarında hepatotoksik ve nefrotoksik etki gösterdiği belirtilmiştir (6). Yapılan çalışmalarda, hamile kadınlarda kullanılan bazı gıda katkı maddelerinin olası teratojen etkileri dikkat çekmiş ve hamilelik sırasında kullanılan gıda katkı maddelerinin olası teratojenik etkileri de birkaç çalışma ile gösterilmiştir (7, 8). Bu doğrultuda teratojenik madde maruziyetinin sonuçları embriyonal gelişim evresiyle yakından ilişkili olmakla birlikte kullanılan ilaçların ve/veya gıda katkı maddelerinin plasenta geçişinde önemli olduğudur. İlaçlar pasif difüzyon yoluyla plasentayı geçerken, herhangi bir zamanda geçen miktar, ilacın maternal dolaşımdaki konsantrasyonuna, fizikokimyasal özelliklerine ve ilacın ne kadar kolay geçeceğini belirleyen plasentanın özelliklerine bağlıdır (9). Son yıllardaki yapılan bir çalışmada, ratlarda 0,45 ve 4,5 mg/kg Tartrazin kullanımı; fetüslerde kardiyomegali, hepato-böbrek hasarı ve dalak pigmentasyonunun yanı sıra fetal rezorpsiyon ve mortaliteyi arttırdığı

gösterilmiştir (10).

Bununla birlikte literatürde Tartrazinin teratojenik etkileriyle ilgili az sayıda çalışma vardır. Bu doğrultuda çalışmamızda, oluşturulan rat modelinde gıdalarda yaygın olarak kullanılan Tartrazinin, önemli sitokinlerden olan ve tümör büyümesi ile yakından ilişkili olan IL-6'nın ve hücre farklılaşması, apoptoz ile otofajide önemli rol oynayan Beklin-1 proteininin rat plasenta dokusundaki ekspresyon yoğunluğunun araştırılması amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEMLER

Bu çalışma Erciyes Üniversitesi Hayvan Deneyleri Etik Kurulu 23/179 sayılı kararıyla etik kurul onayı alınarak gerçekleştirilmiştir. Çalışmada Erciyes Üniversitesi DEKAM'dan temin edilen 70-100 günlük, 250-300 gr ağırlığındaki Sprague Dawley ırkı dişi ratlar kullanılmıştır. Sıçanlar standart sıçan diyetiyle beslenmiş ve sıçanlara uygulanacak Tartrazin dozu türler arası dozaj dönüşüm şeması kullanılarak hesaplanmıştır (11). Seçilen dişi ratlar daha önce verimliliği kanıtlanmış erkek ratlarla çiftleştirilmiştir. Gebeliği doğrulanmış dişi ratlar 5'er adet olmak üzere iki gruba ayrılmıştır:

Kontrol Grubu (Gebe dişi rat n=5): Standart rat diyetine serum fizyolojik ilave edildi.

Tartrazin Grubu (Gebe dişi rat n=5): Gebelikleri süresince standart sıçan diyetine 4,5 mg/kg/gün dozunda Tartrazin ilave edildi (10). Gebeliğin 6-15. günlerini de kapsayacak şekilde kontrol grubuna salın verilirken, deney grubuna ise Tartrazin verildi. Tüm sıçanlar gebeliklerinin 20. gününde sakrifiye edilerek plasenta dokuları alınarak, histolojik incelemeleri yapıldı. Plasenta dokuları alındıktan sonra formaldehit içerisine konularak doku büyüklüğüne paralel olarak iki gün boyunca fikse edildi ve fiksasyonun ardından dokular bir gece boyunca akan su altında bekletildi (12). Parafin bloklardan alınan 5 µm kalınlığındaki kesitlere Hematoksilen-Eozin (H-E) boyası yapılarak dokularda oluşan histopatolojik değişiklikler (hücre şekli, morfolojisi, sayısı, ödem vs özellikleri yönünden) ışık mikroskobu altında (Olympus BX53) belirlendi. Ayrıca plasenta dokularındaki IL-6 (Elabscience; E-AB-40073) ve Beklin-1 (Elabscience; E-AB-70093) proteinlerinin immün reaktivitesi avidin-biotin peroksidaz yöntemi kullanılarak belirlenmiştir (12). IL-6 ve Beklin-1 proteinlerinin ekspresyonunu analiz etmek için

immünohistokimya yöntemi kullanıldı. Özetle, 5 µm kalınlığında deparafinize edilmiş kesitler, epitoplari açmak için sitrat tamponunda 2 x 4 kez 300 Watt'lık bir mikrodalga fırında ısıtıldı (pH: 6.0). Preparatlar daha sonra endojen peroksidaz aktivitesini inhibe etmek için metanol içinde %3 hidrojen peroksit çözeltisine alındı. Spesifik olmayan boyamayı önlemek için Ultra V blok solüsyonu uygulandı. Kesitler daha sonra birincil antikorlarla gece boyunca +4°C'de inkübe edildi. Sırasıyla biyotinlenmiş sekonder antikor, streptavidin-horseradish peroksidaz ve 3,3'-diaminobenzidin kromojenleri uygulandı ve ardından kesitler Gill hematoksilin ile boyandı. Artan alkol serilerinden geçirilerek dehidrate edildikten sonra entellan ile kesitler kapatıldı. Kesitler Olympus BX53 ışık mikroskobu ile incelenerek, immünoreaktivite seviyelerinin değerlendirilmesi Image J programı ile yapıldı. Verilerin istatistiksel analizinde, Kolmogorov-Smirnov testi ile verilerin normallik analizi yapıldı. Nicel verilerin karşılaştırılmasında normal dağılım göstermeyen değişkenlerin iki grup karşılaştırmasını yapmak için Mann-Whitney U testi (nonparametrik) GraphPad Prism (Version 8.0, GraphPad Software Inc, San Diego, California) yazılım programı kullanılarak yapıldı. Veriler ortalama ± standart sapma olarak ifade edildi. p<0,05 istatistiksel olarak anlamlı olarak kabul edildi.

BULGULAR

Histolojik Bulgular

Ratlarda hemotrikoryal ve diskoidal tip plasentaya

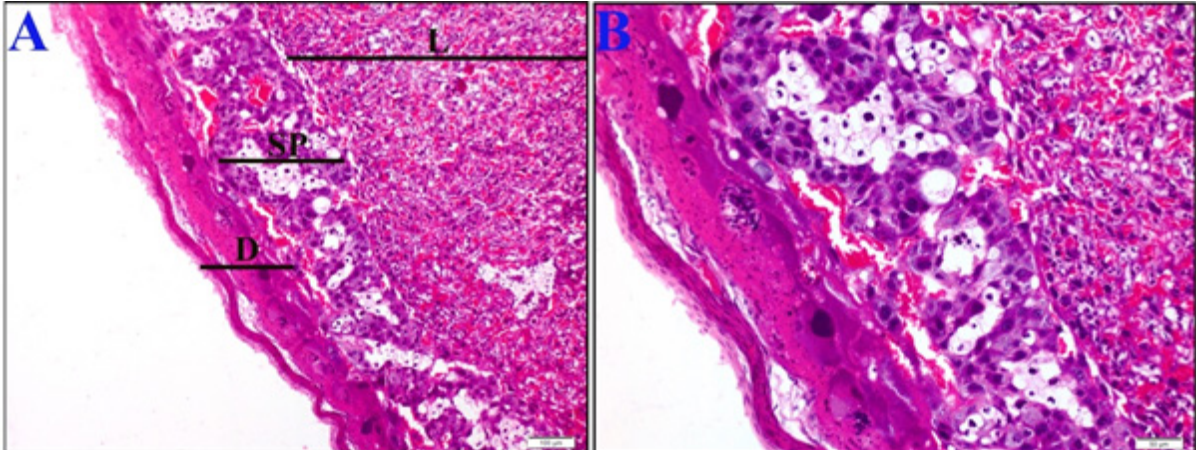
sahiptir ve Desidua, Spongiyotrofoblast ile Labrint alan olmak üzere 3 kompartmandan oluşmaktadır (13) (Şekil 1A). Desidua alanı, spongiyotrofoblast kompartmanı ile birlikte plasentanın maternal kısmını oluşturmakla birlikte, desidua hücrelerinin bulunduğu alandır. Spongiyotrofoblast tabakasında yer alan glikojenik hücreler desidua kompartmanına invaze olabildiğinden dolayı bu tabakada da görülebilmektedir (Şekil 1B). Spongiyotrofoblast alanı; spongiyotrofoblast hücreleri, dev trofoblast hücreleri ve glikojenik hücrelerden oluşmaktadır. Labrint alan ise; rat plasentasının fetal kısmını oluşturmaktadır. Maternal sinüsler, fetal kan damarları ve trofoblast hücreleri bu kompartmanda yer almaktadır (14).

Plasentaların histopatolojisine bakıldığında, Tartrazin grubunun kontrol grubuna kıyasla, plasenta dokularında morfolojik olarak major bir değişim görülmedi (Şekil 2). Tartrazin grubu plasentasında desidua ile spongiyotrofoblast alanı arasında kan damarlarının genişlediği görülmüştür.

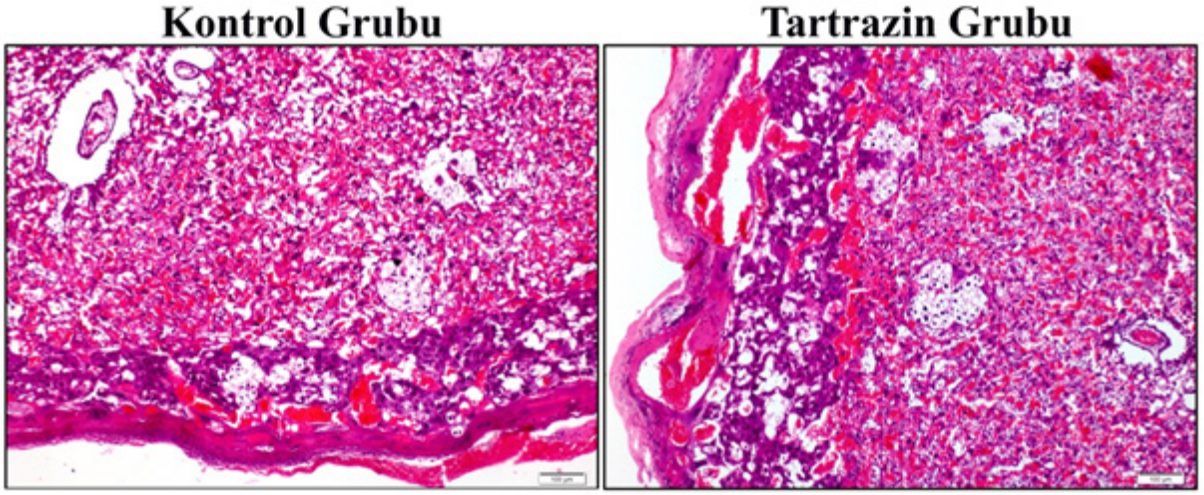
İmmünohistokimyasal Bulgular

İmmünohistokimyasal olarak, IL-6'nın Tartrazin grubu plasentalarında labrint alanda yoğun eksprese olduğu, desidua alanında eksprese olduğu ve kontrol grubu ile kıyaslandığında aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir farkın olduğu görüldü (p=0,003; p<0,05) (Şekil 3). Tartrazin grubu plasentalarında IL-6'nın plasenta membranında ekspresyonu varken, glikojenik hücrelerde ve dev trofoblastik hücrelerde ekspresyon

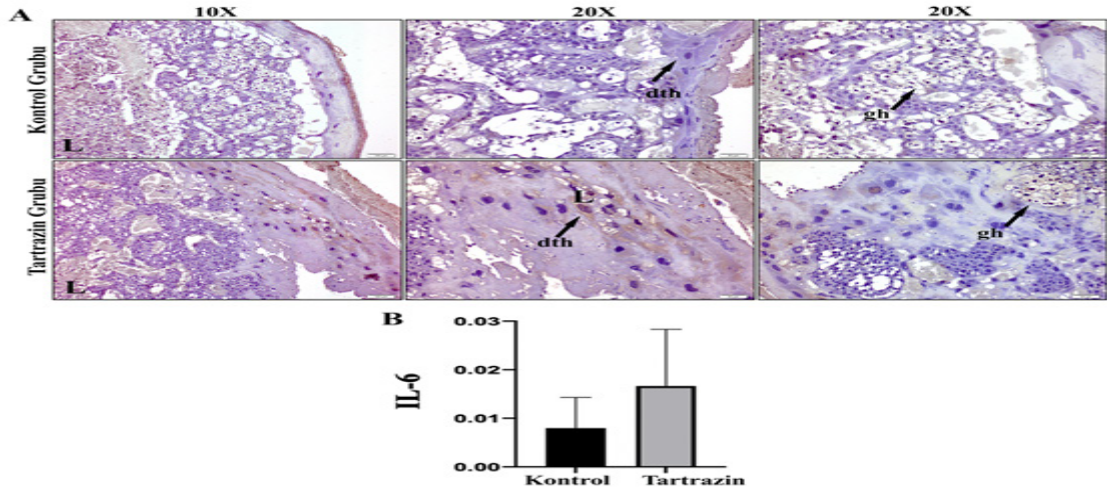
Şekil 1. Rat plasenta dokusunda bulunan alanların histolojik görünümü. Şekil A. Büyütme=10X, ölçüm çubuğu=100µm. D: Desidua, SP: Spongiyotrofoblast, L: Labrint Alan. Şekil B. Büyütme=20X, ölçüm çubuğu=50µm.



Şekil 2. Rat plasenta dokusu gruplarının histopatolojik görüntüsü. Büyütme=10X, ölçüm çubuğu=100µm.



Şekil 3. Rat plasenta dokusunda kontrol ve Tartrazin gruplarında IL-6'nın immünohistokimyasal değerlendirilmesi. Şekil A. Tartrazin grubu plasenta doku membranında ve Labrint alanda IL-6'nın yoğun ekspresyonunu göstermektedir. L: Labrint Alan, dth: dev trofoblastik hücreleri, gh: glikojen hücreleri. Şekil B. Kontrol ve Tartrazin grupları arasında IL-6'nın istatistiksel sütun grafiği. Büyütme=10X ve 20X. Ölçüm çubuğu= 50µm ve 100µm.



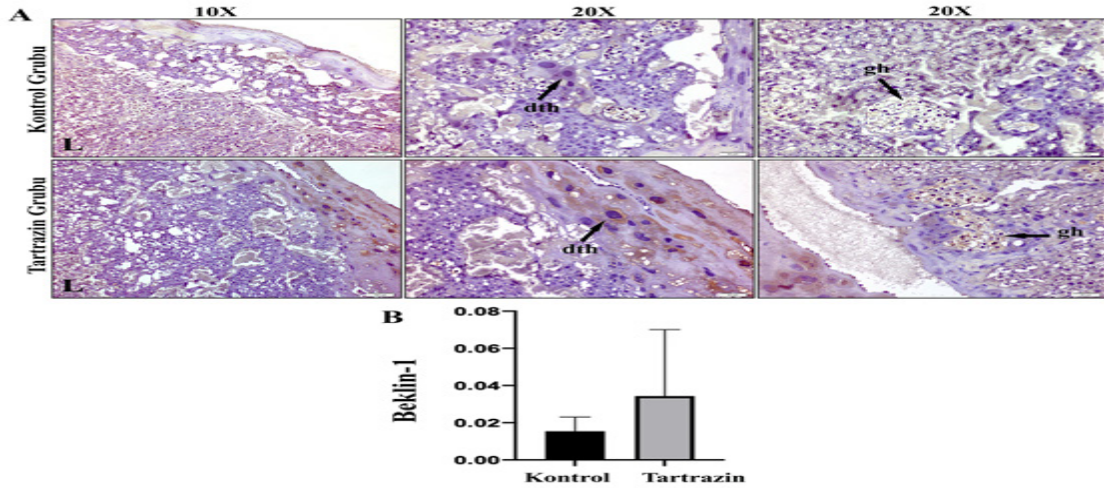
yoğunluğunun az olduğu görüldü (Şekil 3).

Beklin-1'in immünohistokimyasal değerlendirilmesine bakıldığında, Tartrazin grubu plasenta dokusunda özellikle glikojenik hücrelerde Beklin-1 proteininin yoğun eksprese olduğu görüldü, Tartrazin grubuyla kontrol grubu kıyaslandığında ekspresyon şiddetinin istatistiksel olarak aralarında anlamlı bir farkın olduğu görüldü ($p=0,020$; $p<0,05$). Ayrıca dev trofoblastik hücrelerde de Beklin-1 ekspresyonunun yoğun olduğu görüldü (Şekil 4).

TARTIŞMA

Tartrazin, Amerika'da en çok kullanılan ikinci gıda boyası maddesi olarak, dünyanın birçok ülkesinde; konserveler, aromaya sahip içecekler, donmuş meyveler, tatlılar, pastane süsleme malzemeleri, dondurma, cips ve evcil hayvan gıda gibi birçok gıdanın yanında kozmetik ürünlerinde de sıkça kullanılmaktadır (15-17). Bunun yanı sıra et ve et ürünlerinde, süt ve süt ürünlerinde, pudingler, jöleler, reçel ve sakız gibi gıdalarda ve şampuan, diş macunu gibi ürünlerinde de renk vermek

Şekil 4. Rat plasenta dokusunda kontrol ve Tartrazin gruplarında Beklin-1'in immünohistokimyasal değerlendirilmesi. Şekil A. Tartrazin grubu plasenta doku membranında, dev trofoblastik hücrelerde Beklin-1'in yoğun ekspresyonunu göstermektedir. Ayrıca glikojenik hücre membranında da yoğun ekspresyon görülmektedir. L: Labrint Alan, dth: dev trofoblastik hücreleri, gh: glikojen hücreleri. Şekil B. Kontrol ve Tartrazin grupları arasında Beklin-1'in istatistiksel sütun grafiği. Büyütme=10X ve 20X. Ölçüm çubuğu= 50µm ve 100µm.



amacıyla kullanılmaktadır.

Günümüzde gıda sanayisinde çok sık kullanılan gıda boyalarının insan sağlığı, üreme biyolojisi üzerine etkileri araştırmacı bilim insanları kadar toplum üzerinde de ciddi endişelere neden olmaktadır. Bu nedenle gıda boyalarının ve gıda katkı maddelerinin tam olarak toksikolojik etkilerinin değerlendirilmesine ihtiyaç duyulmaktadır. Tartrazin toksisitesi doğrudan veya dolaylı olarak azo bağlantısının metabolik indirgeyici biyotransformasyonundan kaynaklanır (18). Tartrazinin metabolizmasına bakıldığında, hayvanın bağırsağında bağırsak mikroflorası tarafından metabolize edildiği ve böylece iki metabolit; sülfanilik asit ve aminopirazolonun oluştuğu bildirilmiştir (19). Tartrazinin bu metabolitlerinin reaktif oksijen türleri (ROS) oluşturarak oksidatif stres yaratabildiği ve hepatik ile renal yapıların biyokimyasal profillerini etkileyebildiği belirtilmiştir (3).

FDA (Food and Drugs Administration) Tartrazin için 3,75 mg/kg günlük kabul edilebilir doz önermektedir. Dünya Sağlık Örgütü ise bu dozun 2,5 mg/kg olarak sınırlandırmıştır (20). JECFA (Joint FAO/WHO Expert Committee on Food Additives) tarafından da günlük kabul edilebilir dozun 0-7,5 mg/kg olarak belirlenmiştir (21). 2016 yılında ise JECFA tarafından günlük doz alımı 0-10 mg/kg olarak belirlenmiştir (22). Bizim

çalışmamızda JECFA tarafından belirlenen günlük kabul edilebilir dozun birkaç katı (4,5 mg/kg) doz kullanılmıştır. Bu çalışmada kullanılan test dozunun insanlar için kabul edilen dozun üzerinde olduğu düşünülse de, Tartrazinin gıda, ilaç ve kozmetik sanayisindeki yaygın kullanımı göz önünde bulundurulduğunda, insanlar aynı anda birden fazla kaynaktan Tartrazine maruz kalabilir.

Çalışmamızda, ilk önce rat plasenta dokularının histopatolojik incelemesinde Tartrazinin grubu plasentalarında desidua ile spongiyotrofoblast kompartmanı arasında kan damarı genişlemesinin olduğu belirlendi. Tartrazin grubunda Desidua ve Labrint alan bölgelerinde ise kontrol grubuna göre yapısal bir değişiklik görülmedi. Çeşitli çalışmalar, gebelik sırasında gıda katkı maddelerinin kullanımının olası teratojenik etkilerini ortaya koymuştur (10). Tartrazinin gebelik dönemi boyunca gelişmekte olan fetüsler üzerindeki etkisi kontrol grubu ile karşılaştırıldığı bir çalışmada, bir ilacın teratojenik etkisinin, ilacın plasental bariyeri geçebilmesi ve/veya protein sentezini inhibe edebilmesi ve materyal enzim aktivitesini daha da inhibe edebilmesi durumunda tahmin edilebileceği belirtilmiştir (23-25). Ayrıca Tartrazinin fetüs üzerinde plasental yetmezlik ve global gelişme geriliği yaptığı daha önceki toksikoloji çalışmalarında belirtilmiştir. Fetal büyüme ve gelişme

üzerine birkaç faktör etkili olabilir. Tartrazinin bağırsak mikroflorasında sülfanilik asit ve aminopirazon olarak iki metabolite metabolize edilir (25). Bu metabolitlerin eliminasyonu çok zor gerçekleştiği için ya da hiç elimine edilemediğinden dolayı oluşan ROS, embriyoda anomalilere neden olabilir (19). Ayrıca sentetik gıda boyalarının mitokondriyal membran bütünlüğünü bozarak hücre ölümüne neden olduğu önceki çalışmalarda gösterilmiştir (26). Sonuç olarak Tartrazinin teratojenik etkisi, mitokondriyal bütünlüğün bozularak mitokondriyal enzimlerin etkisizleşmesinden kaynaklı apoptozun artması ile ilişkilendirilmiştir (27). Beklin-1 mayalarda bulunan Atp6'nın homoloğu olup, insanlarda otofajik yolda yer alan ve tanımlanan ilk genidir (28). Beklin-1; hücre farklılaşması, apoptoz ve otofajide önemli rol oynayan bir proteindir (28-30). Otofajinin hücrelerin gereksiz, aşırı ifade edilen ile hasarlı organellerini ve makromoleküllerini yıktığı bir olay olduğu bilinmektedir (31). Yaptığımız çalışmada Tartrazin grubu rat plasentalarında özellikle dev trofoblastik hücrelerde ve glikojen hücrelerinde yoğun Beklin-1 protein ekspresyonunu gördük. Beklin-1 ekspresyonunun kontrol grubuna göre artması, uygulanan Tartrazinin plasenta dokusunda gözlemlendiğimiz kompartmanlarda otofajiyi tetiklemiş olabileceği sonucu ortaya çıkmıştır. Çünkü otofaji, hasarlı organellerin ve proteinlerin yıkılmasında etkin bir mekanizma olmasının yanı sıra normal hücre içeriğinin yeniden işlenerek düzenlenmesinde de rol oynamaktadır (32). Bir çalışmada trofoblast hücre hattı HTR8/SVneo'da (yani, birinci trimester insan trofoblast hücre hattı), oksidatif stresin arttığı koşullarda daha yüksek mikrotübülle ilişkili protein 1A/1B-hafif zincir 3 (LC3) ve Beklin-1 ekspresyonu tespit edilmiştir (33,34). Bu nedenle Tartrazin uygulaması plasenta dokularında otofajiyi aktive ederek hücrede hasarlı organellerin yıkımını arttırmış olabilir.

IL-6, sadece immün yanıtlarda değil, aynı zamanda inflamasyon, hematopoez, kemik metabolizması, embriyonik gelişim ve diğer temel süreçlerde de rol oynayan pleiotropik bir sitokindir (35). IL-6 aynı zamanda inflamasyon, otoimmünite ve kanserde de önemli bir faktördür ve etkisi esas olarak IL-6-sinyal dönüştürücü ve transkripsiyon aktivatörü 3 (STAT3) yolu üzerinden gerçekleşir (36). Yapılan bir çalışmada, Tartrazinle muamele edilen gruplar malondialdehit

(MDA) seviyelerinde önemli bir artış göstermiştir; bu da yüksek Tartrazin konsantrasyonunun ROS'un artışına bağlı olarak lipid peroksidasyonunu ve dolayısıyla biyolojik sistemde oksidatif stresi indükleyebileceğini göstermektedir. Aynı zamanda, Tartrazin ile tedavi edilen sıçanların beyininde Tümör Nekroz Faktörü Alfa (TNF- α), IL-1 β ve IL-6 seviyelerinde yükselme olduğunu göstermiştir (4). Diğer bir çalışmada ise Tartrazin maruziyeti sonucu karaciğerde toksik etki oluşturduğu belirtilmiştir (37). Bu bulgular, uzun süreli Tartrazin maruziyetinden sonra IL-1 β ve IL-6' da yukarı regülasyon gözlemleyen çeşitli çalışmalarla uyumludur (38-39). Yapmış olduğumuz çalışmada Tartrazin uygulanan grupta IL-6'nın plasenta doku membranında ve özellikle Labrint alanda yoğun eksprese olduğu görüldü. Labrint alanda maternal sinüsler, fetal kan damarları ve trofoblast hücreleri yer almaktadır. IL-6'nın özellikle bu kompartmanda yoğun eksprese olması, anjiyogenezin uyarılması, işlevi bozulmuş hücrelerin apoptozunun inhibisyonu ile ilişkili olabilir (40).

Yapmış olduğumuz çalışmada, Tartrazin uygulamasıyla rat plasenta dokularında IL-6 ve Beklin-1 ekspresyonunun kontrol grubuna göre belirli bölgelerde ekspresyonu artmıştır. Gerek sitokin artışı gerekse otofajinin artması Tartrazinin zararlı etkisinin olduğunu ortaya koymaktadır. Sonuçlarımız ileri ki çalışmaların hem serum düzeyinde hem de protein ve gen düzeyinde incelemelerine ışık tutacağını düşünmekteyiz.

SONUÇ

Bu sonuçlar doğrultusunda, Tartrazin rat plasenta dokusunda tümör aktivitesini ve otofaji ve/veya apoptozu indükleyerek IL-6'nın ve Beklin-1 proteininin ekspresyonunu artırmış olabileceğini göstermektedir. Elde edilen sonuçlardan, Tartrazin kullanımının gerek plasentadan yavruya geçişinde gerekse hücre ölüm mekanizmalarının tetiklenmesinde etkili olabileceği ve bu sonuçlarla ilerideki protein ve mRNA düzeyinde yapılacak çalışmalara ışık tutacağını düşünmekteyiz.

Tasdik ve Teşekkür

Yazarlar arasında herhangi bir çıkar çatışması bulunmadığı yazarlar tarafından bildirilmiştir. Bu çalışma 20-23 Eylül 2023 tarihinde Türk Elektron Mikroskopi Derneği adına Eskişehir Teknik Üniversitesi'nde

düzenlenen 26. Ulusal Elektron Mikroskopi Kongresi'nde sözlü bildiri olarak sunulmuştur.

KAYNAKLAR

1. Tanaka T, Takahashi O, Oishi S, Ogata A. Effects of tartrazine on exploratory behavior in a three-generation toxicity study in mice. *Reprod Toxicol.* 2008;26(2):156-613.
2. Sambu S, Hemaram U, Murugan R, Alsofi AA. Toxicological and Teratogenic Effect of Various Food Additives: An Updated Review. *Biomed Res Int.* 2022;2022:1-11.
3. Himri I, Bellahcen S., Souna F, Belmekki F, Aziz M, Bnouham M, et al. A 90-Day Oral Toxicity study of Tartrazine, A Synthetic food Dye, In Wistar Rats. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences.* 2011;3:159-69.
4. Essawy AE, Mohamed AI, Ali RG, Ali AM, Abdou HM. Analysis of Melatonin-Modulating Effects Against Tartrazine-Induced Neurotoxicity in Male Rats: Biochemical, Pathological and Immunohistochemical Markers. *Neurochem Res.* 2023;48(1):131-41.
5. El-Sakhawy MA, Mohamed DW, Ahmed YH. Histological and immunohistochemical evaluation of the effect of tartrazine on the cerebellum, submandibular glands, and kidneys of adult male albino rats. *Environ Sci Pollut Res Int.* 2019;26(10):9574-84.
6. El-Wahab HM, Moram GS. Toxic effects of some synthetic food colorants and/or flavor additives on male rats. *Toxicol Ind Health.* 2013;29(2):224-32.
7. Borzelleca J, Goldenthal, E., Wazeter, F. and Schardein, J. Evaluation of the potential teratogenicity of FD & C Blue No. 2 in rats and rabbits. *Food Chem. Toxicol.* 1987;25:495-97.
8. Borzelleca JaH, J. Multigeneration study of FD & C Red No. 3 (erythrosine) in Sprague-Dawley rats. *Food and Chemical Toxicology.* 1990;28:813-19.
9. Syme MR, Paxton, J.W., Keelan, J.A. Drug Transfer and Metabolism by the Human Placenta. *Clinical Pharmacokinetics* 2004;43(8):487-514.
10. Hashem MM, Abd-Elhakim YM, Abo-El-Sooud K, Eleiwa MME. Embryotoxic and Teratogenic Effects of Tartrazine in Rats. *Toxicol Res.* 2019;35(1):75-81.
11. Nair AB, Jacob S. A simple practice guide for dose conversion between animals and human. *J Basic Clin Pharm.* 2016;7(2):27-31.
12. Doganyigit Z, Okan A, Kaymak E, Pandir D, Silici S. Investigation of protective effects of apilarnil against lipopolysaccharide induced liver injury in rats via TLR 4/ HMGB-1/ NF-kappaB pathway. *Biomed Pharmacother.* 2020;125:109967.
13. Balıkcıer M, Ozfiliz, N., Erdost, H., Arslan, A. Kronik Alkolik Siçanlarda Maternal Alkol Tüketiminin Plasenta Yapısı ve Gelişimi Üzerine Etkisinin Histolojik Yönden İncelenmesi. *J Fac Vet Med.* 2000;19:95-103.
14. Soares MJ, Konno T, Alam SM. The prolactin family: effectors of pregnancy-dependent adaptations. *Trends Endocrinol Metab.* 2007;18(3):114-21.
15. Mpountoukas P, Pantazaki A, Kostareli E, Christodoulou P, Kareli D, Poliliou S, et al. Cytogenetic evaluation and DNA interaction studies of the food colorants amaranth, erythrosine and tartrazine. *Food Chem Toxicol.* 2010;48(10):2934-44.
16. Arefin S, Hossain MS, Neshe SA, Rashid MMO, Tohidul Amin M, Hussain MS. Tartrazine induced changes in physiological and biochemical parameters in Swiss albino mice, *Mus musculus.* *Marmara Pharmaceutical Journal.* 2017;21(3):564-9.
17. Dos Santos JR, de Sousa Soares L, Soares BM, de Gomes Forias M, de Oliveira VA, de Sousa NAB, et al. Cytotoxic and mutagenic effects of the food additive tartrazine on eukaryotic cells. *BMC Pharmacol Toxicol.* 2022;23(1):95.
18. Drumond Chequer FM, Junqueira D, de Oliveir DP. Azo Dyes and Their Metabolites: Does the Discharge of the Azo Dye into Water Bodies Represent Human and Ecological Risks? *Advances in Treating Textile Effluent,* 2011.
19. Chung KT SJ, Cerniglia CE. The reduction of dyes by the intestinal microflora. *Critical Reviews in Microbiology.* 1992;18:175-90.
20. He Q, Liu J, Liu X, Li G, Deng P, Liang J, et al. Sensitive and Selective Detection of Tartrazine Based on TiO(2)-Electrochemically Reduced Graphene Oxide Composite-Modified Electrodes. *Sensors (Basel).* 2018;18(6):1-12.
21. Walton K, Walker R, Van de Sandt J, Castell JV, Knapp AG, Kozianowski G, et al. The Application of In Vitro Data in the Derivation of the Acceptable Daily Intake of Food Additives. *Food and Chemical Toxicology.* 1999;37:1175-97.
22. Joint, F. A. O., World Health Organization, & WHO Expert Committee on Food Additives. (2016). Evaluation of certain food additives: eighty-second report of the Joint FAO. World Health Organization.
23. Selderslaghs IW, Van Rompay AR, De Coen W, Witters HE. Development of a screening assay to identify teratogenic and embryotoxic chemicals using the zebrafish embryo. *Reprod Toxicol.* 2009;28(3):308-20.
24. Anita K, Mehta, V., Gupta, U., Prabhu, S., Bapna, J. Methods for teratogenicity testing-existing and future models. *Indian J. Pharmacol.* 1195;27:204-13.
25. Raymond E, Sun, D., Chen, SF., Windle, B., Von Hoff, DD. Agents that target telomerase and telomeres. *Curr. Opin. Biotechnol.* 1996;7:583-91.
26. Rotimi OA, Rotimi SO, Oluwafemi F, Ademuyiwa O, Balogun EA. Oxidative Stress in Extrahepatic Tissues of Rats Co-Exposed to Aflatoxin B1 and Low Protein Diet. *Toxicol Res.* 2018;34(3):211-20.

27. Rajadurai M, Stanely Mainzen Prince, P. Preventive effect of naringin on cardiac mitochondrial enzymes during isoproterenol-induced myocardial infarction in rats: A transmission electron microscopic study. *Journal of Biochemical and Molecular Toxicology*. 2007;21:354-61.
28. Lee J, Jeong, EG., Lee, SH., Yoo, NJ., Lee, SH. . Somatic mutations of BECN1, an autophagy-related gene, in human cancers *APMIS*. 2007;115:750-6.
29. Klionsky DJ, Abdel-Aziz AK, Abdelfatah S, Abdellatif M, Abdoli A, Abel S, et al. Guidelines for the use and interpretation of assays for monitoring autophagy (4th edition)(1). *Autophagy*. 2021;17(1):1-382.
30. Furuya N, Yu, J., Byfield, M., Pattingre, S. The evolutionarily conserved domain of Beclin 1 is required for Vps34 binding, autophagy and tumor suppressor function. *Autophagy*. 2005;1:46-52.
31. Gozuacik D, Kimchi A. Autophagy as a cell death and tumor suppressor mechanism. *Oncogene*. 2004;23(16):2891-906.
32. Martinez-Vicente M, Cuervo, AM. Autophagy and neurodegeneration:when the cleaning crew goes on strike *Lancet Neurol*. 2007;6:352-61.
33. Carvajal L, Gutierrez J, Morselli E, Leiva A. Autophagy Process in Trophoblast Cells Invasion and Differentiation: Similitude and Differences With Cancer Cells. *Front Oncol*. 2021;11:637594.
34. Gao L, Qi HB, Kamana KC, Zhang XM, Zhang H, Baker PN. Excessive autophagy induces the failure of trophoblast invasion and vasculature: possible relevance to the pathogenesis of preeclampsia. *J Hypertens*. 2015;33(1):106-117
35. Hunter CA, Jones SA. IL-6 as a keystone cytokine in health and disease. *Nat Immunol*. 2015;16(5):448-57.
36. Grivennikov S, Karin E, Terzic J, Mucida D, Yu GY, Vallabhapurapu S, et al. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer. *Cancer Cell*. 2009;15(2):103-13.
37. Demircigil N, Gul M, Gokturk N, Kustepe EK, Bag HG, Erdemli ME. Thymoquinone played a protective role against tartrazine-induced hepatotoxicity. *Iran J Basic Med Sci*. 2023;26(1):99-106.
38. Demirkol O, Zhang X, Ercal N. Oxidative effects of Tartrazine (CAS No. 1934-21-0) and New Coccin (CAS No. 2611-82-7) azo dyes on CHO cells. *Journal für Verbraucherschutz und Lebensmittelsicherheit*. 2012;7(3):229-36.
39. Amin H, Abdel-Rahman, MF., El-Azhari, DB. Protective Effects of Vitamin C on Tartrazine and Allura Red-Induced Toxicity in Male Albino Rats. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine*. 2023;91:5224-31.
40. Hirano T. IL-6 in inflammation, autoimmunity and cancer. *Int Immunol*. 2021;33(3):127-48.