

## Uyarılmış Oksidatif Stres Koşullarında Sodyum Hümatın Gen Koruyucu Etkisi

Shkarupaa, IR Barlyaka, † VN, Neumerzitskayaa, Radyasyon ve Tıbbi Genetik Merkezi,  
<sup>a</sup>Ukrayna Tıp Bilimleri Akademisi ul. Melnikova 53, Kiev, 040050 Ukrayna Ukrayna  
Ulusal Biyolojik Kaynaklar ve Çevre Yönetimi Üniversitesi ul.  
<sup>b</sup>Geroyiv Oborony 15, Kiev, 03041 Ukrayna e-posta: Ineum@bigmir.net 26 Kasım  
2008'de alındı

**Özet** Sodyum humatın 50 ile 1000 mg/l konsantrasyon aralığında dioksidin kaynaklı klastojenik etki düzeyini azalttığı gösterilmiştir; prooksidan özelliklere sahip bir mutajen olan dioksidin 20 mg/l konsantrasyonunda kullanıldı. Maksimum etki 300 mg/l konsantrasyonda gözlemlendi. Sodyum humatın etkisi altında hiçbir doğrudan doz-tepki bağımlılığı bulunmadı. Sodyum humatın koruyucu etkisinin uygulanabilir antioksidan ve desmutajenik mekanizmaları tartışılmıştır.

DOI: 10.3103/S0095452710010081

†

GİRİŞ

MATERYAL VE METODLAR

Deneysel ve epidemiyolojik gözlemlerin sonuçları, uyarılmış mutasyonların artan kalıtsal, doğuştan ve onkolojik patolojiye yol açtığını göstermektedir [1, 2]. Günümüzde, mutajenlerin yayılmasının izlenmesine ve mutajenlerle teması sınırlayan önlemlere rağmen, insanlar üzerindeki mutajenik etkiden kaçınmak pratik olarak imkansızdır. Bu nedenle, indüklenmiş mutajenezin önleyici tedavisinin yollarını aramak son derece acil hale gelmiştir. Bu araştırma, mutajenleri doğal ve sentetik bileşiklerle değiştirme olasılıklarının incelenmesine dayanmaktadır.

Hümat bileşiklerinin yüksek fizyolojik aktivitesi, uygulanabilir gen koruyucu özelliklerinin incelenmesine olan ilgiyi şart koşmuştur. Hümat bileşiklerinin bir etkisinin, radyoaktif radyasyonun mutajenesini, pestisitleri, alkile edici ajanları ve kirli toprakların toplam mutajenik aktivitesini azaltma olasılığı olduğu gösterilmiştir [3-7]. Aynı zamanda, hümatların gen toksisitesi ve ayrıca prooksidan süreçlerin hümat aktivasyonu hakkında veriler vardır. Hümatların bir polifenol yapısına sahip olduğu dikkate alındığında, diğer fenol mutajenlerinin aktivitesine benzer aktivite, özellikle antioksidan aktivite beklenebilir [8].

Çalışmamızın amacı, yüksek konsantrasyonlarda sodyum humatın, *Allium cepa* L. apikal meristem hücrelerinde prooksidan mutajen dioksidin tarafından indüklenen klastojenik etkilerin sıklığı üzerindeki etkisini araştırmaktır.

† Merhum.

*Allium cepa* L. akrospirlerinden apikal meristem hücreleri test sistemi olarak kullanıldı (deney sırasında tohum yaşı 14 aydı). Deneyde 50, 100, 300, 500 ve 1000 mg/l konsantrasyonlarda sodyum hümat çözeltileri kullanıldı. Oksidatif stres, 20 mg/l konsantrasyonda prooksidan mutajen dioksidin kullanılarak indüklendi. 50 mg/l'lik bir sodyum humat konsantrasyonu fizyolojik olarak aktiftir; Bu konsantrasyonda büyüme süreçlerinin aktivasyonu ve mitotik aktivitede artış gözlenir. Çoğu yayında, dioksidinin mutajenik özellikleri tam olarak bu konsantrasyonda gözlenmiştir [3, 5-7]; bu nedenle, 50 mg/l'den yüksek olan konsantrasyonları yüksek sodyum humat konsantrasyonları olarak tanımladık.

Etkili mutajen konsantrasyonunu, bir *Allium* testinde [9] dioksidinin mutajenite çalışmasının sonuçlarına dayanarak seçtik. Tohumlar, 72 saat boyunca 25°C'de dioksidin çözeltileri ile ıslatılmış filtreler üzerindeki Petri kaplarında büyütüldü. Kontrol tohumları, aynı koşullar altında, ancak damıtılmış su ile ıslatılmış filtreler üzerinde büyütüldü. 4-9 mm uzunluğundaki kökler, Clarke fiksatifine yerleştirildi ve kök meristemeyen hücreler, anafaz yöntemi kullanılarak ara slaytlarda analiz edildi; slaytlar asetik orsein [10] ile boyandı. Klastojenik etkiler, anormal anafazların sıklığı (FAA, %) ile tahmin edilmiştir; mitotik indeksi de (MI, %) dikkate aldık.

Sodyum humat aktivitesinin etkinliği, aşağıdakileri karakterize eden indirgeme faktörü (RF) ile tahmin edilmiştir:

Sodyum humat ve dioksidinin, *Allium cepa* L. akrospirlerinden kök meristem hücrelerinde sitogenetik indeksler üzerindeki etkisi.

Dioksidin, mg/l	Sodyum humat, mg/l	Analiz edilen anatelofaz sayısı, n	FAA	BEN	RF
			%		
0	0	1330	2,18 ± 0,40	9,51 ± 0,78	-
0	50	1815	2,42 ± 0,36	11,94 ± 1,21*	-
0	100	1157	2,07 ± 0,42	11,28 ± 1,04	-
0	300	1758	2,62 ± 0,38	15,63 ± 2,36*	-
0	500	1390	3,23 ± 0,47	13,63 ± 1,9*	-
0	1000	1641	2,81 ± 0,41	12,13 ± 0,97*	-
20	0	1166	22,21 ± 1,22	7,35 ± 0,92	-
20	50	1206	9,70 ± 0,85**	8,94 ± 0,77	56.33
20	100	1032	11,04 ± 0,98**	8,83 ± 0,98	50.29
20	300	1790	8,04 ± 0,64**	9,53 ± 1,10*	63.80
20	500	1312	9,14 ± 0,80**	9,27 ± 0,84*	58.85
20	1000	1110	8,11 ± 0,82**	10,2 ± 1,03*	63.49

\* P < 0.05; \*\*P < 0.01.

bir değiştiricinin etkisi altında kimyasal mutagenizin inhibisyon derecesi:

$$RF = \frac{M}{AM + M} \% 100,$$

burada M, bir mutajen tarafından indüklenen anatelofazların frekansdır ve AM + M, bir mutajen ve bir değiştiricinin birleşik etkisi altındaki anormal anafazların frekansdır.

#### SONUÇLAR VE TARTIşMA

Deneylerin sonuçları tabloda verilmiştir. 50–1000 mg/l konsantrasyon aralığında sodyum humatın etkisi altında, dioksidin mutajenitesinde istatistiksel olarak anlamlı bir azalmanın gözleendiği gösterilmiştir. Minimum ve maksimum sodyum humat konsantrasyonları arasındaki 20 kat farka rağmen, dioksidin mutajenitesi üzerindeki azaltıcı etki neredeyse aynı seviyedeydi: 2,01 ila 2,76 kat; bu, test edilen aralıkta doğrudan doz yanıtı bağımlılığının olmadığını gösterir.

Dioksidin, sodyum humatın etkisi altında neredeyse kontrol seviyesine geri dönen mitotik aktiviteyi inhibe eder. Yalnızca 1000 mg/l konsantrasyonda sodyum humat ile dioksidine birlikte maruz kalma durumunda, kontrol MI değerini aşan bir MI değeri gözleendi. Bu, dioksidinin mitotoksik etkisi altında sodyum humatın *Allium cepa* L.'deki hücre bölünme süreçleri üzerindeki uyarıcı etkisini savunur; Bu koşullar altında MI değerleri, tohumların yalnızca sodyum humata maruz kalması durumunda mitotik aktivite düzeyine ulaşmasa da, bu düzey kontrol düzeyine göre daha yüksektir.

Sodyum humatın etkisi altında dioksidinin mutajenitesindeki azalma, mümkün olduğunu gösterir.

sodyum humatın koruyucu etkisinin antioksidan mekanizması. Doğrudan doza-tepki bağımlılığı ortaya çıkarılmamış olsa da, 300 mg/l'lik sodyum humat konsantrasyonundaki RF muhtemelen daha düşük konsantrasyonlara kıyasla daha yüksekti. 300 mg/l'nin üzerindeki konsantrasyonlarda, RF indeksi biraz azaldı; yine de fizyolojik olarak aktif sodyum humat konsantrasyonunun (50 mg/l) etkisi altındakinden daha yüksekti. Bu nedenle, bu yüksek konsantrasyonlarda sodyum humatın desmutajenik etkisinin mümkün olabileceği göz ardı edilmemiştir. Bu desmutajenik etki, koruyucu etkiye ek bir bileşen getiren sodyum humat molekülleri ile dioksidin molekülleri arasındaki etkileşimin bir sonucu olabilir. Yukarıda belirtilen sonuçlar dikkate alındığında, sodyum humatın ortaya çıkan etkisini gen koruyucu bir etki olarak tanımlamak mantıklıdır.

#### SONUÇLAR

50–1000 mg/l konsantrasyon aralığındaki sodyum humatın, *Allium cepa* L' nin apikal meristem hücrelerinde bir prooksidan dioksidin tarafından indüklenen mutajenitede 2,01 ila 2,76 kat azalmaya neden olduğu gösterilmiştir. 300 mg/l konsantrasyon. Dioksidinin mitotoksik etkisinin arka planında, sodyum humat hücre bölünmesi üzerinde uyarıcı bir etki gösterir. Dioksidin kaynaklı oksidatif stres altında bir sodyum humat konsantrasyonu ile bunun gen koruyucu etkisi arasında hiçbir doğrudan doz-tepki bağımlılığı bulunmadı; bu, sodyum humat koruyucu etkisinin bir antioksidan mekanizması olasılığını gösterir. Fizyolojik olarak aktif sodyum humata kıyasla 300 ve 1000 mg/l konsantrasyonlarda indirgeme faktörünün istatistiksel olarak önemli ölçüde daha yüksek değeri

konsantrasyon, gen koruyucu aktivitesinin desmutajenik bileşeninin varlığından da kaynaklanabilir.

praktika ikh primeneniya (Hüyük Gübre: Kullanımlarına İlişkin Teori ve Uygulama), Dnepropetrovsk, 1973, cilt. 4, s. 94-97.

#### REFERANSLAR

1. Bochkov, NP ve Chebotarev, AN, Nasledstvennost' cheloveka i mutageny vneshnei sredy (İnsan Kalıtımı ve Çevresel Mutajenler), Moskova: Meditsina, 1989.
2. Durnev, AD, İnsan Hücrelerinde Mutasyon Sürecinin Modifikasyonu, Vestn. Ross. Akad. Med. Nauk, 2001, hayır. 10, s. 70-76.
3. Gorovaya, AI, Orlov, DS ve Shcherbenko, OV, Guminovye veshchestva (Hüyük Maddeler), Kiev, 1995.
4. Gorova, AI ve Pavlichenko, AV, Hüyük Maddeler Kullanılarak Zhelty Vody Kasabası Bölgesindeki Topraklarda Toxi komütajenik Aktivitede Azalma, Radyobiyojik Etkiler: Riskler, Minimizasyon, Tahminler, Proc. Int. Conf., 22-24 Mart 2005), Kiev, 2005, s. 120-121.
5. Mikhailov, OF ve Korytova, AI, Guminovye udobreniya'da Sodyum Hüyük ve Penisilin Bezelye Tohumları Üzerinde Koruyucu ve Antimutajenik Etkileri . teori i
6. Shkarupa, VN, Barilyak, IR ve Neumer zhitskaya, LV, Characteristics of Involvement of Humic Acids in Antimutagenic Processes, in Problems of Ecological and Medical Genetics and Clinical immunology: Collected Papers), Kyiv, 2001, sayı 5 (37) ), s. 47-62.
7. Shkarupa, VN, Neumerzhits'ka, LV ve Barilyak, IR, Allium sepa L. Kök Meristem Hücrelerinde Tiyofozamid Tarafından Uyarılan Kromozomal Lezyonların Düzeyinde Sodyum Hüyük Etkisi . Tahminler, Proc. Int. Conf., 22-24 Mart 2005), Kiev, 2005, s. 38-39.
8. Durnev, AD ve Seredenin, SB, Genetik Makine Koruma Aracı Olarak Antioksidanlar, Khim. Çiftlik. Zh., 1990, cilt. 24, hayır. 2, s. 92-100.
9. Shkarupa, VN ve Barilyak, IR, AlliumBased Testlerde DioxinInduced Mutagenesis , Tsitol . Genet., 2006, no. 5, cilt 40, s. 31-36.
10. Pausheva, ZP, Praktikum po tsitologii rastenii (Bitki Sitolojisinde Pratik Bir Kurs), Moskova: Agropromiz dat, 1988.