

GİRESUN ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI
YÜKSEK LİSANS TEZİ

1,4 DİOKSAN'NIN SWISS ALBİNO FARELERDE
FİZYOLOJİK VE GENOTOKSİK ETKİLERİN ARAŞTIRILMASI

SAFFET SAĞIR

HAZİRAN 2012

ÖZET

Bu çalışmada yaygın olarak kullanılan bir kimyasal olan 1.4 Dioksan'ın Swiss albino fareler üzerindeki genotoksik ve fizyolojik etkileri araştırıldı. Ayrıca yeşil çayın 1.4 Dioksan'a karşı olan koruyucu etkisi de araştırılmıştır. Bu amaç için mikronükleus (MN), mitotik indeks (MI), kromozom aberasyonları (KA), vücut ve organ ağırlığını belirteç olarak kullandık.

1.4 Dioksan (720mg/kg) ve yeşil çay (50 ve 100mg/kg) 10 hafta süreyle bir gün ara ile içme suyu ile hayvanlara uygulandı. Deney süresinin sonunda şu sonuçlar elde edildi.1.4 Dioksan'ın kromozom hasarları ve mikronükleus oluşumunu kontrol ve yeşil çay grubuyla karşılaştırıldığında önemli derecede arttırdığı saptanmış. Vücut ve organ ağırlığı ölçümlerinde sadece Dioksan grubunda önemli azalma varken kontrol ve yeşil çay grubunda herhangi bir değişiklik yoktu. Ayrıca 1.4 Dioksan mitotik indeks oluşumunda kontrol ve yeşil çay grubuyla karşılaştırıldığında önemli azalmaya neden oldu.

Bu sonuçlar 1.4 Dioksan'ın fareler üzerinde genotoksik etkiye sahip olduğunu ve yeşil çayın bu toksik kimyasala karşı koruyucu etkiye sahip olduğunu göstermiştir.

Anahtar Kelimeler : 1.4 Dioksan, Kromozom aberasyonları (KA), Mikronükleus (MN), Mitotik indeks (MI).

ABSTRACT

In the present study, the physiological and genotoxic effects of a widely used chemical, 1,4 Dioxane, were investigated on Swiss albino mice. Also investigated the protective effect of green tea against 1,4 Dioxane. For this purpose we used as marker the micronucleus (MN), mitotic index (MI), chromosome aberrations (CAs), body and organ weight

1,4 Dioxane (720 mg/kg) and green tea (50 and 100 mg/kg) were given to animals at an interval of a day for ten weeks via drinking. At the end of the experimental period following results obtained. 1,4 Dioxane significantly increased CAs and frequency MN when compared with both control and green tea group. In the body and organ weight measurements the only significant decrease was in the Dioxane group and there isn't significant change in the green tea and control groups. Furthermore, 1,4 Dioxane caused the significant decrease in the frequency MI when compared with control and green tea group.

These the results indicated that 1,4 Dioxane had genotoxic potential on mice and green tea had protective effects on the genotoxic of this toxic chemical

Key Words: 1,4 Dioxane, Chromosome Aberrations (CAs), Micronucleus (MN), Mitotic Index (MI).

TEŞEKKÜR

Bu tez alışmalarım sũresince beni y¶nlendiren, bilimsel katkılarını ve yardımlarını esirgemeyen değerli danışman hocam Do. Dr. Kũltięin AVUŐOęLU'na ve ortak danışmanım Do. Dr. Kũrřad YAPAR'a yakın ilgi, anlayış ve desteklerinden dolayı teőekkũr ederim.

Yũksek lisans eğitimim boyunca her tũrlũ desteğini esirgemeyen ve laboratuvar alışmalarımda beni yalnız bırakmayan arkadaşlarım Yiğit ŐAHİN ve Neslihan DURU'ya teőekkũr ederim. Ayrıca ev arkadaşım olan Arif AKSOY'a teőekkũrũ bor bilirim.

Hayatımın her aşamasında aşamasında yanımda olan, maddi ve manevi desteklerini her zaman hissettiğim aileme teőekkũr ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
TABLOLAR DİZİNİ.....	VI
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VII
SİMGE VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VIII
1. GİRİŞ.....	1
1.1. 1,4Dioksan.....	1
1.2. Vücut ağırlığı.....	2
1.3. Mikronükleus.....	2
1.4. Kromozomal anormallikler.....	3
1.5. Yeşil çay.....	3
1.5.1. Çayın antioksidan aktivitesi.....	6
2. MATERYAL METOD.....	7
2.1. Vücut ağırlıklarının saptanması.....	7
2.2. Ürün ve kimyasallar.....	7
2.3. Eritrosit mikronükleus testi.....	7
2.4. Yanak mukoza epitel hücre mikronükleus testi.....	8

2.5. Kromozom analiz yöntemi.....	9
2.6. Hücre analizi.....	9
2.6.1. Mitotik indeks.....	9
2.6.2. Anormal metafaz sayısı.....	9
2.7. İstatistiksel analiz.....	9
3. BULGULAR.....	10
4. TARTIŞMA SONUÇ.....	17
KAYNAKLAR.....	22
ÖZGEÇMİŞ.....	29

TABLÖLAR DİZİNİ

TABLO

1.1. Çay yaprağının kimyasal bileşimi	4
3.1. Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının canlı ağırlık üzerine etkileri.....	11
3.2. Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının eritrosit mikronükleus (MN) sıklığı üzerine etkileri.....	12
3.3. Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının yanak mukoza epitel hücrelerinde mikronükleus (MN) sıklığı üzerine etkileri.....	12
3.4. 1,4 Dioksanın teşvik ettiği kromozomal hasar sayılarının yeşil çay uygulaması ile değişimi.....	14
3.5. 1,4 Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının anormal metafaz sayısı (AMS) üzerine etkileri.....	15
3.6. 1,4 Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının mitotik indeks (MI) üzerine etkileri.....	16

ŞEKİLLER DİZİNİ

ŞEKİL

1.1. Mikronükleus oluşumu.....	2
3.1. Eritrosit ve yanak mukozası epitel hücrelerinde 1,4 Dioksan tarafından teşvik edilen mikronükleusların görünümü.....	10

SİMGELER VE KISALTMALAR

AMS	Anormal metafaz sayısı
°C	Santigrat derece
DNA	Deoksiribonükleik asit
EC	α -epikateşin
EGC	α -epigallokateşin
EGCG	epigallokateşin-3-gallat
GC	Gallokateşin
H ₂ O ₂	Hidrojen peroksit
KA	Kromozomal anormallik
KCl	Potasyum klorür
Kg	Kilogram
LDL	Düşük yoğunluklu kolesterol
M	Molar
MDA	Malondialdehit
MN	Mikronükleus
MI	Mitotik indeks
Ppm	Milyonda bir birimi
SD	Standart sapma
TPA	12-o-tetradekanoil porbol-13-asetat

1. GİRİŞ

1.1. 1,4- Dioksan

1,4 Dioksan erime noktası 12 °C ve kaynama noktası 101 °C olan yüksek derecede yanıcı özelliğe sahip olan eterik kokulu bir bileşiktir (1). Su, alkol, eter, aseton, benzen ve asetik asit gibi organik çözücülerle karışabildiği gibi ayrıca yağlar ve aromatik hidrokarbonlarla karışabilme yeteneğine de sahiptir (2). 1,4 Dioksan; dietilen eter, 1,4 dietilen dioksit, dietilen oksit, dioksietilen eter ve dioksan isimleriyle de adlandırılmaktadır (3).

Günümüzde Dioksan boyalarda, verniklerde, yapıştırıcılarda, deterjan ve temizleyicilerin hazırlanmasında, kozmetikte ve pestisidlerde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Dioksan kimyasalların, tıbbi ürünlerin ve manyetik bantların üretimi sırasında, antifrizlerin yapısında, doku örneklerinin hazırlanmasında dehidrasyon ajanı olarak ve radyoaktif ışınların sayılmasında da kullanılmaktadır (4,5). En önemli kullanım alanları ise kozmetik ürünlerin; sabun, şampuan, saç losyonları, bebek losyonları, sıvı bulaşık deterjanları ve banyo köpüğü gibi ürünlerinin üretim aşamasıdır (1-7). 1,4 Dioksan, Polietoksi alkollerin oluşumu sırasında etilen oksidin dimerizasyonu sonucu oluşmaktadır (8).

1,4 Dioksan insanlarda oldukça ağır toksik etkilere sahiptir. Başlıca hedef doku ve organlar deri, karaciğer, böbrek, akciğer ve gözlerdir. Solunum, deri ve beslenme yoluyla alımı zehirlenmelere sebep olmaktadır. Zehirlenme semptomları arasında baş dönmesi, baş ağrısı, solunum güçlüğü, mide bulantısı ve kusma sayılabilir. Ayrıca Dioksan'ın merkezi sinir sisteminde depresyona neden olduğuda bilinmektedir (7).

Bu çalışmanın amacı günlük yaşamımızda kullandığımız pek çok ürünün yapısında yer alan 1,4 Dioksanın Swiss albino farelerde muhtemel fizyolojik ve genotoksik etkilerini gözler önüne sermek ve ayrıca yeşil çay özütünün 1,4 Dioksanın muhtemel toksik etkilerine karşı koruyucu rolünü araştırmaktır.

1.2. Vücut Ağırlığı

Vücut ağırlığının belirlenmesi toksikoloji çalışmalarında radyasyon ve kimyasal maddelerin toksik etkilerinin değerlendirilmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. Bu yöntem kısaca uygulama grupları ile kontrol gruplarının başlangıç ve son canlı ağırlıklarının karşılaştırılması esasına dayanmaktadır (9).

1.3. Mikronukleus (MN)

Mikronükleus (MN) tekniği radyasyon ve kimyasalların klastojenik ve genotoksik etkilerini değerlendirmede, kromozom hasarlarına alternatif ya da tamamlayıcı olarak kullanılan bir yöntemdir (10,11). MN hücre bölünmesi sırasında özellikle mutajenik ve klastojenik etkiler sonucu ortaya çıkan, hücrenin temel çekirdeğine dahil olmayan, tam bir kromozom veya asentrik bir kromozom parçasından kaynaklanan oluşumlardır (12,13). Diğer bir ifadeyle MN'lar ya klastojenlerin neden olduğu kromozom kırığı sonucu asentrik kromozom fragmentlerinden, ya da aneujenlerin neden olduğu sentromer bölünme hataları veya iğ ipliği fonksiyon bozukluğu sonucu anafaz sırasında geri kalan tam bir kromozomdan oluşurlar (14). MN sayısındaki artış, çeşitli ajanlar tarafından teşvik edilen sayısal ya da yapısal kromozomal anormalliklerin dolaylı göstergesi olarak kabul edilirler (15). MN sıklığı kromozomal kırıkların ve kromozomal parça kayıplarının sayısı ile hücrelerin bölünme oranına bağlıdır (16-17)

MN tekniği *in vitro* genotoksisite testleri ile populasyonların taramasında kolayca uygulanabilen bir tekniktir (18). Çeşitli kimyasallara ve fiziksel ajanlara maruz kalmış bireylerin taranması amacı ile bireyler arasındaki genetik hasarın temel seviyesini anlamak ve bu ajanların sitogenetik etkilerini değerlendirmek amacıyla farklı tip hücrelerde çok kolay bir biçimde uygulanabilmektedir (14,18). MN test yöntemini sitogenetik hasarları belirlemede etkili bir metot haline getiren; bu farklı hücre tiplerine uygulanabilmesi, kromozom ve genom mutasyonlarının basit bir şekilde belirlenebilmesi, klastojenler ve aneujenler arasındaki ayrımların yapılabilmesi, apoptozis ve nekrozun birlikte tanımlanabilmesi, en önemlisi ise hızlı, ucuz ve sayımının kolay olmasıdır (18).

1.4. Kromozomal Anormallikler

Kromozomların yapı ve sayısında meydana gelen kalıtsal değişimlere kromozom anormallikleri adı verilmektedir. Bu hasarlar ya kendiliğinden meydana gelmekte (replikasyon hatası vb.) ya da ultraviyole, gama ışınları ve çeşitli kimyasal maddelerin etkisiyle oluşabilmektedirler. Bu tür değişiklikler sonunda genlerin sayısı ve yerleşimleri değişeceğinden farklı genotipik özellikler meydana gelmektedir. Yapılan deneysel çalışmalarda en sık rastlanan kromozom anormallikler; kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment, disentrik kromozom, halka (ring) kromozom, translokasyon, duplikasyon ve inversiyon şeklinde sıralanabilir (19-23).

1.5. Yeşil Çay

Camellia sinensis L. (O. Kuntzel) olarak bilinen ve her zaman yeşil olan çay Theaceae familyasındandır. Dünyada en fazla tüketilen içeceklerin başında yer alır. Dünya nüfusunun üçte ikisi tarafından yılda yaklaşık 3000 ton çay tüketilmektedir (24-26). Dünya genelinde çay tüketimine bakıldığında Hindistan ve batısında kalan ülkelerde siyah çay tüketiminin, Çin ve Japonya gibi Uzakdoğu ülkelerinde ise yeşil çay tüketiminin daha fazla olduğu görülmektedir (27).

Çay bitkisinden ticari olarak 3 çeşit çay üretilmektedir. Bunlar siyah çay (%78), yeşil çay (%20) ve oolong çaydır (%2). Yeşil çayın en önemli özelliği fermantasyona uğramadan direk çay bitkisinin taze yapraklarından elde edilmesidir. Bu nedenle yeşil çay, kateşin grubundan monomerik polifenollerin yüksek düzeyde konsantrasyonunu içerir (28). Bununla birlikte oolong çayı yarı fermente edilerek, siyah çay ise tam fermente edilerek elde edilmektedir (24-29).

Çay yaprakları suda çözülebilen flavanoller, flavanol galat ve flavanol glikozidler gibi polifenoller bakımından zengindir. Çayın içerdiği önemli kateşinler ise α -epigallokateşin-3-gallat (EGCG), α -epigallokateşin (EGC), α -epicateşin-3-gallate (ECG), α -epikateşin (EC) α -epikateşin-3-gallat (ECG), α -epikateşin (EC), α -gallokateşin ve β -kateşin'dir (28,30). İşleme şekline bağlı olarak çayın fenolik madde miktarıyla birlikte, fenolik madde içeriği de aynı ölçüde değişmektedir. Örneğin siyah çay kuru maddede % 3-10 oranında, oolong çay % 8-20 oranında, yeşil çay ise % 30-42 oranında flavanol içermektedir (31).

Tablo 1.1. Çay yaprağının kimyasal bileşimi (32, 33)

Bileşen	%, Kuru Maddede
Flavanoller (Katesinler)	17-30 mg/g
Epikatesin (EC)	1-3 mg/g
Epikatesingallat (ECG)	3-6 mg/g
Epigallokatesin (EGC)	3-6 mg/g
Epigallokatesin galat (EGCG)	9-13 mg/g
Katesin (C)	1-2 mg/g
Gallokatesin (GC)	3-4 mg/g
Flavanoller ve flavanol glikozitleri	3-4 mg/g
Leykoantosiyeninler	2-3 mg/g
Polifenolik asitler ve depsitler	5 mg/g
Toplam polifenoller	30-36 mg/g
Kafein	3-4 mg/g
Aminoasit ve protein	15-19 mg/g
Basit karbonhidratlar	4 mg/g
Polisakkaritler	13 mg/g
Kül	5 mg/g
Selüloz	7 mg/g
Lignin	6 mg/g

Yeşil çayın yapısında bulunan flavanolleri de içeren flavonoidlerin serbest radikalleri temizleyici, güçlü antioksidan özelliği, hidrolitik ve oksidatif enzimleri (fosfolipaz A2, sitokrom oksijenaz, lipoksijenaz vb.) inhibe etme ve iltihap önleyici özelliklere sahip olduğu bilinmektedir (34,35). Çay flavanollerinin söz konusu antioksidan özelliği hidroksil gruplarının sayısı, bağlandığı yer ve galloil parçalarının varlığına bağlı olarak değişiklik göstermektedir (31,36).

Vinson ve Dabbagh (1998), çay kateşinlerinde flavonoidler gibi antioksidan güçlerinin yüksek olmasından dolayı hücreleri serbest radikal hasarına karşı koruduklarını saptamışlar ve önem sırasına göre çay kateşinlerinin antioksidan aktivitesini epigallokateşin galat > epigallokateşin > epikateşin galat > epikateşin olarak sıralamışlardır (31). Çay kateşinlerine ilaveten oksidasyon ile oluşan

tearubuginler ve teaflavin monogallat gibi sekonder fenolik maddelerinde antioksidan özelliğe sahip oldukları belirlenmiştir. Siyah çay üretimi sırasında oksidasyonla oluşan bu maddeler polimerizasyon nedeniyle monomerik kateşinlerden daha çok fenolik hidroksiller içerirler ve önemli ölçüde süperoksit ile hidroksil radikalini yok etme yeteneğine sahiptirler (38). Fareler üzerinde yapılan çalışmalar, çayda bulunan sekonder fenolik maddelerin serbest radikalleri parçalama yeteneğine sahip bir enzim olan süperoksit dismutaz hasarını ve oksidasyonunu önlediğini, böylece süperoksit dismutaz enziminin aktivitesini artırdığını ve lipid peroksidasyonu ile oluşan malondialdehit (MDA) miktarını düşürdüğünü göstermiştir (38,39). Ayrıca çay fenolikleri farelerde deri ve akciğer tümörü oluşumunu önleyebilmektedir.

Yeşil çay polifenollerini hidrojen peroksit (H_2O_2) oluşumunu başlatan 12-o-tetradekanoil porbol-13-asetat (TPA) ve 8-hidroksideoksi guanozin oluşumunu inhibe etmektedir. Çay'ın TPA tarafından teşvik edilen epidermal ornitin dekarboksilaz, protein kinaz C, lipoksigenaz ve siklogenaz gibi kanser ilerlemesiyle ilgili enzimleri inhibe ettiği bilinmektedir. Epigallokateşin gallatın prostat ve meme tümörlerinin büyümesini, deri, mide, kolon ve akciğer kanserlerinin ise oluşumunu engellediği, teaflavinlerin ise akciğer ve yemek borusu kanseri oluşumunu inhibe ettiği bildirilmektedir (29).

1.5.1. Çayın Antioksidan Aktivitesi

Çayın antioksidan aktivitesi içerdiği fenolik maddelerden kaynaklanmaktadır. Langley-Evans (2000) diyetle alınan antioksidanların % 35-45'inin çay flavonoidlerinden kaynaklandığını ve demleme sırasında sıcaklığın artışıyla demeye geçen antioksidan miktarının arttığını belirtmiştir. Dillard ve German (2000) tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada ise, yaşları 65-84 arasında olan 805 erkekte günlük flavonoid alım miktarının ortalama 25.9 mg olduğunu ve bunun % 61'inin çaydan karşılandığı belirtilmiştir. Vinson ve Dabbagh (1998) tarafından gerçekleştirilen bir başka çalışmada ise, A.B.D'de günlük çay kullanımının kişi başına 1 g/gün olduğunu böylece çayla 200-300 mg/gün flavonoid alındığı, bu miktarın ise günlük tavsiye edilen C ve E vitaminleriyle β -karoten toplamından daha fazla olduğu rapor edilerek çayın sahip olduğu güçlü antioksidan özelliğine dikkat çekilmiştir.

Diyetimizdeki fenolik maddelerin büyük kısmını karşılayan çayın antioksidan aktivitesi üzerine yapılmış birçok bilimsel çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalar özellikle yeşil çayın fenolik maddelerce zengin bazı içeceklere göre daha yüksek antioksidan aktiviteye sahip olduğunu göstermektedir. Ayrıca siyah çaya göre daha yüksek antioksidan özelliğe sahip olan yeşil çay ekstraktlarının zincir kırma aktivitesi ve reaktif oksijen türlerini yok etme özelliği de siyah çaydan daha fazladır (42). Yeşil çayda bulunan fenolik maddelerin antioksidan özelliği epigallokateşin-3-gallat'an (EGCG) kaynaklanır. EGCG'lar hidroksil grublarına ve aromatik yapıli halkalara bağlanarak antioksidan özellik gösterip böylece serbest radikalleri etkisiz hale getirirler. Ayrıca EGCG kanserli hücrelerin metastaz yapmak için kullandıkları bir enzim olan ürekinazı inhibe ederek kanserli hücrelerin yayılmasını önler (25). Yüksek antioksidan aktivitesi olan çay, aynı zamanda düşük yoğunluklu kolesterolun (LDL) oksidasyonunu geciktirmektedir (40, 37).

Çay ve çay kateşinleri karsinogenler ile kanserin başlangıç, ilerleme ve transformasyon evrelerini inhibe etmekte, koroner kalp hastalıklarına karşı ise koruma sağlamaktadır (36). Bu bağlamda çay tüketimi ile akciğer, özefagus, on iki parmak barsağı, pankreas, karaciğer, meme ve kolon kanseri oluşumuna karşı korunma sağlanmaktadır (28,30).

2. MATERYALVE METOT

Bu çalışmada Giresun Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Deney Hayvanları Laboratuvarında mevcut 36 adet Swiss albino fare kullanılmıştır. Hayvanlar bir kontrol beş uygulama olmak üzere 6 gruba ayrılmış 12 saat ışık ve 12 saat karanlık döngüde, oda sıcaklığında ve %50 nem ortamında bakımları sağlanmıştır. 10 haftalık uygulama periyodu süresince I. Gruba (Kontrol) standart fare yemi ve çeşme suyu, II. Gruba 50 mg/kg c.a yeşil çay, III. Gruba 100 mg/kg c.a yeşil çay, IV. Gruba 720 mg/kg c.a 1,4 Dioksan, V. Gruba 720 mg/kg c.a 1,4 Dioksan + 50 mg/kg c.a yeşil çay, VI. Gruba Gruba 720 mg/kg c.a 1,4 Dioksan + 100 mg/kg c.a yeşil çay verilmiştir. V. ve VI. gruplar için yeşil çay uygulanmasına Dioksan maruziyetinden bir hafta önce başlanmış ve 10 hafta süresince Dioksanla birlikte devam edilmiştir. Uygulama periyodundan bir hafta önce hayvanlar standart pellet yem ve çeşme suyu ile beslenerek ortama adaptasyonları sağlanmıştır.

2.1. Vücut Ağırlıklarının Saptanması

Uygulama periyodunun öncesinde ve sonrasında her bir farenin canlı ağırlığı hassas terazi yardımıyla ölçülerek ağırlık kazanımı belirlenmiştir.

2.2. Ürün ve Kimyasallar

Yeşil çay özütü Vega Naturel Ürünler Ltd. Şti (Konya)'den, Kolşisin Solüsyonu Biostar Kimya Medikal Laboratuvar Ürünleri Ltd. (Ankara)'den, Fast Green ve Grünwald Giemsa boyaları ise Interlab A.Ş (İstanbul)'den temin edilmiştir.

2.3. Eritrosit Mikronukleus (MN) Testi

Fare Eritrosit Mikronukleus (MN) testi, kemik iliği polikromatik eritrositlerinde uygulanan geleneksel MN testinin modifiye bir şeklidir. Bu testde, farelerin kuyruklarından elde edilen dolaşım kanındaki olgun normakromatik eritrositler sayılmaktadır. Fare eritrosit MN testi Te-Hsiu ve arkadaşlarının (1995) 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 lamalar üzerine yayılmıştır. Eritrositler 2 dakika süreyle %70'lik

etanol içinde fiske edilmiş ve hazırlanan slaytlar oda sıcaklığında bir gece kurumaya bırakılmıştır. Daha sonra, slaytlar % 5'lik May-Grünwald Giemsa ile 15 dakika süresince boyanarak, süre sonunda saf su ile yıkanmıştır. Genellikle her bir grup için üç ya da dört slayt hazırlanmış ve her bir slayttaki MN sıklığı iki farklı gözlemci tarafından art arda iki defa sayılmıştır. Hazırlanan slaytlardan toplam 1000 normakromatik eritrosit araştırma mikroskobu (model BX51, Olympus, Tokyo, Japan) altında X100 büyütmede sayılarak MN'li hücrelerin sayısı tespit edilmiş ve X500 büyütme de fotoğraflandırılmıştır (44).

2.4. Yanak Mukoza Epitel Hücre Mikronukleus (MN) Testi

Yanak mukozası epitel hücrelerinde mikronukleus (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 lamalar üzerine alınarak 15-30 dakika arasında kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda dokular metanol: asetik asit (3:1) solüsyonu ile 10 dakika fikse edilerek literatürlerde (12, 45) tanımlandığı gibi Feulgen ve Fast Green boyaları ile boyanarak kurumaya bırakılmıştır. Süre sonunda örnekler Entellen yardımıyla lamelle kapatılarak daimi preparat haline getirilmiştir. Yanak mukoza epitelindeki MN sıklığını belirlemek amacıyla araştırma mikroskobu altında, her gruptaki her bir fare için 1000 hücre sayılarak X500 büyütmede fotoğraflandırılmıştır. MN analizleri Fenech ve arkadaşları (2003) tarafından belirlenen kriterlere göre yapılmıştır. Buna göre;

- a) Sitokalsin B'nin yokluğunda MN analizleri mononükleer hücreler sayılarak gerçekleştirilir.
- b) MN'in çapı hücrenin temel çekirdeğinin 1/3'ü kadar olmalıdır.
- c) MN ile hücrenin temel çekirdeğinin kenarları birbirlerine temas edebileceği gibi etmeyebilirde, fakat temas ettiği durumlarda bu aradaki sınırın belirgin bir şekilde ayırt edilmesi gerekmektedir.
- d) MN boyandığında hücrenin temel çekirdeğin aldığı renge yakın bir renk almalıdır.

2.5. Kromozom Analiz Yöntemi

Farelere sakrifiye edilmeden 2 saat önce intraperitoneal (ip) yolla 0.025% kolşisin verilmiş ve süre sonunda eter anestezi altında sakrifiye edilmişlerdir. Daha

sonra sırasıyla femurdan kemik iliği aspire edilmiş, serum fizyolojik ile yıkanmış, 0.075 M KCl ile muamele edilmiş, Carnoy's ile fikse edilerek, % 5'lik Grünwald-Giemsa boyası ile boyanmıştır (47). Son olarak ise kromozomal hasarlar araştırma mikroskobu altında X100 büyütmede belirlenmiştir (Model BX51, Olympus), X500 büyütmede fotoğraflandırılarak Savage (1976)'nin bildirdiği kriterlere göre sınıflandırılmıştır (48).

Kromatid kırığı: Bir kromozomun iki kromatidinden yalnızca birinde kırık meydana gelmesi olayıdır. Kırılan parça, sağlam olan kardeş kromatidin yanında ve ona çok yakın olarak kalır. Genellikle hücrenin G₁ safhasında meydana gelen bir hasar tipidir.

Kromozom kırığı: Kromozomun her iki kromatidinde de kırık oluşması durumudur. Genellikle hücre G₂ safhasındayken meydana gelmektedir. Kırık sonucunda kromozomlardan biri sentromerli, diğeri ise sentromersiz olmak üzere iki parçaya ayrılır. Bu parçalar ya birleşmeden kalır ve sentromersiz olan parça sonuçta kaybolur ya da kırık uçlardan yeniden birleşirler. Sonuçta kromozomların yapısında değişimler meydana gelmiş olur.

Asentrik: Metafaz evresinde; kırılmış olarak kromozomdan ayrı yerde bulunan ve sentromer içermeyen kromozom parçasıdır.

Disentrik kromozom: İki kromozomun uç kısımlarında kromozom tipi kırık meydana gelmesi sonucunda oluşan, sentromer içeren parçaların tekrar birbirleriyle birleşmeleri sonucunda meydana gelmektedir.

2.6. Hücre Analizi

2.6.1. Mitotik indeks (MI)

Mitotik indeks (MI) her grup için hazırlanan slaytlardan sayılan nukleuslu 1000 hücre arasından, bölünen hücrelerin yüzdesi olarak belirlendi.

2.6.2. Anormal metafaz sayısı (AMS)

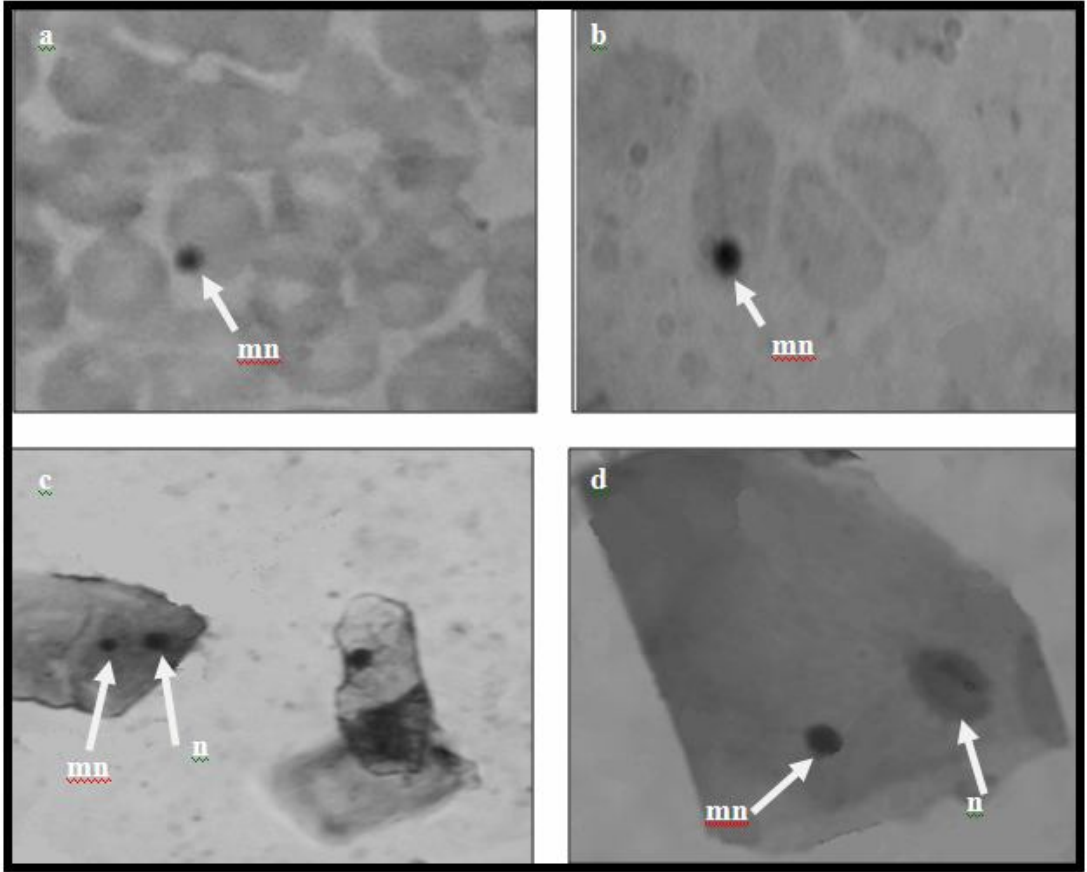
Anormal metafaz sayısı (AMS) her bir grup için hazırlanan slaytlardan sayılan 100 metafaz arasında, hasarlı metafazların sayısı olarak tespit edildi.

2.7. İstatistiksel Analiz

İstatistiksel verilerin analizi için SPSS for Windows V 10.0 (SPSS Inc, Chicago, IL, USA) paket programı kullanıldı. Gruplar arasında istatistiksel farklılıkların değerlendirilmesi için One-way ANOVA ve Duncan testleri kullanıldı. Veriler ortalama \pm SD değerleri olarak verildi ve P değerleri 0.05'den küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edildi.

3. BULGULAR

1,4 Dioksanın Swiss albino farelerin canlı ağırlıkları üzerine etkileri ile eritrosit ve yanak mukoza epitel hücrelerinde teşvik ettiği toksisite ve bu toksisiteye karşı yeşil çay uygulamasının koruyucu rolü Şekil 3.1 ve Tablo 3.1-6'da gösterilmiştir.



Şekil 3.1. Eritrosit (a,b) ve yanak mukozası epitel hücrelerinde (c, d) 1, 4 Dioksan tarafından teşvik edilen mikronukleusların görünümü (X500). mn: mikronukleus, n: temel nukleus.

Tablo 3.1. Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının canlı ağırlık üzerine etkileri

Gruplar	Başlangıç Ağırlık	Son Ağırlık	Ağırlık Artışı (gr)
Grup I	33.03±1.92	52.28±07.40	+19.25 ^a
Grup II	33.80±1.35	54.83±03.80	+21.03 ^a
Grup III	33.86±1.28	56.51±2.24	+22.65 ^a
Grup IV	33.93±1.97	34.97±1.89	+1.04 ^d
Grup V	33.27±1.43	38.05±2.32	+4.78 ^c
Grup VI	33.01±1.92	42.65±9.28	+9.64 ^b

*Grup I: kontrol, Grup II: yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup III: yeşil çay (100 mg/kg c.a), Grup IV: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a), Grup V: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup VI. 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a)+ yeşil çay (100 mg/kg c.a). Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel öne “Duncan” testini takiben “one-way” varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

1,4 Dioksan uygulamasının canlı ağırlık üzerine etkisi Tablo 3.1’de verilmiştir. Tablo’daki sonuçlardan da görüldüğü gibi başlangıç ağırlıkları dikkate alındığında 10. haftanın sonunda en fazla ağırlık artışı kontrol grubu (Grup I) ve yeşil çay uygulanan gruplarda (Grup II ve III) ölçülmüştür. Söz konusu gruplarda sırasıyla 19.25, 21.03 ve 22.65 gr’lık bir ağırlık artışı tespit edilmiştir. Ayrıca bu gruplar arasındaki ağırlık artışının istatistiksel açıdan önemli olmadığı da belirlenmiştir (P>0.05). En az ağırlık artışı ise 720 mg/kg dozunda 1,4 Dioksan uygulanan farelerde (Grup IV) ölçülmüştür. 1,4 Dioksan uygulanan grupta ağırlık kazanımı kontrol grubuna oranla 18.21 gr’lık bir azalış göstermiştir. Bu azalışın istatistiksel açıdan önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). 1,4 Dioksan ile birlikte yeşil çay uygulanması, kontrol grubundaki kadar olmasa da ağırlık kazanımının tekrar artmasına yol açmıştır. Dioksanla birlikte 50 mg/kg dozunda yeşil çay uygulanan grupta 4.78 gr’lık, 100 mg/kg dozunda yeşil çay uygulanan grupta ise 9.64 gr’lık bir ağırlık artışı tespit edilmiştir. Diğer bir ifadeyle yeşil çay dozundaki artış ağırlık kazanımının artmasına neden olmuştur.

Tablo 3.2. Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının eritrosit mikronukleus (MN) sıklığı üzerine etkileri

Gruplar	Hesap edilen hücre sayısı	Minimum (MN)	Maksimum (MN)	Ortalama (MN)
Grup I	1000	0	1	0.33±0.52 ^d
Grup II	1000	0	1	0.17±0.41 ^d
Grup III	1000	0	0	0.00±0.00 ^d
Grup IV	1000	45	72	58.83±10.28 ^a
Grup V	1000	30	49	38.67±7.42 ^b
Grup VI	1000	15	30	22.17±5.53 ^c

*Grup I: kontrol, Grup II: yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup III: yeşil çay (100 mg/kg c.a), Grup IV: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a), Grup V: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup VI. 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (100 mg/kg c.a). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=6). Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Tablo 3.3. Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının yanak mukoza epitel hücrelerinde mikronukleus (MN) sıklığı üzerine etkileri

Gruplar	Hesap edilen hücre sayısı	Minimum (MN)	Maksimum (MN)	Ortalama (MN)
Grup I	1000	0	0	0.00±0.00 ^d
Grup II	1000	0	0	0.00±0.00 ^d
Grup III	1000	0	0	0.00±0.00 ^d
Grup IV	1000	25	46	35.67±7.44 ^a
Grup V	1000	16	40	25.83±8.91 ^b
Grup VI	1000	10	22	16.50±4.60 ^c

*Grup I: kontrol, Grup II: yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup III: yeşil çay (100 mg/kg c.a), Grup IV: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a), Grup V: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup VI. 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay + (100 mg/kg c.a). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=6).

Ortalamlar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütun içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir ($P<0.05$).

1,4 Dioksan uygulamasının eritrosit ve yanak mukoza epitel hücrelerinde teşvik ettiği mikronukleus (MN) varlığı ve sıklığı Şekil 3.1 ile Tablo 3.2 ve 3.3’de verilmiştir. Tablolardaki sonuçlardan da görüldüğü gibi kontrol grubu (Grup I) ve sadece yeşil çay uygulanan grupların (Grup II ve III) yanak mukoza epitel hücrelerinde hiç MN oluşumuna rastlanmazken, eritrosit hücrelerinde ise çok az sayıda MN oluşumuna rastlanılmıştır. Fakat belirlenen MN sayılarının istatistiksel olarak önemli olmadığı belirlenmiştir ($P>0.05$). Gerek eritrosit gerekse de yanak mukoza epitel hücrelerinde en fazla MN oluşumuna 1,4 Dioksan uygulanan grupta (Grup IV) rastlanılmıştır. Bu gruptaki eritrosit hücrelerinde 58.83, yanak mukoza epitel hücrelerinde ise 35.67 oranında MN sayılmıştır. Belirlenen MN sayılarındaki bu artışların diğer gruplar ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli olduğu tespit edilmiştir ($P<0.05$). 1,4 Dioksanla ve yeşil çayın birlikte uygulanması MN sayılarının tekrar azalmasına neden olmuştur. Dioksanla birlikte 50 mg/kg dozunda yeşil çay uygulanan gruptaki (Grup V) farelerin eritrosit hücrelerinde 38.67, yanak mukoza epitel hücrelerinde 25.83 oranında, 100 mg/kg dozunda yeşil çay uygulanan farelerin eritrosit hücrelerinde 22.17, yanak mukoza epitel hücrelerinde ise 16.50 oranında MN’a rastlanılmıştır. Yeşil çay dozlarındaki artış MN sayılarının tekrar azalmasına neden olmuştur. Ayrıca farelerin eritrosit hücrelerinde yanak mukoza epitel hücrelerine göre daha fazla sayıda MN oluşumu belirlenmiştir.

Tablo 3.4. 1,4 Dioksanın teşvik ettiği kromozomal hasar sayılarının yeşil çay uygulaması ile değişimi

Gruplar	Kırık	Asentrik	Disentrik	Gap
Grup I	00.00±00.00 ^d	00.00±00.00 ^c	00.00±00.00 ^c	0.17±0.41 ^c
Grup II	00.00±00.00 ^d	00.00±00.00 ^c	00.00±00.00 ^c	00.00±00.00 ^c
Grup III	00.00±00.00 ^d	00.00±00.00 ^c	00.00±00.00 ^c	0.17±0.41 ^c
Grup IV	37.50±7.56 ^a	17.83±5.49 ^a	6.83±3.76 ^a	3.83±1.94 ^a
Grup V	30.17±6.40 ^b	11.33±5.16 ^b	4.17±2.64 ^b	1.83±1.17 ^b
Grup VI	21.33±7.92 ^c	7.67±5.08 ^b	2.00±1.41 ^b	0.83±0.75 ^c

* Grup I: kontrol, Grup II: yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup III: yeşil çay (100 mg/kg c.a), Grup IV: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a), Grup V: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup VI. 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (100 mg/kg c.a). Veriler ortalama \pm standart sapma (SD) olarak gösterildi (n=6). Kromozomal hasarlar için her hayvan başına 100 hücre, her grupta 6 hayvan bulunduğu için toplamda 600 hücre sayıldı. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

1,4 Dioksanın teşvik ettiği kromozomal hasarlar ile ilgili bulgular Tablo 3.4’de verilmiştir. Yapılan mikroskopik inceleme sonucunda 1,4 Dioksan tarafından teşvik edilen hasarlar fazlalık sırasına göre kromozom kırığı>asentrik kromozom>disentrik kromozom>gap şeklinde belirlenmiştir. Dioksanın kromozomlar üzerine oluşturduğu en büyük etki kırık oluşumuna sebebiyet verme şeklinde olmuştur. Kontrol grubu (Grup I) ve sadece yeşil çay ile muamele edilen gruplarda (Grup II ve III) bir kaç gap hasarı dışında her hangi bir hasara rastlanılmazken, 1,4 Dioksanla muamele edilen grupta (Grup IV) her dört tip kromozomal hasarına da oldukça fazla sayısı da rastlanılmıştır. Kromozomal hasar sayılarındaki bu artışların diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). 1,4 Dioksan ile birlikte yeşil çay uygulaması (Grup V ve VI) kromozomal hasar sayılarının tekrar azalmasına neden olmuştur. Dioksanla birlikte 50 mg/kg dozunda yeşil çay uygulanan grupta 30.17 oranında kırık, 11.33 oranında asentrik, 4.17 oranında disentrik, 1.83 oranında gap hasarı belirlenirken, 100 mg/kg dozunda yeşil çay uygulanan grupta ise 21.33 oranında kırık, 7.67 oranında asentrik, 2.00 oranında disentrik, 0.83 oranında ise gap hasarı tespit edilmiştir. Yeşil çay dozlarındaki artışla birlikte kromozomal hasarlarının oranı oldukça azalırken, bu azalışın V ve VI. gruplarda belirlenen kırık ve gap hasarı için istatistiksel olarak önemli (P<0.05), asentrik ve disentrik hasarları için ise istatistiksel olarak önemli olmadığı (P>0.05) belirlenmiştir.

Tablo 3.5. 1,4 Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının anormal metafaz sayısı (AMS) üzerine etkileri

Gruplar	Minimum (AMS)	Maksimum (AMS)	Ortalama (AMS)
Grup I	0	1	0.17±0.41 ^d
Grup II	0	0	0.00±0.00 ^d
Grup III	0	1	0.17±0.41 ^d
Grup IV	25	35	30.50±3.62 ^a
Grup V	20	30	24.67±3.56 ^b
Grup VI	14	25	18.00±4.05 ^c

* Grup I: kontrol, Grup II: yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup III: yeşil çay (100 mg/kg c.a), Grup IV: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a), Grup V: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup VI. 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (100 mg/kg c.a). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). AMS için her hayvan başına 100 hücre, her grupta 6 hayvan bulunduğu için ise toplamda 600 hücre sayıldı. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem “Duncan” testini takiben “one-way” varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

1,4 Dioksanın teşvik ettiği anormal metafaz (AM) sayıları ile ilgili veriler Tablo 3.5’de verilmiştir. Araştırma mikroskobu ile yapılan gözlemler sonucunda en fazla AM sayısına 1,4 Dioksan ile muamele edilen grupta (Grup IV) en az ise kontrol (Grup I) ve sadece yeşil çay ile muamele edilen gruplarda (Grup V ve VI) rastlanılmıştır. Dioksan uygulanan gruptaki (Grup IV) AM sayılarındaki artışın, diğer gruplarla karşılaştırıldığında istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). 1,4 Dioksanla birlikte yeşil çay uygulaması AM sayısının tekrar azalmasına neden olmuştur. Dioksanla birlikte 50 mg/kg dozunda yeşil çay ile muamele edilen grupta (Grup V) 24.67 oranında, 100 mg/kg dozunda yeşil çay ile muamele edilen grupta ise 18.00 oranında AM sayısı tespit edilmiştir. Uygulanan yeşil çay dozları ile AM sayıları arasında ters bir ilişkinin varlığı saptanmıştır. Yeşil çay dozlarındaki artışla birlikte AM sayıları önemli bir azalma göstermiştir. Ayrıca bu azalmanın istatistiksel olarak önemli olduğu da belirlenmiştir (P<0.05).

Tablo 3.6. 1,4 Dioksan ve yeşil çay uygulamalarının mitotik indeks (MI) üzerine etkileri

Gruplar	Minimum (MI)	Maksimum (MI)	Ortalama (MI)/ (%)
Grup I	778	894	835.00±45.38 ^a (13.92)
Grup II	754	894	817.50±61.25 ^a (13.63)
Grup III	716	877	810.33±73.14 ^a (13.50)
Grup IV	412	471	438.50±23.31 ^d (7.31)
Grup V	476	547	513.83±26.27 ^c (8.56)
Grup VI	536	645	587.50±42.95 ^b (9.79)

* Grup I: kontrol, Grup II: yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup III: yeşil çay (100 mg/kg c.a), Grup IV: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a), Grup V: 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (50 mg/kg c.a), Grup VI. 1,4 Dioksan (720 mg/kg c.a) + yeşil çay (100 mg/kg c.a). Veriler ortalama ± standart sapma (SD) olarak gösterildi (n = 6). MI her hayvan için 1000, her grupta 6 hayvan bulunduğundan ise toplamda 6000 hücre sayılarak yüzde olarak hesaplandı. Ortalamalar arasındaki istatistiksel önem "Duncan" testini takiben "one-way" varyans analizi kullanılarak araştırıldı. Aynı sütün içerisinde farklı harfler ile gösterilen ortalamalar istatistiksel açıdan önemlidir (P<0.05).

Bölünen hücrelerin sayısını gösteren mitotik indeks (MI) ile ilgili veriler Tablo 3.6'da verilmiştir. En yüksek MI değerleri kontrol grubu (Grup I) ve sadece yeşil çay ile muamele edilen gruplarda (Grup II ve III) tespit edilmiştir. Söz konusu gruplarda sırasıyla 835.00, 817.50 ve 810.33 oranında MI indekse rastlanılmıştır. Fakat bu gruplardaki MI sayıları arasında istatistiksel açıdan önemli bir fark belirlenmemiştir (P>0.05). 1,4 Dioksan uygulanan grupta (Grup IV) ise MI kontrol grubuna oranla %6.61 oranında bir azalma göstermiştir. Bu azalışın ise istatistiksel olarak önemli olduğu belirlenmiştir (P<0.05). 1,4 Dioksanla birlikte yeşil çay uygulanan gruplarda (Grup V ve VI) ise MI değerleri tekrar artış eğilimine girmiştir. Söz konusu gruplarda sırasıyla 513.83 ve 587.50 oranında MI değerleri belirlenmiştir.

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Bu çalışmada genotoksisitenin belirteçleri olan vücut ağırlığı, mikronükleus (MN), kromozomal anormallikler (KA) ve mitotik indeks (MI) parametreleri kullanılarak 1,4 Dioksanın albino farelerde muhtemel toksik etkileri araştırılmıştır.

Canlı ağırlık verilerine bakıldığında 10 hafta süresince 1,4 Dioksana maruz kalan grublarda, kontrol grubuna göre ağırlık kazanımında önemli bir azalış tespit edilmiştir. 1,4 Dioksanla birlikte yeşil çay uygulaması ise ağırlık kazanımında kontrol grubu kadar olmasada tekrar bir artışa sebep olmuştur. 1,4 Dioksan ve diğer kimyasal maddelerin canlı ağırlık üzerindeki etkileri diğer araştırmacılar tarafından araştırılmış ve bizim çalışmamızda elde ettiğimiz sonuçlara benzer tarzda sonuçlar elde edilmiştir. Örneğin Kociba ve arkadaşları (1974) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada 2 yıl boyunca oral yolla 1,4 Dioksanın % 0.01 ve 1.0'lik dozlarına maruz kalan ratlarda, en yüksek dozda ağırlık kazanımının yaklaşık %10 oranında azaldığı ve buna bağlı olarak da ölümler meydana geldiğini rapor edilmiştir. Scott ve arkadaşları (1981) tarafından gerçekleştirilen benzer tarzdaki diğer bir çalışmada ise, 10 mg dozunda 1,4 Dioksan uygulanan ratlarda vücut ağırlığının kontrol grubuna göre %32 oranında azaldığı belirlenmiştir. Kano ve arkadaşları (2008) tarafından gerçekleştirilen bir diğer çalışmada ise rat ve farelere Dioksanın 640, 1.600, 4.000, 10.000, 25.000 ppm'lik dozlarıyla 13 hafta süresince oral yolla verilmiş, süre sonunda Dioksanın 1.600, 4.000 ve 10.000 ppm dozlarına maruz kalan ratların vücut ağırlıklarında azalma, farelerin vücut ağırlıklarında ise sadece 25.000 ppm dozunda önemli bir azalış tespit edilmiştir. Sonuç olarak bizim çalışmamızda elde ettiğimiz vücut ağırlığındaki azalışın temel nedeninin, içme suyu ile alınan Dioksanın vücuttan uzaklaştırılması için metabolizmanın hızlanması ve buna bağlı olarak enerji tüketiminin artmasından, ayrıca yeşil çayın sahip olduğu zayıflatıcı etkisinin de bunda rol oynadığı düşünülmektedir.

Kimyasalların genotoksik etkilerinin belirlenmesinde yaygın olarak kullanılan yöntemlerden biri de MN test yöntemidir. MN hücre bölünmesinin metafaz ya da anafaz safhaları sırasında oluşan anormalliklerden kaynaklanmaktadır. Çalışmamızda eritrosit ve yanak mukoza epitel hücrelerindeki MN sıklığıyla ilgili

elde edilen veriler incelendiğinde 1,4 Dioksan uygulamasıyla MN sıklığında kontrol grubuna göre önemli bir artış tespit edilmiştir. 1,4 Dioksanla birlikte yeşil çay uygulaması Dioksanın olumsuz etkisini azaltarak MN sıklığında tekrar bir azalışa sebep olmuştur. MN oluşumu üzerine diğer araştırmacılar tarafından gerçekleştirilen çalışmaların sonuçları bizim çalışma sonuçlarımız ile paralellik göstermektedir. Örneğin Eman Abbas ve arkadaşları (2005) tarafından gerçekleştirilen bir çalışmada kemik iliği MN tekniğini kullanarak Swiss albino farelerde 1,4 Dioksanın 0.57, 2.85 ve 5.7 mg/kg dozlarının MN oluşumu üzerine etkileri araştırılmış, sonuçta 5.7 mg/kg dozundaki Dioksanın fare kemik iliği polieritrosit hücrelerinde MN sıklığını önemli oranda arttırdığı gözlenmiştir. Roy ve arkadaşları (2005) tarafından gerçekleştirilen benzer bir çalışmada ise farelere gavaj yoluyla 1.500, 2.500 ve 3.500 mg/kg dozlarında 1.4 Dioksan verilmiş, sonuçta oral 1,4 Dioksan uygulanan farelerin eritrosit hücrelerinde MN sıklığında artış tespit edilmiş ve bu artışların %90'nun kromozom kırıklarından, %10'nun ise kromozom kayıplarından oluştuğunu saptanmıştır. Daha benzer pek çok çalışmada, farklı kimyasal ajanların iğ iplikleri, kromozom ve mitotik aygıt üzerinde hasarlara sebep olarak MN oluşumunu tetiklediği rapor edilmiştir (54). Özellikle, iğ ipliklerinin oluşumunun engellenmesinin kromozomlarda yapışkanlık, eşit olmayan kromatin dağılımı, çok kutuplu anafaz, kromozom köprüleri ve mitozda geri kalma gibi çeşitli anormalliklere yol açtığı belirlenmiştir (55). Çalışmamızda da kullanılan 1,4 Dioksanın iğ iplikleri ya da kromozomlar üzerinde hasara neden olmak suretiyle MN oluşumunu tetiklediği düşünülmüştür.

Kimyasalların genotoksitesini test etmek için kullanılan bir başka yöntem ise kromozom anormallik (KA) testidir. KA ile ilgili verilere bakıldığında 1,4 Dioksan uygulamasının kırık, asentrik, disentrik ve gap gibi kromozomal hasarları teşvik ettiği, 1,4 Dioksanla birlikte yeşil çay uygulamasının ise söz konusu hasarların oranında tekrar önemli bir azalmaya sebep olduğu belirlenmiştir. Benzer şekilde 1,4 Dioksan uygulaması anormal metafaz sayılarında artışa, MI değerlerinde ise bir azalışa sebep olmuştur. Dioksanla birlikte yeşil çay uygulaması Dioksanın sebep olduğu olumsuz etkileri azaltarak, MI değerlerinde tekrar bir artışa, anormal metafaz sayılarında ise bir azalmaya sebep olmuştur. Gerek 1,4 Dioksan gerekse de diğer kimyasal maddelerin KA, MI ve anormal metafaz sayıları üzerindeki etkileri

konusunda diğ er araştırmacılar tarafından benzer tarzda bazı çalışmalar yapılmıştır. Örneğ in Dioksan üretim sektöründe çalışanlar üzerinde yapılan bir araştırmada 0.006 ve 13 ppm dozlarında Dioksana 25 yıl süresince maruz kalma sonucunda kan lenfosit hücrelerinde kromozomal hasarların sayısında artış tespit edilmiştir. Abe ve Sasaki (1977) kültür edilmiş *Chinese hamster* hücrelerini 30 farklı kimyasala maruz bırakmışlar ve bunlardan özellikle potassium sorbate ve sodium benzoate'nin kromozomal hasarları artırdığını rapor etmişlerdir. Meng ve Zhang (1994) tarafından *in vitro* koşullarda farklı konsantrasyonlarda sodyum bisülfite maruz bırakılmış insan periferel lenfositlerinde kromozomal hasarlar, MN ve mitotik aktivite incelemeleri yapılmış, sodyum bisülfite'in insan periferel lenfositlerinde kromozom hasarları ve MN sıklığını doza bağlı olarak arttırdığı, mitotik aktiviteyi ise doza bağlı olarak düşürdüğü gözlenmiştir. Rencüzoğulları ve arkadaşları (2001b) tarafından yapılan bir başka çalışmada insan periferel lenfositlerinde sodyum metabisülfite'in KA ve kardeş kromatid değişimlerini arttırdığı, replikasyon indeksi ve MI ise düşürdüğünü tespit edilmiştir. Meng ve Zhang (2002) tarafından gerç ekleştirilen bir diğ er çalışmada ise farklı dozlardaki sülfür dioksit'in fare kemik iliği hücrelerinde kromatid ve kromozom tipi kırıkların oranını arttırdığı, MI oranını ise azalttığı belirlenmiştir.

Bu çalışmada kullanılan yeşil çayın Dioksanın teşvik ettiği hasarlara karşı söz konusu koruyucu rolünün onun sahip olduğu antioksidan özelliğinin bir sonucu olduğu düşünölmektedir. Zira diğ er araştırmacılar tarafındanda bu konuda yapılmış pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğ in Yang ve arkadaşları (2003) tarafından gerç ekleştirilen çalışmada bir yıldan fazla sürede günde 120 ml yeşil çay veya oolong çayı tüketen kişilerde hipertansiyon riskinin önemli oranda azaldığı rapor edilmiştir. Stensvold ve arkadaşları (1992) tarafından gerç ekleştirilen bir başka çalışmada, herhangi bir kardiyovasköler ve diyabetik hastalığı olmayan 35-49 yaş aralığında, 9.856 erkek ve 10.233 kadın üzerinde yapılan çalışmada çay, kolesterol ve sistolik kan basıncı arasındaki ilişki araştırılmış, sonuçta çay tüketimi arttıka ortalama serum kolesterol düzeyinin düştüğü, ayrıca sistolik kan basıncı ile çay arasında ise negatif bir ilişkinin olduğu belirlenmiştir (61). Benzer bir çalışmada ise kadınlarda çay tüketiminin artışıyla, bel-kalça oranı, total kolesterol, serum trigliserid ve açlık kan şekeri düzeylerinin azaldığı rapor edilmiştir (62).Yeşil çayın gastrointestinal sistemde intrasellöler antioksidanları aktive, prokarsinojen

oluşumunu inhibe, anjiyogenezisi ve kanser hücre çoğalmasını ise baskıladığı ifade edilmiştir. Ayrıca diğ çürümelerini önlediğı, kolestrol seviyesini düşürdüğü gastrointestinal sistemde lipitleri absorbe ederek bireyleri kardiyovasküler hastalıklardan koruduğı belirtilmiştir (63). Şeker hastası sıçanlarda yapılan çalışmalarda, oral olarak verilen yeşil çayın serum glukoz toleransını azalttığı gösterilmiştir (35). Çay tüketimi ile kanser tipleri arasındaki ilişkide farklı araştırmacılar tarafından ele alınmıştır. *In-vitro* olarak yapılan çalışmalarda, çayın içeriğinde bulunan epigallokateşin-3-gallo (EGCG) ve theaflavin bileşenlerinin antioksidan aktiviteye sahip oldukları gösterilmiştir. Çalışmaların birçoğı çayın bileşimindeki EGCG, diğ erleri ise theaflavin bileşigi üzerinde yoğunlaşmıştır. Sözü edilen bu iki bileşenin değışik kanser hücrelerinin büyümesini ve çoğalmasını engellediğı rapor edilmiştir (64). Örneğ in Doss ve arkadaşları (2005) yeşil çay tüketiminin boğaz, prostat ve göğüs kanserleri için koruyucu bir etki sağladığını bildirmişlerdir. Bu koruyucu etkinin çayın içeriğinde yer alan polifenolden kaynaklandığı düşünölmüş, ancak moleküler düzeyde bunun etki mekanizması henüz tam olarak açıklanamamıştır. Ayrıca son yıllarda gerçekleştirilen bazı çalışmalarda, çayın yaşlanmayı geciktirici özelliklerinin olduğ unuda rapor etmişlerdir. Hasson ve arkadaşları (1993) tarafından yapılan bir çalışmada yeşil çay ekstratının kemik iliğinde aflatoksin B1'in teşvik ettiğı kromozom hasarlarını inhibe ettiğı rapor edilmiştir. Kanadzu ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan benzer tarzdaki bir diğ er çalışmada, *in-vitro* sağlıklı insan lefositlerinde düşük doz EGCG'in mutajenler tarafından teşvik edilen DNA sarmal kırıklarını önlediğı belirlenmiştir.

Sonuç olarak günlük yaşamımızda kullandığımız pek çok ürünün yapısında yer alan 1,4 Dioksanın, belirli bir yoğunluğa ulaştığında fizyolojik ve genotoksik pek çok etkilere sebep olduğ u, yeşil çay uygulamasının ise 1,4 Dioksanın neden olduğ u bu olumsuz etkileri azaltarak doku, hücre ve moleküler düzeyde iyileşmeleri teşvik ettiğı belirlenmiştir. Bu nedenle yeşil çayın bu koruyucu rolü yakın gelecekte kimyasalların neden olduğ u toksisitenin etkilerinin azaltılmasında "toksisite sınırlayıcı" bir antioksidan olarak kullanılabilir

KAYNAKLAR

1. NTP (National Toxicology Program)., 2005. 1,4 Dioxane. 11th Report on Carcinogens. Department of Health and Human Service.
2. HSDB (Hazardous Substance Data Bank)., 2007. 1,4 Dioxane summary. MEDLARS on line information retrieval system, *National Library of Medicine*, USA.
3. Hawley, G.G., Lewis R.J Sr., 2001. *Hawley's Condensed Chemical Dictionary*. New York, NY: John Wiley & Sons, Inc.
4. ToxFAQs for 1,4 Dioxane. Agency for Toxic Substances and Disease Registry (ATSDR).
5. Atlanta, GA. September., 2007. At: <http://www.atsdr.cdc.gov/tfacts187.html>.
6. *Threshold Limit Values and Biological Exposure Indices*, 5th ed. 1986. Cincinnati, OH:
7. Casarett and Doull's *Toxicology*., 2001. *The Basic Science of Poisons*, Sixth Edition. Klaassen, C.D., ed. McGraw Hill Publishing Co., Inc., New York.
8. Tanabe, A., Kawata, K., 2008. Determination of 1,4-dioxane in household detergents and cleaners. *J AOAC Int* 91:439-444.
9. Rani, S., Seller, S. , Daniel, M. , Bindhu, M. , Nigel R. , Julle, K. J., Barry, L. Y., Rick, P. , Ken, S., 2007. Society of Toxicologic Pathology Position Paper: OrganWeight Recommendations for Toxicology Studies. *Toxicologic Pathology*, 35:751–755.
10. M, Morley A.A., 1986. Cytokinesis-blocked micronucleus method in human lymphocytes: effect of in-vivo aging and low dose Xirradiation. *Mutation Research*. 161:193-198.
11. Pala, S.F., Akkaya, F., Tabakçioğlu, K., Tokatlı, F., Uzal, C., Parlar, Ő., AlgüneŐ, Ç., 2008. Tüm Kromozom TaŐıyan Mikronukleusların Biyolojik Doz Değerlendirmelerindeki Etkisi, *Turkish Journal of Biology*, 32 283-290c TUBİTAK.

12. Cavuşoğlu, K., Yapar, K., Yalcın, E., 2009. Royal Jelly (Honey Bee) Is a Potensial Antioxidant Against Cadmium-Induced Genotoxicity and Oxidative Stress İn Albino Mice. *Journal of Medicinal Food*, 12(6): 1286-1292.
13. Eroğlu, H.E., 2004. Mesane Kanserli Hastaların Doku ÖrneKlerinde Propolis ve Mitomisin-C'nin Mikronükleus, Kardeş Kromatid Değişimi, Kromozom Analizi ve Mitotik İndeks Parametrelerine Etkisinin Karşılaştırılması. Erciyes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 89, Kayseri.
14. Fenech, M., Morley, A.A., 1985. Measurement of Micronuclei in lymphocytes. *Mutation Research*, 147, 29-36.
15. Yıldırım, Ayşin., Yıldırım, M.Selman., 2011. Matbaa Sanayinde Çalışan İşçilerin Bukkal Mukoza Hücrelerinde Mikronükleus ve Binükleotid Sıklığının Belirlenmesi. *Tıp Araştırma Dergisi*, 9(1): 25-28.
16. EEC., 1984, "Directive 79/831 Part B: Methods for the determination of toxicity. B.12. Other effects, Mutagenicity, Micronucleus test" L251, 137-139.
17. Coşkun M, Coşkun M., 2003. Biological dosimeter and related developments. *Cerrahpaşa Journal of Medicine*, 34: 207-218.
18. Fenech, M., Holland, N., Chang, W.P., Zeiger, E., Bonassi, S., 1999. The Human Micronucleus Project-An international collaborative study on the use of themicronucleus technique for measuring DNA damage in humans. *Mutation Research*, 428, 271-283.
19. Brusick, D., 1987. Principles of Genetic Toxicology, second ed., Plenum Pres, NY, London.
20. Mateuca, R., Lombaert, N., Aka P.V., Decordier I, Kirsch-Volders M., 2006. Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimistry*, 88(11):1515-31.
21. Akıcı, N., 2008. Sigara Dumanına Maruz Kalan Pasif İçici Durumundaki Çocuklarda DNA Hasarının Araştırılması. Uzmanlık Tezi.
22. Bilge, E., Kuru, M., Gözükara, S.E., 2001. *Genetik*. Palme Yayıncılık, Ankara, 360 s. 1981, *Genetik*, Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul.

23. Göç Rastgele, P., 2008. Delvosid'in Mus musculus Üzerine Toksik Etkisi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi.
24. Demir, A., 2011. Siyah Ve Yeşil Çay İle Atıklarının Antioksidan Özelliklerinin Karşılaştırılması. Rize Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, pp. 92, Rize.
25. Henning, S.M., Fajardo- Lira, C., Lee, H., Youssefian, A.A., Go, V.L.W., Heber, D., 2003. Catechin content of 18 teas and a green tea extract supplement correlates with antioxidant capacity. *Nutrition and Cancer*, 45; 226- 235, 11; 521-528, 2005.
26. McKay, D.L., Blumberg J.B., 2002. The role of tea in human health: An update. *Journal of the American College Nutrition*, 21:1-13.
27. Sumpio, B.A., Cordova, A.C., Berke-Schlessel, D.W., Qin, F., Chen, Q.H., 2006. Green tea,the “Asian paradox”, and the cardiovascular disease. *Journal of American College of Surgeons*, 202; 813-825
28. Vinson, J.A., Teufel, K., Wu, N., 2004. Green and black teas inhibit atherosclerosis by lipid,antioxidant, and fibrinolytic mechanisms. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 52; 3661-3665,
29. Yang, C.S., Landau, J.M., 2000. Effects of tea consumption on nutrition and health. *Journal of Nutrition*, 130; 2409-2412.
30. Katiyar, S.K and Muhtar, H., 1997. Tea Antioxidants in Cancer Chemoprevention. *Journal Cellular Biochemical*, 27:59-67.
31. Benzio, I.F.F., Szeto, Y.T., 1999. Total Antioxidant Capacity of Teas By The Ferric Reducing/Antioksidant Power Assay. *Journal Agricultural and Food Chemical*, 64: 633-636.
32. Tosun, İ., Karadeniz, B., 2005. Çay ve Çay Fenoliklerinin Antioksidan Aktivitesi. *OMÜ Ziraat Fakültesi Dergisi*, 20(1):78-83.
33. Sarıca, Ş., Karataş, Ü., Diktaş, M., 2008. Çay (Camellia sinensis); İçeriği, Metabolizma ve Etkileri, Antioksidan Aktivitesi ve Etlik Piliç Karma Yemlerinde Kullanımı. *GOÜ. Ziraat Fakültesi Dergisi*, 25(2), 79-85.
34. Kinsella, J.E., Frankel, E., German, B., Kanner, J., 1993. Possible Mechanisms for the Protective Role of Antioxidants in Wine and Plant Foods. *Food Technology*, April, 85-89.

35. Zhishen, J., Mengcheng, T., and Jianming, W., 1999. The determination of flavonoid contents in mulberry and their scavenging effects on superoxide radicals. *Food Chemical*, 64: 555-559.
36. Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K., 2000b. Tea Flavonoids: Their Functions, Utilisation and Analysis. *Trends in Food Science Technology*, 11: 152-160.
37. Wang, H., Provan, G.J., Helliwell, K., 2000b. Tea Flavonoids: Their Functions, Utilisation and Analysis. *Trends in Food Science Technology*, 11: 152-160.
38. Li, C., Xie, B., 2000. Evaluation of the Antioxidant and Pro-oxidant Effects of Tea oxypolymers. *Journal Agriculture Food Chemical*, 48: 6362-6366.
39. Li, C., Xie, B., 2000. Evaluation of the Antioxidant and Pro-oxidant Effects of Tea oxypolymers. *Journal of Agriculture Food Chemical*, 48: 6362-6366.
40. Langley-Evans, S.C., 2000. Consumption of black tea elicits an increase in plasma antioxidant potential in humans. *International Journal of Food Science and Nutrition*, 51; 309-315.
41. Dillard, C.J., German, J.B., 2000. Phytochemicals: Nutraceuticals and Human Health. *Journal Science Food Agriculture*, 80:1744-1756.
42. Manzocco, L., Anese, M., Nicoli, M.C., 1998. Antioxidant Properties of Tea Extracts as Affected by Processing. *Lebensm.-Wiss. u.-Technology*, 31: 694-698.
43. Te-Hsiu, M.A, Zhou, X., Loarco, G.F., Arreola, G.G., Lecona, S.U., 1995. Mouse–erythrocyte micronucleus (MUS-EMN) assay on the clastogenicity of industrial wastewater, *Revista Internacional de Contaminacion Ambiental*. 11:95–98.
44. Titenko-Holland, N., Windham, G., Kolachana, P., Reinisch, F., Parvatham, S., Osorio, AM., Smith, MT., 1997. Genotoxicity of malathion in human lymphocytes assessed using the micronucleus assay *in vitro* and *in vivo*: a study of malathion-exposed workers. *Mutation Research*, 388:85–95.

45. Özkul, Y., Dönmez, H., Erenmemişoğlu, A., Demirtas, H., İmamoğlu, N., 1997. Induction of micronuclei by smokeless tobacco on buccal mucosa cells of habitual users. *Mutagenesis*, 12: 285–287.
46. Fenench, M., Chang, W.P., Kirsch-Volders, M., Holland, N., Bonassi, S., Zeiger, E., 2003. Human micronucleus project. HUMN project: detailed description of the scoring criteria for the cytokinesis-block micronucleus assay using isolated human lymphocyte cultures. *Mutation Research*, 534: 65–75.
47. Beyersmann, D., Hechtenberg, S., 1997. Cadmium, gene regulation, and cellular signaling in mammalian cells. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 144:247–261.
48. Savage, J.R., 1976. Classification and relationships of induced chromosomal structural changes. *Journal of Medical Genetics*, 13:103–122.
49. Kociba, R.J., 1974. Chronic toxicity study of dioxane in the drinking water of Sherman rats. Midland, MI: Dow Chemical Company.
50. Stott, W.T., Quast, J.F., Watanabe, P.G., 1981. Differentiation of the mechanisms of oncogenicity of 1,4-dioxane and 1,3-hexachlorobutadiene in the rat. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 60:287-300.
51. Kano, H., Umeda, Y., Saito, M., Senoh, H., Ohbayashi, H., Aiso, S., 2008. Thirteen-week oral toxicity of 1,4 dioxane in rats and mice. *Journal Toxicology Sciences*, 33(2): 141-153.
52. Eman, Abbas, M., Ola Hassan E.H. 2005. Genotoxicity of 1,4 Dioxane in Mouse Bone Marrow: I. Effect on the Micronucleus Assay. *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)* Vol. 6 No. 2, 1426.
53. Roy, S.K., Thilagar, A.K., Eastmond, D.A., 2005. Chromosome breakage is primarily responsible for the micronuclei induced by 1,4-dioxane in the bone marrow and liver of young CD-1 mice. *Mutation Research*, 586: 28-37.
54. İnceer , H., Ayaz, S., Beyazoğlu, O., Şentürk, E., 2003. Cytogenetic effects of copper chloride on the root tip cells of *Helianthus annuus* L. *Turkish Journal of Biology*, 27, 43–46.
55. Kark P., 1979. In *Handbook of Clinical Neurology*. Elsevier. Clinical and neurochemical aspects of inorganic mercury intoxication. pp. 147–197.

56. Abe, S., Sasaki, M., 1977. Chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in Chinese hamster cells exposed to various chemicals. *Journal National Cancer Institute*, 58(6), 1635-1641.
57. Meng, Z., Zhang, L., 1994. Chromosomal aberrations, sister chromatid exchanges and micronuclei induced in human lymphocytes by sodium bisulfite (sulfur dioxide). *I Chuan Hsueh Pao*, 21(1), 1-6.
58. Rencüzoğulları, E., İla, H.B., Kayraldız, A., Topaktaş, M., 2001b. Chromosome aberrations and sister chromatid exchange in cultured human lymphocytes treated with sodium metabisulfite, a food preservative. *Mutation Research*, 490, 107-112.
59. Meng, Z., Zhang, B., 2002. Induction effects of sulfur dioxide inhalation on chromosomal aberrations in mouse bone marrow cells. *Zhonghua Yu Fang Yi Xue Za Zhi*. 36(4), 229-231.
60. Yang, Y.C., Lu, F.H., Wu, J.S., WU, C.H., Chang, C.J., 2003. The protective effect of habitual tea consumption on hypertension. *Archives of International Medicine*, 164:1534-40.
61. Stensvold I, Tverdal A, Solvoll K, Foss OP. 1992, Tea consumption. Relationship to cholesterol, blood pressure, and coronary and total mortality. *Preventive Medicine*, 21:546-53.
62. Mennen, L.I., Malvy, D., Galan, P., 2003. Tea consumption and cardiovascular risk in the SU.VI.MAX Study: Are life-style factors important? *Nutrition Research*, 23:879-90.
63. Koo, M.W.L., and Cho, C.H., 2004. Pharmacological Effects of Green Tea on the Gastrointestinal System. 500: 177-185.
64. Yang, C.S., Maliakal, P., Meng, X., 2002. Inhibition of carcinogenesis by tea. *Annual Review Pharmacology Toxicology*, 42:25-54 .
65. Doss, M.X., Potta, S.P., Hescheler, J., Sachinidis, A., 2005. Trapping of growth factors by catechins: A possible therapeutical target for prevention of proliferative diseases. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 16:259-66.
66. Hasson, L.E., Nyren, O., Lissowska, J., 1993. Diet and risk of gastric cancer. A population-based case control study in Sweden. *International Journal of Cancer*, 55, 181-189.

67. Kanadzu, M., Lu, Y., Moritomo, K., 2005. Dual function of (-) – epigallocatechin gallate (EGCG) in healthy human lymphocytes. *Cancer Letters*, 241(2), 1-6.

ÖZGEÇMİŞ

1987 Yılında TRABZON'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Trabzon'da tamamladı. 2005 yılında girdiği Karadeniz Teknik Üniversitesi Giresun Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden Temmuz 2009'da mezun oldu. 2010 yılında girdiği Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek-Lisans programından Haziran 2012'de mezun oldu.