



Formaldehit Toksisitesine Karşı Yeşil Çay Özütünün Koruyucu Etkisi: Swiss Albino Farelerde Genotoksik Değerlendirme

Betül TAŞLI¹, Figen ÇİÇEK², Güray DEMİRTAŞ¹, Emine YALÇIN^{1*},
Kültiğın ÇAVUŞOĞLU¹

¹Giresun Üniversitesi, Fen- Edebiyat Fak., Biyoloji Bölümü, Giresun -Türkiye

²Giresun Üniversitesi, Sağlık Hizmetleri MYO, Tıbbi Hizmetleri ve Teknikleri Bölümü, Giresun-Türkiye

Received: 21.01.2015; Accepted: 12.02.2015

Özet. Bu çalışmada Swiss albino farelerde yeşil çay özütünün formaldehitin genotoksik etkisine karşı koruyucu rolü araştırılmıştır. Bu amaçla mikronukleus sıklığı, kromozomal hasar, anormal metafaz sayısı ve mitotik indeks testleri uygulanmıştır. Fareler her bir grupta altı fare olmak üzere altı gruba ayrılmıştır. Yeşil çay özütü iki doz (50 ve 150 mg/kg) formaldehit ise tek doz (200 mg/kg) halinde uygulanmıştır. Uygulama süresi sonundat tüm farelerden doku izolasyonu gerçekleştirilmiştir. Formaldehit uygulaması yapılan grupta kontrol grubuna kıyasla yüksek oranda mikronukleus, kromozomal hasar ve anormal metafaz gözlenirken; mitotik indeks oranının kontrol grubundan daha düşük olduğu belirlenmiştir. Oral yolla yeşil çay özütü uygulamasının formaldehitin oluşturduğu genotoksisiteyi azalttığı belirlenmiştir. Yeşil çay özütü uygulamasının her iki dozunun da formaldehit tarafından oluşturulan toksisiteye karşı koruyucu etki gösterdiği ve bu etkinin 150 mg/kg dozunda daha etkin olduğu gözlenmiştir. Bu sonuçlar ile yeşil çay özütünün formaldehit tarafından oluşturulan toksisiteye karşı koruyucu bir ajan olduğu belirlenmiştir.

Anahtar kelimeler: Formaldehit, Yeşil çay özütü, Kromozomal anormallik Mikronukleus, Mitotik indeks

The Protective Effect of Green Tea Extract on Formaldehyde Toxicity: Genotoxic Evaluation in Swiss Albino Mice

Abstract. In the present study, protective effect of green tea extract against genotoxic effects of formaldehyde on Swiss albino mice were investigated. For this aim, we used the frequency of micronucleus, chromosomal aberrations, abnormal metaphase number and mitotic index as indicators of toxicity. Animals were randomly divided into six groups of six animals each. Green tea extract was applied with two different doses (50 and 150 mg/kg) and formaldehyde was treated with the dosage of 200 mg/kg. All mice were sacrificed at the end of treatment period and the related tissues were isolated. Formaldehyde alone-treated mice presented higher frequencies micronucleus, chrosomal aberration and abnormal metaphases compared with the controls; moreover, the mitotic index was lower than in controls. Oral treatment with gren tea extract significantly ameliorated the indices of genotoxicity induced by formaldehyde. Both doses of Green Tea extract tested provided significant protection against formaldehyde-induced toxicity, and its strongest effect was observed at the dose level of 150 mg/kg of body weight. The results obtained from this study suggest that Green Tea is a effective protective agent against Formaldehyde induced toxicity.

Keywords: Formaldehyde, Green Tea extract, Chromosomal aberration, Micronucleus, Mitotic index

* Corresponding author. *Email address* emine.yalcin@giresun.edu.tr

1. GİRİŞ

Günlük hayatımızda sıkça karşılaştığımız çevre sorunlarının birçoğu kullandığımız bazı kimyasal ürünlerden kaynaklanmaktadır. Birçok kimyasal madde doğrudan ya da kullanıldıktan sonra çevreye salınmakta ve çevre kirliliğine neden olmaktadır. Bu tehlikeli maddeler besin zinciri aracılığıyla yiyeceklerimize de karışmakta ve sağlığımızı olumsuz yönde etkilemektedir. Bazı kimyasal maddeler zehirli olup havada, suda ve toprakta birçok tehlike oluşturmaktadır. Özellikle kimyasal madde içeren atık suların nehirlere, göllere ve denizlere boşaltılması çok dramatik çevre sorunlarına neden olmaktadır. Endüstriyel atık suların içerisinde bulunan kimyasal maddeler, sudaki canlı yaşamının kısa sürede tükenmesine yol açmakta ve ekosistemi felç etmektedir. Ayrıca içme sularına karışmaları halinde de önemli sağlık sorunlarını beraberinde getirmektedir [1,2].

Günlük yaşantımızda yaygın olarak kullanılan ve maruz kalma riskimizin en fazla olduğu kimyasal maddeler arasında formaldehit de yer almaktadır. Formaldehit, havaya verdiği buhar ile üst solunum yolu mukozasını tahriş edici, lokomotor aktiviteyi kısıtlayıcı etkiye sahip, hoş olmayan kokuya neden olan renksiz, normal sıcaklıkta hızla gaz haline dönüşebilen, yanabilen ve düşük molekül ağırlıklı kimyasal bir maddedir [3-5]. Proteinleri sertleştirip, çürümeleri önlediğinden biyolojik örneklerin saklanması, mumyacılıkta ayrıca böcekleri ve birçok mikroorganizmayı öldürdüğünden dezenfektan olarak kullanılmaktadır. Medikal alanların yanı sıra, endüstrinin değişik kollarında da yer almaktadır. Reçine, kontrplak, tekstil, deri ürünleri, kâğıt ve ilaçların imalatında da ihtiyaç duyulan bir maddedir. Ayrıca, yiyeceklerde (bazı bölgesel peynirlerde), kozmetiklerde ve ev temizlik ürünlerinde koruyucu katkı maddesi olarak kullanılmaktadır [6].

Formaldehitin toksik etkileri; irritasyon, immun duyarlılık ve mutajenite veya kanserojenite olmak üzere üç grupta toplanmaktadır [7-10]. Yapılan deneysel araştırmalarda kanserojenik olduğu ifade edilen formaldehitin solunum sistemi, sinir sistemi ve sindirim sistemi gibi birçok sistem üzerinde zararlı etkiler gösterdiği ortaya konmaktadır [11]. Formaldehitin deri iltihabı, konjunktivit, astım, akciğer ödemi, rinit ve farenjit gibi klinik tablolara sebep olduğu bildirilmektedir [12,13]. Organizmaya dışarıdan alınan formaldehit vücut içerisinde depo edilmeyip formaldehit dehidrogenaz enzimi aracılığıyla karaciğer ve eritrositlerde formik asite metabolize olmaktadır. Bu kimyasal ajan idrar ve dışkı yoluyla ya da karbondioksit okside olarak solunum yoluyla atılmaktadır [11,14]. Formaldehit mukoz membranlar için oldukça iritan olmakta ve nonenzimatik yolla proteinler, nükleik asitler, doymamış yağ asitleri ile güçlü bir şekilde birleşme eğilimi göstermektedir [11]. Formaldehit; gen mutasyonları, delesyon, kromozomal hataları, tek zincir kırıkları, kardeş kromatit değişimi ve hücre değişimlerini kapsayan genotoksik, mutajenik, terotojenik, embriyotoksik ve karsinojenik bir kimyasal maddedir [12,15-17]. Ayrıca formaldehitin insan lenfoblastlarında gen lokus mutasyonlarına, *Drosophila* 'da ise DNA kopmalarına yol açtığı belirtilmektedir [18,19].

Son yıllarda, kimyasal maddelerin sebep olduğu toksisitenin azaltılmasına yardımcı olmak amacıyla, bitkilerden elde edilen özütlerden yararlanılmaktadır. Örneğin Sharma ve ark. [20] farelerde

Farelerde Genotoksik Değerlendirme

benzopirene ve siklofosfamidin sebep olduğu kromozomal hasarları azaltmada *Cassia occidentalis* özütünü, İlhan ve Seçkin [21] ratlarda karbon tetra klorürün hepatoksik etkilerini azaltmak için *Nigella sativa* (Çörek otu) özütünü, Hamza ve Amin [22] ratlarda sodyumun sebep olduğu üreme toksisitesine karşı *Apium graveolens* (Kereviz) özütünü kullanmıştır.

Bu çalışmada ise Albino farelerde formaldehitin oluşturduğu toksik etkileri azaltmak için yeşil çay bitki özütü kullanılmıştır. Yeşil çay, *Camellia sinensis* (Çay) bitkisinin yapraklarından elde edilmektedir. İçindeki aktif maddeler kateşinler, epigallokateşin gallat (EGCG) gibi flavonoidler ve polifenollerdir. Çay polifenolleri; fenolik asitler ve flavonoidler olarak ikiye ayrılmaktadır. Özellikle yeşil çay kateşin ve kateşin türevlerini kapsayan flavonoid bakımından zengin olmaktadır. En önemli bileşenleri polifenoller özellikle epigallokateşin gallattır. Kateşinler C ve E vitaminlerinden çok daha güçlü antioksidan aktivite göstermektedir. Epigallokateşin gallat, kateşinler içinde en yüksek antioksidan etkiye sahip bileşik olup bunu sırasıyla epikateşingalat, epikateşin takip etmektedir [23]. Yapılan çalışmalar yeşil çayın antioksidan, antienflamatuar, antimutajenik, antikanserojenik, antianjiyogenik, apoptotik, obezliği önleyici, hipolipidemik (kolestrolü düşürücü), antiarteriosklerotik (damar sertliği önleyici), antibakteriyel, antiviral ve yaşlanmayı geciktirici gibi etkilere sahip olduğunu göstermektedir [24,25]. Bu çalışmalara bağlı olarak yeşil çay HDL (iyi kolesterol) seviyesini yükseltirken, LDL (kötü kolesterol) seviyesini düşürerek kolesterol dengesinin kurulmasına yardımcı olmasının yanı sıra içerdiği polifenoller sayesinde, yağların vücutta depolanmadan atılmasına ve kilo vermeye de yardımcı olmaktadır. Bu çalışmada albino farelerde formaldehit tarafından teşvik edilen genotoksik hasarların azaltılmasında yeşil çay özütünün koruyucu rolü incelenmiştir. Genotoksik hasarları belirlemek amacıyla mikronukleus (MN) sıklığı, mitotik indeks (MI), anormal metafaz (AM) analizi ve kromozomal anormallik (KA) seviyeleri araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOT

Hayvanların Temini ve Etik İlkeler

Çalışmada 108 adet erkek *Mus musculus* var. albinos kullanılmıştır (12-14 haftalık, 25-30 g c.a.). Sağlıklı fareler Giresun Üniversitesi Deney Hayvanları Araştırma ve Uygulama Merkezi'nden temin edilmiştir. Fareler 26 x 15 x 50 paslanmaz çelik kafeslerde ve 22± 3 ° C de, %55 ± 5 bağıl nem laboratuvar şartlarında ve deney boyunca 12 saat ışık / karanlık döngüsü altında tutulmuştur. Hayvanlara çalışmaya başlamadan 1 hafta önce standart pellet diyet yem (Samsun Gıda Sanayi, Samsun, Türkiye) ve ad libitum su verilerek ortam şartlarına adaptasyonu sağlanmıştır. Bu çalışmada, farelere uygulanan yöntem ve teknikler Dünya Sağlık Örgütü (Cenevre, İsviçre) ve Giresun Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından belirlenen esaslara göre yürütülmüştür (Etik kurul No: B.30.2.GRE.0.28.00.00/370-178).

Deneyel Aşamalar ve Grup Oluşturma Prensipleri

Albino fareler her grupta 6 fare olacak şekilde rastgele 6 gruba ayrılmıştır.

Grup I (kontrol); 45 gün süresince oral yolla sadece çeşme suyu,

Grup II; 45 gün süresince oral yolla 200 mg / kg c.a. dozunda formaldehit,

Grupta III ve IV; 45 gün süresince oral yolla sırasıyla 50 ve 150 mg / kg c.a. dozunda yeşil çay özütü

Grup V; 50 gün süresince oral yolla 50 mg / kg c.a. dozunda yeşil çay özütü ve 45 gün süresince oral yolla 200 mg / kg c.a. dozunda formaldehit,

Grup VI; 50 gün süresince oral yolla 150 mg / kg c.a. dozunda yeşil çay özütü ve 45 gün süresince oral yolla 200 mg / kg c.a. dozunda formaldehit verilmiştir.

Grup V ve VI için, yeşil çay özütü uygulamasına formaldehite maruziyetten 5 gün önce başlanmış ve 45 gün süresince formaldehit ile birlikte uygulamaya devam edilmiştir. Tüm gruptaki fareler 45. günün sonunda sakrifiye edilmiştir. Yeşil çay özütünün dozları optimum sağlıklı beslenmeyi desteklemek için tıp uzmanları tarafından tavsiye edilen günlük tüketim miktarlarına uygun 50 ve 150 mg / kg c.a. olarak belirlenmiştir.

Eritrosit MN Testi

Bu çalışmada kullanılan, Fare Eritrosit MN testi, kemik iliği polikromatik eritrositlerinde uygulanan geleneksel MN testinin modifiye bir şeklidir. Bu testte, farelerin kuyruklarından elde edilen dolaşım kanındaki olgun normokromatik eritrositler sayılmıştır. Fare eritrosit MN testi Te-Hsiu ve ark. [26] bildirdiği yöntemle yapılmıştır. Kısaca, fareler eter anestezi altında bayıltılmış ve farelerin kuyruk venlerinden küçük bir iğne yardımıyla kan örnekleri alınmıştır. Her bir fareden toplanan periferik kanın yaklaşık 5 µL'si % 3 EDTA çözeltisi ile karıştırılmış ve temiz bir slayt üzerine yayılmıştır. Eritrositler 2 dakika süreyle %70 etanol içinde fiske edilmiş ve hazırlanan slaytlar oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra, slaytlar % 5 May-Grünwald Giemsa ile 15 dakika muamele edilmiş ve süre sonunda boyanmıştır. Hazırlanan slaytlardan toplam 1000 normakromatik eritrosit binoküler ışık mikroskobu (model BX51, Olympus, Tokyo, Japan) altında X100 büyütmede sayılarak MN'li hücrelerin sayısı tespit edilmiş ve X500 büyütme de fotoğraflandırılmıştır [27].

Yanak mukoza epitel hücre mikronukleus testi

Yanak mukozası epitel hücrelerinde MN oluşumu belirlemek için, fareler eter anestezisi altında bayıltılmış, her bir farenin ağzı saf su ile yıkandıktan sonra, sağ ve sol yanak mukozası nemli bir kürdan yardımıyla taranarak epitel hücre örnekleri toplanmıştır. Toplanan örnekler, önceden temizlenmiş lamlar üzerine alınarak 15 ila 30 dakika arasında kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda dokular metanol: asetik asit (3:1) solüsyonu ile 10 dakika fiske edilerek literatürde tanımlandığı gibi Feulgen ve Fast Green boya ile boyanarak kurumaya bırakılmıştır [28,29]. Süre sonunda örnekler Entellan yardımıyla lamelle kapatılarak daimi preparat haline getirilmiştir. Yanak mukoza epitelindeki

Formaldehit Toksisitesine Karşı Yeşil Çay Özütünün Koruyucu Etkisi: Swiss Albino

Farelerde Genotoksik Değerlendirme

MN sıklığını belirlemek amacıyla, Fenech ve ark. [30] tarafından önerilen kriterler dikkate alınarak, binoküler araştırma mikroskobu altında, her gruptaki her bir fare için 1000 hücre sayılarak X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır.

Kromozom Eldesi ve Analizi

Fareler sakrifiye edilmeden 2 saat önce intraperitoneal yolla 0.025% kolşisin verilmiş ve süre sonunda eter anestezi altında sakrifiye edilmiştir. Femurdan aspire edilen kemik iliği, serum fizyolojik ile yıkanarak 0.075 M KCl ile muamele edilmiş ve Carnoy's ile fikse edilerek % 5'lik Grünwald-Giemsa boyası ile boyanmıştır [31]. Kromozomal anormallikler ışık mikroskobu altında (X100 lens/büyütme ile) tespit edilmiş (Model BX51, Olympus) ve Savage'nin bildirdiği kriterlere göre sınıflandırılmıştır [32].

MI, AM ve KA Analizi

MI her grup için hazırlanan slaytlardan sayılan nükleuslu 1000 hücre arasından, bölünen hücrelerin yüzdesi olarak belirlenmiştir. AM her bir grup için hazırlanan slaytlardan sayılan 100 metafaz arasında, hasarlı metafazların sayısı olarak tespit edilmiştir. Tüm gruplardaki kromatid kırığı, fragment ve gap gibi KA'lar için için 100 metafaz sayılmış ve başlangıçta tüm hasarların sayısı eşit olarak düşünülmüştür.

İstatistiksel Analiz

Çalışmada istatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 10.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) paket programı kullanılmıştır. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi için One-way ANOVA ve Duncan testi kullanılmıştır. Veriler ortalama \pm SD değerleri olarak verilmiş ve P değerleri $<.05$ istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.

3. ARAŞTIRMA BULGULARI

Tablo 1. Formaldehit ve yeşil çay özütü uygulamalarının eritrosit ile yanak mukoza epitel hücrelerinde MN sıklığı üzerine etkileri

Gruplar	Hesap edilen hücre sayısı	Yanak mukoza epi.	Eritrosit
		Ortalama (MN)	Ortalama (MN)
Grup I	1000	0.00 \pm 0.00 ^d	0.17 \pm 0.41 ^d
Grup II	1000	0.00 \pm 0.00 ^d	0.17 \pm 0.41 ^d

Grup III	1000	0.00±0.00 ^d	0.00±0.00 ^d
Grup IV	1000	31.83±7.41 ^a	55.83±7.76 ^a
Grup V	1000	22.67±6.89 ^b	44.67±6.53 ^b
Grup VI	1000	14.17±5.78 ^c	32.00±7.24 ^c

* Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemli olmuştur (P<0.05).

Formaldehit uygulamasının eritrosit ve yanak mukoza epitel hücrelerinde teşvik ettiği MN sıklığı Tablo 1’de gösterilmiştir. Tablolardaki sonuçlardan da görüldüğü gibi kontrol grubu ve sadece yeşil çay özütü uygulanan grupların yanak mukozası epitel hücrelerinde hiç MN oluşumuna rastlanmazken, eritrosit hücrelerinde ise çok az sayıda MN oluşumuna rastlanmıştır. Fakat belirlenen MN sayılarının istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir (P>0.05). Gerek eritrosit gerekse de yanak mukoza epitel hücrelerinde en fazla MN oluşumuna formaldehit uygulanan grupta rastlanmıştır. MN sayılarındaki bu artışların diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir (P<0.05). Formaldehit ve yeşil çay özütünün birlikte uygulaması MN sayılarının tekrar azalmasına neden olmuştur. Yeşil çay özütünün dozlarındaki artış MN sayılarının tekrar azalmasına neden olmuştur. Ayrıca farelerin eritrosit hücrelerinde yanak mukoza epitel hücrelerine göre daha fazla sayıda MN oluşumu belirlenmiştir.

Tablo 2. Albino farelerde Formaldehitin teşvik ettiği KA yeşil çay özütü uygulaması ile değişimi

Gruplar	Kromatit Kırığı	Fragment	Disentrik kromozom	Gap	Ring
Grup I	00.17±0.41 ^d	00.17±0.41 ^d	00.00±0.00 ^d	00.50±0.55 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup II	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.00±0.00 ^d	00.33±0.52 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup III	00.33±0.52 ^d	00.17±0.41 ^d	00.00±0.00 ^d	00.33±0.52 ^d	00.00±0.00 ^d
Grup IV	42.67±5.78 ^a	14.83±3.60 ^a	12.00±2.83 ^a	7.33±2.25 ^a	5.17±1.47 ^a
Grup V	30.67±5.64 ^b	10.67±2.50 ^b	8.67±1.97 ^b	4.50±2.07 ^b	3.17±1.84 ^b
Grup VI	19.67±4.13 ^c	6.33±2.25 ^c	4.17±2.56 ^c	1.83±1.33 ^c	1.17±0.41 ^c

* Kromozomal hasarlar için her hayvan başına 100 hücre, her grupta 6 hayvan bulunduğu için toplamda 600 hücre sayılmıştır. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemli olmuştur (P<0.05).

Formaldehit Toksisitesine Karşı Yeşil Çay Özütünün Koruyucu Etkisi: Swiss Albino

Farelerde Genotoksik Değerlendirme

Formaldehitin teşvik ettiği KA ile ilgili bulgular Tablo 2’de verilmiştir. Yapılan mikroskopik inceleme sonucunda formaldehit tarafından teşvik edilen hasarlar fazlalık sırasına göre kromatit kırığı>fragment>disentrik>gap>ring şeklinde belirlenmiştir. Formaldehitin kromozomlar üzerine oluşturduğu en büyük etki kırık oluşumudur. Formaldehit ile birlikte yeşil çay özütü uygulaması kromozomal hasar sayılarının tekrar azalmasına neden olmuştur. Yeşil çay özütünün dozlarındaki artışla birlikte kromozomal hasarlarının oranı oldukça azalırken, bu azalışın istatistiksel olarak önemli ($P<0.05$) olduğu belirlenmiştir.

Gruplar	Ortalama AM	Ortalama MI / (%)
Grup I	2.67±0.52 ^d	833.00±28.91 ^a (13.88)
Grup II	1.83±0.75 ^d	823.67±36.78 ^a (13.72)
Grup III	1.96±0.52 ^d	827.50±44.25 ^a (13.79)
Grup IV	42.00±3.41 ^a	524.83±25.62 ^d (8.75)
Grup V	31.50±2.66 ^b	628.50±19.76 ^c (10.48)
Grup VI	26.33±2.25 ^c	670.33±21.84 ^b (11.17)

Tablo 3. Formaldehit ve yeşil çay özütü uygulamalarının AM ve MI üzerine etkileri

* AM için her hayvan başına 100 hücre, her grupta 6 hayvan bulunduğu için ise toplamda 600 hücre sayılmıştır. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemli olmuştur ($P<0.05$).

Formaldehitin teşvik ettiği AM sayıları ile ilgili veriler Tablo 3’de verilmiştir. Işık mikroskobu ile yapılan gözlemler sonucunda en fazla AM sayısına formaldehit ile muamele edilen grupta en az ise kontrol ve sadece yeşil çay özütü ile muamele edilen gruplarda rastlanmıştır. Formaldehit uygulanan gruptaki AM sayılarındaki artışın, diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir ($P<0.05$). Formaldehit ile birlikte yeşil çay özütü uygulaması AM sayısının tekrar azalmasına neden olmuştur. Uygulanan yeşil çay özütünün dozları ile AM sayıları arasında ters bir ilişkinin varlığı saptanmıştır. Yeşil çay özütünün dozlarındaki artışla birlikte AM sayıları önemli bir azalma göstermiştir. Ayrıca bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu da belirlenmiştir ($P<0.05$). Bölünen hücrelerin sayısını gösteren MI ile ilgili veriler Tablo 3’de verilmiştir. En yüksek MI değerleri kontrol grubu ve sadece yeşil çay özütü ile muamele edilen gruplarda tespit edilmiştir. Formaldehit uygulanan grupta ise MI düzeyi kontrol grubuna kıyasla %5.13 oranında bir azalma göstermiştir. Bu azalışın istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir

($P < 0.05$). Formaldehitte birlikte yeşil çay özütü uygulanan gruplarda ise MI değerleri tekrar artış eğilimine girmiştir.

4. TARTIŞMA

KA ve MN testleri kimyasal maddeler, radyasyon ve ilaçların neden olduğu genotoksik etkilerin değerlendirilmesi için kullanılan güvenilir tekniklerdendir. [33-35]. Bu çalışmada da formaldehitin neden olduğu genotoksik bozuklukları değerlendirmek için KA, MN ve MI testleri kullanılmıştır. Formaldehit maruziyetinin albino farelerde KA sıklığında ve AM oranında bir artışa, MI oranında ise bir azalmaya sebep olduğu tespit edilmiştir. Benzer şekilde Cao ve ark. [36] 14 gün süresince formaldehite maruz kalan farelerde MN sıklığı ve KA'ların özellikle de kromozom kırıklarının sayısında önemli bir artış olduğu rapor etmişlerdir.

Bu çalışmada 50 ve 150 mg / kg c.a. dozlarında yeşil çay özütü uygulamalarının formaldehitin neden olduğu genotoksisiteyi önemli ölçüde azalttığı ve bu etkinin doza bağlı olduğu belirlenmiştir. Çeşitli klinik çalışmalar yeşil çayın antioksidan, terapotik ve farmakolojik özelliklerini ortaya koymuştur. Coimbra ve ark. [37] yeşil çayın plazma ve eritrositlerde oksidatif stresin oluşum hızını azalttığını rapor etmişlerdir. Benzer bir çalışmada Babu ve ark. [38] yeşil çayın antioksidan özelliğinden dolayı şeker hastası ratların kalp ve aort dokularında meydana gelen oksidatif stresi azalttığını belirtmişlerdir. Yeşil çayın bileşiminde bulunan kateşinler koruyucu etkiden sorumlu majör bileşendir. Kateşinlerin bu koruyucu etkisi mutajeniteyi ve genotoksisiteyi önleme, hücre çoğalmasını engelleme, hücre döngüsünü durdurma, etken reseptörleri baskılama, sitokinlerin salınımını azaltma mitotik uyarıları baskılama gibi mekanizmalarla açıklanmaktadır [39-41].

Sonuç olarak, bu çalışmada elde edilen veriler formaldehitin albino farelerde genotoksik etkiye neden olduğunu ve yeşil çay uygulamalarının da genotoksisiteyi azaltarak koruyucu rol sergilediğini göstermektedir.

5. TEŞEKKÜR

Bu araştırma Giresun Üniversitesi "Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi" tarafından desteklenmiştir.

KAYNAKLAR

- [1] Borzov I.N., Beta-decay rates, Nucl.Phys.A 777, 645-675 (2006).
- [2] B. Zuckerman, D. Buhl, P. Palmer, L. E. Snyder, Observation of interstellar formaldehyde. *Astrophys. J.* 1970, 160: 485–506.
- [3] www.greenpackonline.org.

Formaldehit Toksisitesine Karşı Yeşil Çay Özütünün Koruyucu Etkisi: Swiss Albino
Farelerde Genotoksik Değerlendirme

- [4] R.W. Wood, J.B. Coleman, Behavioral evaluation of the irritant properties of formaldehyde. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1995, 30: 67-72.
- [5] J.B. Morris, Dosimetry, toxicity and carcinogenicity of inspired acetaldehyde in rat. *Mutat Res.* 1997, 380: 113-124.
- [6] B.A. Sorg, J.R. Willis, T.C. Nowatka, C. Ulibarri, R.E. See, H.H. Westberg, Proposal animal neurosensitization model for multiple chemical sensitivity in studies with formalin. *Toxicology.* 1996, 11: 135-145.
- [7] H. Heck, M. Casanova, T.B. Starr, Formaldehyde toxicity: New understanding. *Crit. Rev. Toxicol.* 1990, 397-426.
- [8] R.C. Grafstrom, R.D. Curren, L.L. Yang, C.C. Harris, Genotoxicity of formaldehyde in cultured human bronchial fibroblast. *Science.* 1985, 228: 89-91.
- [9] E.N. Schachter, T.J. Witek, T. Tosun, B.P. Leaderer, G.J. Beck, A study of respiratory effects from exposure to 2 ppm formaldehyde in healthy subjects. *Arch Environ Health.* 1986, 41: 229-239.
- [10] D.O. Adams, T.A. Hamilton, L.D. Laurer, J.H. Dean, The effects of formaldehyde exposure upon the mononuclear phagocyte system of mice. *Toxicol Appl Pharmacol.* 1987, 88: 165-174.
- [11] D.J. Green, L.R. Sauder, T.J. Kulle, R. Bascom, Acute response to 3.0 ppm formaldehyde in exercising healthy nonsmokers and asthmatics. *Am. Rev. Respir Dis.* 1987, 135: 1261-66.
- [12] A.E. Smith, Formaldehyde. *Occup Med.* 1992, 42, 83-88.
- [13] J. Shaham, Y. Bomstein, A. Meltzer, Z. Kaufman, E. Palma, J. Ribak, DNA-protein crosslinks, a biomarker of exposure to formaldehyde in vitro and in vivo studies. *Carcinogenesis* 1996, 17:121-125.
- [14] A.A. Ensafi, S. Abassi, Sensitive reaction rate method for the determination on low levels of formaldehyde with photometric detection. *Fresenius J. Anal Chem.* 1999, 363:376-379.
- [15] S.E. Usanmaz, E.S. Akarsu, N. Vural, Neurotoxic effects of acute and subacute formaldehyde exposures in mice. *Envir Toxicol Pharmacol.* 2002, 11, 93-100.
- [16] R.C. Grafstrom, J. Albert, J.R. Fornace, H. Autrup, J.F. Lechner, C.C. Harris, Formaldehyde damage to DNA and inhibition of DNA repair in human bronchial cells. *Science* 1983,216-218.

- [17] M. Casanova, H.A.D. Heck, J.I. Everitt, W.W. Harrington, J.A. Popp, Formaldehyde concentrations in the blood of rhesus monkeys after inhalation exposure. *Food Chem. Toxicol* 1988, 220:216-218.
- [18] J.K. McLaughlin, Formaldehyde and cancer: A critical review. *Int. Arch. Occup Environ Health* 1994, 66:295-301.
- [19] V.S. Goldmacher, W.G. Thilly, Formaldehyde is mutagenic for cultured human cells *Mutat. Res.* 1983,116:417-22.
- [20] A.T. Natarajan, F. Darroudi, C.J.M. Bussman, A.C. van Kesteren-van Leeuwen, Evaluation of the mutagenicity of formaldehyde in mammalian cytogenetic assays in vivo and in vitro. *Mutat. Res.* 1983,122:355-60.
- [21] N. Sharma, P. Trikha, M. Athar, S. Raisuddin, Protective effect of Cassia Occidentalis extract on chemical-induced chromosomal aberrations in mice. *Drug. Chem. Toxicol.* 1999, 22 (4): 643–653.
- [22] N. İlhan, D. Seçkin, Protective effect of Nigella sativa seeds on CCl4-induced Hepatotoxicity. *Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Tıp Dergisi.* 2005, 19 (3): 175–179.
- [23] A.A. Hamza, A. Amin, Apium graveolens modulates sodium valproate-induced reproductive toxicity in rats. *J. Exp. Zool. A Ecol. Genet. Physiol.* 2007, 307A (4): 199–206.
- [24] F. Nanjo, M. Mori, K. Goto, Y. Hara, Radical scavenging activity of tea catechins and their related compounds. *Biosci Biotechnol Biochem.* 1999, 63: 1621–1623.
- [25] M.W.L. Koo, C.H. Cho, Pharmacological effects of green tea on the gastrointestinal system. *European Journal of Pharmacology.* 2004, 500:177– 185.
- [26] S. Tas, E. Sarandol, S. Ziyank, K. Aslan, M. Dirican, Effects of green tea on serum paraoxonase/arylesterase activities. *Nutrition Research.* 2005, 25:1061-1074.
- [27] M.A. Te-Hsiu, X. Zhou, G.F. Loarco, G.G. Arreola, S.U. Lecona, Mouse–erythrocyte micronucleus (MUS-EMN) assay on the clastogenicity of industrial wastewater. *Rev. Int. Contam Ambient.* 1995, 11: 95–98.
- [28] N. Titenko-Holland, G. Windham, P. Kolachana, F. Reinisch, S. Parvatham, A.M. Osorio, M. T. Smith, Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay in vitro and in vivo: a study of malathion-exposed workers. *Mutat. Res.* 1997, 388: 85–95.
- [29] Y. Özkul, H. Dönmez, A. Erenmemişoğlu, H. Demirtas, N. İmamoğlu, Induction of micronuclei by smokeless tobacco on buccal mucosa cells of habitual users. *Mutagenesis.* 1997, 12: 285–287.

Farelerde Genotoksik Değerlendirme

- [30] K. Çavuşoğlu, K. Yapar, E. Yalçın, The Royal Jelly (Honey Bee) has a potential antioxidant against cadmium-induced genotoxicity and oxidative stress in Albino mice. *J. Med. Food.* 2009, 12 (6): 1286–1292.
- [31] M. Fenench, W.P. Chang, M. Kirsch-Volders, N. Holland, S. Bonassi, E. Zeiger, Human micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutat. Res.* 2003, 534: 65–75.
- [32] D. Beyersmann, S. Hechtenberg, Cadmium, gene regulation, and cellular signaling in mammalian cells. *Toxicol Appl. Pharmacol.* 1997, 144: 247–261.
- [33] J.R. Savage, Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *J. Med. Genet.* 1976, 13: 103–122.
- [34] H. Mozdarani, S. Kamali, Antigenotoxic effects of cimetidine against benzene induced micronuclei in mouse bone marrow erythrocytes. *Toxicol Lett.* 1998, 99: 53–61.
- [35] A. Celik, B. Mazmanci, Y. Camlica, A. Askin, Cytogenetic effects of lambda-cyathothrin on Wistar rats bone marrow. *Mutat. Res.* 2003, 539: 91–97.
- [36] N.U. Karabay, M.G. Oguz, Cytogenetic and genotoxic effects of the insecticides, imidacloprid and methamidophos. *Genet. Mol. Res.* 2005, 4: 653–662.
- [37] X. Cao, Z. Cao, X. Zheng, M. Wang, Z. Li, C. Li, J. Wang, D. Long, W. Rang, Micronucleus rate and chromosome aberration of mouse embryo liver induced by formaldehyde. *Wei Sheng Yan Jiu.* 2009, 38(6): 667–671.
- [38] S. Coimbra, E. Castro, P. Rocha-Pereira, I. Rebelo, S. Rocha, A. Santos-Silva, The effect of green tea in oxidative stress. *Clin. Nutr.* 2006, 25: 790–796.
- [39] P.V.A Babu, K.E. Sabitha, C.S. Shyamaladevi, Green tea extract impedes dyslipidaemia and development of cardiac dysfunction in streptozotocin-diabetic rats. *Clin. Exp. Pharmacol Physiol.* 2005, 33: 1184–1189.
- [40] Y.C. Liang, S.Y. LinShiau, C.F. Chen, J.K. Lin, Different tumor-promoting agents are known to induce free radicals in cells. *J. Cell. Biochem.* 1999, 75:1-12.
- [41] H. Fujiki, M. Sukanuma, S. Okabe, E. Sueoka, K. Suga, K. Imai, K. Nakachi, S. Kimura, Mechanistic findings of green tea as cancer preventive for humans. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.* 1999, 220:225–228..