

33452

T.C.
DICLE ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

2,4-D'NİN İNSAN KROMOZOMLARI ÜZERİNE İNVİTRO ETKİSİ

Ayşegül BENGİSU

YÜKSEK LİSANS TEZİ



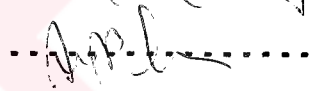
(BİYOLOJİ ANABİLİM DALI)

DİYARBAKIR
MART - 1994

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

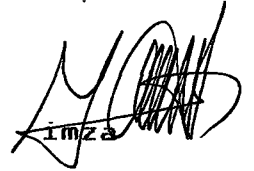
T.C.
DICLE UNIVERSITESI
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürlüğüne
DIYARBAKIR

Bu çalışma, jürimiz tarafından BIYOLOJİ Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS tezi olarak kabul edilmiştir.

Jüri üyesinin ünvanı, Adı Soyadı	İmzası
Başkan : Yrd. Doç. Dr. Celal ORTAKAYA	
Uye : Yrd. Doç. Dr. Hasan Çetin ÖZEN	
Uye : Yrd. Doç. Dr. Mehmet BAŞHAN	

Yukarıdaki imzaların, adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

07 / 09 / 1994


İmza

Prof Dr. Zeki TEZ
Enstitü Müdürü

İÇİNDEKİLER

1.	GİRİŞ.....	1
2.	ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	4
3.	GENEL BİLGİ.....	6
3.1.	Mutajen ve Kanserojenler.....	6
3.2.	2,4-D' nin İnsan Üzerine Araştırılmış Etkileri.	9
4.	MATERYAL ve METOT.....	11
4.1.	Materyal.....	11
4.1.1.	Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	11
4.1.1.1.	2,4-D'nin Fiziksel Özellikleri ve Kimyasal Bileşimi.....	11
4.1.1.2.	Diğer Kimyasal Maddeler.....	11
4.1.1.3.	Solüsyonlar.....	12
4.1.2.	Araştırma Populasyonu.....	13
4.1.3.	Kültür Ortamı.....	13
4.1.4.	Diğer Gereçler.....	13
4.2.	Metot.....	14
4.2.1.	Kromozom Elde Etme Yöntemi.....	15
4.2.2.	Preparasyon İşlemleri.....	15
4.2.3.	Preparatların Değerlendirilmesi.....	18
5.	BULGULAR.....	19
5.1.	Düzensizlikler.....	21
5.1.1.	Sayısal Düzensizlikler.....	21
5.1.2.	Şekil Düzensizlikleri.....	21
5.2.	Mitotik İndeks.....	22
6.	TARTIŞMA ve SONUÇ.....	23

7.	KAYNAKLAR.....	27
8.	FOTOĞRAF LİSTESİ.....	30
9.	ÖZGEÇMİŞ.....	38



TEŞEKKÜR

Bu araştırma konusunu bana Yüksek Lisans tezi olarak veren, çalışmalarım süresince yol gösteren ve yardımlarını esirgemeyen sayın hocam Yrd.Doç.Dr. Celal ORTAKAYA' ya, madde ve literatür temininde yardımlarını gördüğüm Prof.Dr. Davut BAŞARAN ve Dr.Güler. ÇOLAK' a, çevirilerimin yapılmasında ve tezin düzenlenmesinde yardımcı olan Yrd.Doç.Dr. Hasan Çetin ÖZEN ve Yrd.Doç.Dr. Ahmet KILIÇ' a, değerli yardımlarını gördüğüm Dr. Ethem AKBAŞ'a, tezin yazılmasını gerçekleştiren ve manevi yardımlarını gördüğüm değerli arkadaşlarım Araş.Gör. Aysel BEKLEYEN, Neval KILIÇ ve Süreyya NAMLI' ya, grafiklerin ve tabloların çizilmesini sağlayan M.Önder AKAN'a teşekkürlerimi bir borç bilirim.

AMAC

2,4-D (2,4-diklorophenoksiasetik asit)'yi insan üzerinde farklı dozajlar vererek uygulamak elbetteki mümkün değildir. Bu nedenle bu araştırmada in vitro ortamda 2,4-D'nin insan kanındaki kromozomlar üzerine olan etkilerini ortaya çıkarmak amaçlanmıştır. Zira bir maddenin insan kanında yaptığı etkinin aynısını in vitro ortamda da meydana getirdiği yapılan araştırmalar ortaya çıkarmıştır. Bu durum sadece in vitro ortamlarda üretilen kan hücreleri için geçerlidir.

Amaçlarımızı şu maddelerde toplayabiliriz:

- 1) 2,4-D'nin Farklı Konsantrasyonlarının insan Lenfositlerindeki Mitoz Bölünmeye Olan Etkileri,
 - a) Toplam Metafaz Sayısı
 - b) Mitotik indeks
- 2) 2,4-D'nin Farklı Konsantrasyonlarının Kromozomlarda Yaptığı Kırılmalar ve Bunların Etkisi
 - a) Maksimum Kırılma Miktarı (Bir hücrede)
 - b) Minimum Kırılma Miktarı (Bir hücrede)
 - c) İncelenen Toplam Metafaz Sayısındaki Toplam Kırılma Miktarı
 - d) İncelenen Toplam Metafaz Sayısındaki Kırılma Oranı
- 3) 2,4-D'nin Farklı Konsantrasyonlarının Yaptığı Farklı Etkilerinin Karşılaştırılması.

ÖZET

Bu çalışmada 2,4-D'nin (2,4 Diklorofenoksiasetik asit) insan kromozomları üzerine in vitro etkisi araştırılmıştır. Araştırmamızda MOORHEAD ve arkadaşları (1960), tarafından geliştirilmiş olan "Mikro kültür tekniği" denen özgün periferik kan kültürü yöntemi kullanılmıştır. Işık mikroskopunda 100x büyütmeyle incelenerek değerlendirilmiştir.

2,4-D'nin insan kromozomları üzerine olan etkileri şu şekilde sıralanabilir:

- 1) 2,4-D'nin etkisi konsantrasyonuna ve uygulama süresine göre değişmektedir.
- 2) 2,4-D'nin en fazla kromozomal kırılma etkisini 10^{-4} M konsantrasyonunda ve 72. saat uygulamasında vermektedir.
- 3) 10^{-4} M konsantrasyonu mitotik indeksi düşürmektedir.
- 4) Sıklıkla meydana gelen kromozomal düzensizlikler kromatid gap, kromatid kırık, isokromatid gap ve isokromatid kırıklardır.

SUMMARY

In this study, in-vitro effects of 2,4-D (2,4-Diclorophenoxyacetic acid) on human chromosome have been investigated. Original periferic blood culture called Micro Culture Technique developed by Moorhead et al. 1960 was used. The preparations have been checked under the light microscope with magnification 100x.

The effects of 2,4-D on human chromosome can be summarized as follows :

1) The effects of 2,4-D varies with concentration and treatment.period.

2) The maximum chromosomal breaking was observed by treatment of 10^{-4} M concentration and 72 hours.

3) Mitotic index decreases with 10^{-4} M concentration of.2,4-D.

4) Frequently occurring chromosomal abnormalities are chromatid gap, chromatid break, isochromatid gap and isochromatid break.

GİRİŞ

Günümüzde bilim, insanlığın yararı doğrultusunda ilerledikçe, gittikçe artan oranda kullanılan kimyasal maddelerin insan dokularında anormal hücre bölünmeleri ve kromozom kırılmalarını ortaya çıkardığı çeşitli araştırmalar tarafından ispatlanmıştır (1,2,3). Özellikle bunun sonucu olarak ortaya çıkan kanser riski, araştırmaların hızlanmasına yol açmıştır.(1,3).

Zamanımızda insanoğlunun kullanımına sunulmuş 2 milyondan fazla kimyasal madde mevcuttur. Her geçen yıl ortalama 2000-4000 yeni kimyasal madde de kullanıma sunulmaktadır. Bunlardan sadece belirli bir kısmının mutajenik ve kanserojenik etkileri incelenmiştir. Bitkilerden elde edilen ürünlerdeki hastalıkların tedavisi, önlenmesi ile gelişmelerinin hızlandırılması ve verimin arttırılması için yapay gübreler (azotlu, fosforlu,potaslı vb.), yabancı ot ilaçları (herbisitler), böcek ilaçları (pestisitler), mantar ilaçları, kemirgen zehirleri, hayvanlarda da aynı amaçlar için kemoterapötikler (antibiyotik, antihelmintik, protozoon, parazitlere karşı kullanılan ilaçlar vb.) anabolizmayı arttıran hormon ve hormon benzeri maddeler, mineral maddeler ve vitaminler yaygın bir biçimde kullanılmaktadır. Bunların bir kısmının veya hepsinin alınmasıyla insan sağlığında önlenmesi güç riskler ve özellikle kanser ortaya çıkmaktadır. Pestisitlerden belirli bir miktarda alan

kişilerin enzimlerinde ve amino asitlerinde mutlaka birtakım değişiklikler ortaya çıkmaktadır. MORIYA ve arkadaşlarının yaptığı çalışmaya göre denenen 288 pestisitden 50 sinin (% 22) kısa zamanlı testlerde denendiklerinde mutajenik potansiyele sahip oldukları bulunmuştur (3-5).

2,4-D, özellikle Vietnam savaşından beri kültür bitkilerinin yok edilmesi için bitkisel zehir olarak artan miktarlarda kullanılmıştır. Bu bileşiğin yapısı ilk olarak ABD tarafından bilinmekteydi. Bu ve bunun benzeri fenoksiasetik asit türevleri dizisine, tanınmış herbisitler (örn: 2,4-D ve 2,4,5-T), klorlu fenol türevleri ve Kakodil asit (Arsenin-den oksidasyon sonucu oluşur, daha az zehirlidir) gibi arsenoorganik zehirler de dahildir. Vietnam'da bu yapıdaki herbisitlerin geniş alanlarda kullanılmasıyla insanlarda ağır deri zararları yanında öncelikle sinir sistemi hasarları, karaciğer ve sindirim yolu bozukluklarına da rastlanmıştır. Akut zehirlenme belirtileri yanında çok geç veya uzun süreli zararları tespit edilmiştir. Kullanılan bileşiklerin bir bölümü mutajenik (kalıtsal materyale yönelik) ve kanserojenik (kanser yapıcı) etkiler yapmaktadırlar. Fenoksi türevleri arasında özellikle 2,3,6,7-Tetraclordibenzodioksin'in kanser yapıcı özelliği ispatlanmıştır. Bu dioksin, Vietnam savaşından sonra "Seveso Skandalı" ile bağlantılı olarak kamuoyunda dikkat çekmiştir. Geçtiğimiz yıllarda eski Doğu Almanya'da

bitkisel zehir kullanımına verilen bu bağlamda ağır cezalar kamuoyunda tartışmalara yol açmıştır (1).

Günümüzde tarımsal verimi arttırmak için çok çeşitli yöntemler kullanılmaktadır. Bunlar:

- 1- Bitki ıslahı
- 2- Gübreleme
- 3- Yabancı otları ayıklama
- 4- Hormon.

Bu amaçlar için 2,4-D hem herbisit (yabancı otları öldürücü), hem de hormon olarak kullanılmaktadır. Tarımda herbisit olarak değişik ticari adlarda birçok ilaç kullanılmaktadır. Hemen hemen hepsinde değişik oranlarda 2,4-D bulunmaktadır. Ülkemizde de son zamanlarda tarımsal verimi yükseltmek için 2,4-D dahil hormon kullanımı çok yaygınlaşmıştır. Saf 2,4-D'nin farklı konsantrasyonları ve letal dozuyla (LD 50) da çalışılmaktadır. 2,4-D gerek herbisit ve gerekse hormon olarak kullanılması halinde organizmada biyolojik birikim yapabilmektedir.

Böylece yediğimiz birçok sebze ve meyvede 2,4-D'yi bulmak mümkündür. (6-8).

Kullanımı bu kadar geniş olan 2,4-D hakkında birçok çalışmalar yapılmıştır. Fakat insan kromozomları üzerinde in vitro çalışmalar henüz yeterli değildir. Bundan dolayı bu çalışma, 2,4-D'nin insan üzerine nasıl etki yapacağını araştırmaya yönelik olup, bundan sonra yapılacak olan çalışmalara kaynak niteliği taşıyacaktır.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Laboratuvar faresi karaciğerine verilen az miktardaki 2,4-D' nin çabucak absorplandığını saptamışlardır.

Vücut ağırlığına göre 5 mg 2,4-D/kg tek doz verilen gönüllülerde kan plazmasındaki 2,4-D düzeyi 7-24 saat içerisinde yaklaşık 10-45 mg/lt' ye ulaştığı ve daha sonra düşme gösterdiği gözlenmiştir.

Yapılan diğer bir çalışmada bir hafta boyunca 2,4-D' ye maruz bırakılan bir grup işçide saptanan düzey idrarda 1' den 14 mg/lt ye erişirken plazmada 0,02 mg/lt den 0,2 mg/lt ye yükselmiştir.

Solunum yoluyla alınan 2,4-D' nin az bir kısmının solunum yolunda absorplandığını göstermişlerdir. Yalnız bu çalışmada 2,4-D ve türevlerinin solunum yoluyla alınmasının insan üzerine etkileri kontrollü bir şekilde çalışılmamıştır.(2).

PINARBAŞI (1988), laboratuvar faresi böbreğinde bazı enzim aktivitelerinin bu bileşikten dolayı değiştiğini tespit etmiştir.(9).

YANIKOĞLU (1989), 2,4-D' nin değişik dozlarının Pimpla turionellae (Hymenoptera) dişilerindeki total glikojen seviyelerini önemli ölçüde düşürdüğünü belirlemişlerdir.(10).

DERE (1990), 2,4-D herbisitinin gerek karaciğerde ve gerekse kas dokusunda enerji deposu bakımından önemli olan glikojen seviyelerini azalttığını saptamıştır (13).

DERE ve YANIKOGLU (1992)' nun yaptıkları bir çalışmada 2,4-D' nin erkek laboratuvar farelerinin karaciğer ve kas glikojen seviyelerine etkisini incelemiş ve bu çalışmanın sonucunda bu herbisidin gerek karaciğerde ve gerekse kas dokusunda enerji deposu bakımından önemli olan glikojen seviyelerini azalttığını saptamıştır (11).

Insan doku ve hücrelerine özellikle kromozomlara etkisi hakkında bilgiler kesinlik kazanmamıştır. 2,4-D' nin LD-50 dozu, biyolojik yarı ömrü, maksimum ve minimum tolere edilebilme dereceleri, organlarda birikme dozajları, 2,4-D ile birlikte alınan diğer kimyasalların gerek herbisit üzerine ve gerekse canlı organizma üzerine etkilerinin araştırılması ve sonuçlandırılması bir zorunluluk halini almıştır.

3. GENEL BİLGİ

3.1. MUTAJEN ve KANSEROJENLER

Mutajen ve kanserojenlerin her ikisi de mutasyona yol açarak ya o kuşakta veya sonraki kuşakta etkileri ortaya çıkabilmektedir. Bilindiği gibi gelişmenin, elverişli mutasyonların doğal seçilimi (seleksiyonu) sonucu olduğu kabul edilmektedir.

insanın üreme (germ) ya da vücut (somatik) hücrelerindeki gen mutasyonlarının çevrede bulunan kimyasal maddelerin etkisinden ileri gelip gelmediği bilinmemektedir. Aynı zamanda bunların etkilerinin boyutları hakkında elimizde yeterli bilgi yoktur. Bunlar aşağıda sıraladığımız problemler halinde karşımıza çıkabilmektedir.

1-Birçok madde mikroorganizma ve böceklerde gen mutasyonları yapmıştır.

2- Laboratuvarlarda bazı ilaçlarla yapılan çalışmalarda memelilerde in vivo olarak ve insan somatik hücrelerinde de in vitro olarak mutasyonlar oluşturmuştur.

3- insanda spontan düşüklüklerde ve yeni doğmuş bebeklerde oldukça sık kromozom anomalileri görülmüştür. Yalnız kimyasal maddelerin ne gibi bir rol oynamış olabilecekleri bilinmemektedir.

4- Kromozomların temel elemanı olan nükleik asitlere etki yapan kimyasal maddelerin kullanılması insan çevresinde giderek artmaktadır.

Insanoğlunun sürekli etkileşim içerisinde olduğu mutajenleri şu şekilde sınıflandırabiliriz .

1- Mutajen olduğu bilinen ya da olmasından kuşkulanan kimyasal, farmakolojik ve biyokimyasal bakımdan benzerlik gösteren bileşikler,

2- Kemik iliğinin fonksiyonunu azaltma, spermatogenez ya da oogenez üzerinde ket vurucu etki (inhibisyon) yapma, mitozu önleme ile üreme üzerinde yapılan incelemeler sırasında görülen teratojen, kanserojen, sterilizan, yarı sterilizan etkilerle belli bir organın veya bir hücrenin gelişmesini ya da sentez yapmasını uyarma, önleme ve bağışıklık kazanılmasının önlenmesi gibi hayvanlar üzerine toksik etki yapan bileşikler,

3- Organizma tarafından sürekli olarak absorbe edilme ve uzun sürelerle organizmada kalma tehlikesi gösteren bileşikler.

Gerçekte mutajen ajanları ortaya çıkarmak için bir grup test yeterli olmamaktadır. Hatta aynı test farklı hayvan gruplarına in vivo ve in vitro etki şeklinde çok yönlü olarak yapılmalıdır. Bir kimyasal maddenin farmakokinetik davranışı ve metabolizması bazen bir türden ötekine değişir. Bu da insanda yapacağı etkilerin önceden kestirilmesini zorlaştırır.

Germ hücre mutasyonlarını fenotipte bir değişikliğin ortaya çıkarılmasıyla göstermek çok kolaydır. Ama bu yol etkili değildir. Etkili olması nedeniyle, çalışmalar somatik mutasyonlar üzerinde olmalıdır.

Mutasyon normal genlerin bir hücreden ötekine geçişi veya yeniden karışması olmadan nükleotidlerin sayısında veya molekül yapısında ya da sıralanışında birdenbire olan değişikliktir (12,13).

Konumuzun özü herbisitlerin kromozom morfolojisine etkilerinden dolayı mutasyonla ilişkilidir. Herbisit ve pestisitlerin kromozom üzerine etkileri kromozom fragmantasyonu, telofaz, anafaz köprüleri, kromozom gaplari olarak tespit edilmiştir (14,15).

Çalışmada kullanılan madde bir oksindir. Oksinli bileşikler canlıya şu şekilde etki edebilmektedirler.

Gelişim maddesi bir herbisit olan klorfenoksi asetik asit ve türevleri zehirli bir bileşiktir. Doğal bitki hormonlarının etkileri gözönüne alınarak yapılmıştır. Doğal oksinlere örnek olarak indol asetik asit (IAA) verilebilir. Genelde oksinler bitkiler üzerine bir dizi farklı etkiler göstermektedir. İşte bu etkiler gözönüne alınarak sentetik oksinler elde edilmiştir. Özellikle bitki nükleik asit metabolizması üzerine etkisi önemli bir yer oluşturmaktadır. Bazı sentetik bileşikler bitkide oksin etkisi gösterirler. Bunlardan en önemlisi 2,4-D ve bunların türevleridir. Bu bileşik bitkiye belirli bir yere kadar yarar sağlarken memelilere zarar verir.

Sentetik oksinler yalnız başlarına az aktiftirler. Aktif olması için bütün bağlantı yerlerinin bazı moleküllerle, özellikle proteinlerle tutulmuş olması gerekir.

Sübstitüe olmamış fenoksi asetik asit aktiviteye sahip değildir. Monoklor türevlerde 2>3>4 dizisinde aktivite yükselir. Kuvvetli bir oksinin organizma üzerine sürekli engelleyici bir etkisi vardır. Aynı şekilde doğal oksinlerin çok çeşitli etkileri olabilir. Bunlar, sentetik oksinler etkisiyle de ortaya çıkabilir. Burda kullanılan dozun önemi büyüktür. Çok düşük konsantrasyonlarda bu bileşikler tıpkı IAA gibi uyarıcı etki yapabilirler (Stimülasyon). Oksinler zirai mücadelede herbisit olarak kullanılırlar. Herbisit olarak kullanılan 2,4-D' nin bulaşma riski daha yüksektir. Canlı organizma 2,4-D' yi bu yolla çevresel kirlenmeden dolayı çok kolay alır (14-16). Bitki yetiştiriciliğinde ise invitro kültür ve seracılıkta kullanılmaktadır (7).

İlk aşama olarak bitkide çok çeşitli etki yapan herbisit besin zinciri boyunca kademe kademe yoğunlaşarak birikmekte ve kötü sonuçlar doğurmaktadır. Bitkisel ve hayvansal tüm besinlerde biriken bu tür maddeler beslenme zincirinin son halkasında bulunan insan için sürekli bir zehirlenme potansiyeli oluşturmaktadır.

3.2. 2,4-D' nin İnsan Üzerine Araştırılmış Etkileri

Klinik ve epidemiyolojik çalışmalar 4 gruba ayrılır :

- 1- Antikanser drog yada antibiyotik olarak 2,4-D verilen hastalar.üzerine.çalışmalar
- 2- Gönüllü yada kaza sonucu alınan 2,4-D' nin akut zehirlenmesi üzerine çalışmalar

3- 2,4-D' nin üretiminde yada kullanımında görev alan kişiler (genellikle erkekler) üzerine çalışmalar

4- Herbisit kullanan veya kullanılan alanlarda yaşayan kişiler üzerine epidemiyolojik çalışmalar

Bu konuda yapılmış tüm çalışmalarda 2,4-D ve diğer kimyasallar karışık halde bulunmaktadır. Bundan dolayı 2,4-D' nin gerçek etkisi anlaşılammaktadır (2).

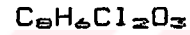
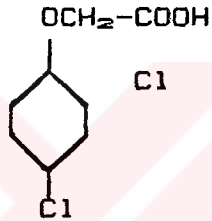
4. MATERYAL ve METOT

4.1. MATERYAL

4.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

4.1.1.1. 2,4-D'nin Fiziksel Özellikleri ve Kimyasal Bileşimi

Bu çalışmada kullanılan ve Tablo 1' de fiziksel özellikleri verilen 2,4-D' nin açık formülü:



Tablo 1. 2,4-D'nin fiziksel özellikleri

Molekül formülü.....	$C_8H_6Cl_2O_3$
Molekül ağırlığı.....	221.0
Erime noktası.....	140-141°C
Sudaki çözünürlüğü.....	az çözünür
Organik çözücülerde çözünürlüğü.....	çözünür
Buhar.basıncı.....	52,3.Pa (160°C)
pKa (25°C).....	2,64-3,31

4.1.1.2. Diğer Kimyasal Maddeler

- T.C. Medium 199 (Difco 5477-72-6)
- T.C. Fetal Calf Serum, Desiccated (Difco 5065-67)
- Phytohemagglutinin M (Difco 0528-67)
- Colchicine
- Penicilline-G Potassium (1.000.000 ünite)
- Streptomycin sülfat (1 gr lık)

- g) Glacial Acetik Asit (Merck)
- h) 0,075 M KCl çözeltisi
- i) Giemsa Lösung (Merck-9204)
- j) Kanada Balzamu (Rhenohistol Merck)
- k) Ksilol (Merck)
- l) 2,4 Dichlorofenoksi asetik asit
- m) Heparin (Liquemine, Roche)
- n) Parafin
- o) Aceton
- p) Triple distile su
- r) Ethyl Alcohol

4.1.1.3. SOLÜSYONLAR

- a) Kolşisin (Colchicine) Solüsyonu : 40 mg colchicine + 100 ml triple distile su
- b) Hipotonik Solüsyon (0,075 M KCl)
- c) Tespit Solüsyonu (Fiksatif) : 3 kısım Metanol/1 kısım Asetik Asit Glacial
- d) Penicilline Solüsyonu : 1.000.000' u penicilline - G potassium+10 ml steril triple distile su
- e) Streptomycine Solüsyonu : 1 gr Streptomycine sulfat+ 10 ml steril triple distile su
- f) Fitohemaglutinin Solüsyonu : 5 mg Phytohemagglutinin M +5 ml steril triple distile su
- g) Boya solüsyonu : 1 ml giemsa-Lösung + 19 ml distile su
- h) 2,4-D Solüsyonları :

1. Ana stok Solüsyon : 10^{-2} M

2. Stok Solüsyon : 10^{-4} M

3. Stok Solüsyon : 10^{-7} M

4.1.2. ARAŞTIRMA POPULASYONU

Bu çalışmada yaşları 23-33 arasında değişen yakın geçmişlerinde viral enfeksiyon geçirmemiş, ilaç kullanmamış, radyoterapi görmemiş ya da radyasyon etkisinde kalmamış, sigara içmeyen, tamamen sağlıklı erkek bireylerle çalışılmıştır. Birey sayısı beş ile sınırlandırılmıştır. Yaşları 23,24,26,30,33 olup yaş ortalaması 27 dir.

4.1.3. Kültür Ortamı

Periferik kan kültürü

a) TC Medium 199	80 ml
b) TC Fetal Calf Serum Solüsyonu	15 ml
c) Phytohemaglutinin Solüsyonu	3,5 ml
d) Penicilline Solüsyonu	0,1 ml
e) Streptomycine Solüsyonu	0,1 ml

4.1.4. DİĞER GEREÇLER

a) Zaman ayarlı santrifüj	Nüve NF 815
b) Etüv	Nüve EN 400
c) Kuru hava sterilizatörü	Heraeus
d) Mikroskop	Olympus Vanox
e) Mikrofotografi aygıtı	Olympus

- f) Elektronik duyarlı terazi Bosch Loub (0,1 mg hassasiyette)
- g) Enjektörler(2,5,10 ve 20ml) ve pipetler(2,5 ve 10ml)
- h) 10 ml lik kültür şişeleri
- ı) Şaleler
- i) 15 ml lik konik santrifüj tüpleri
- j) Mezurlar (10,20 ve 30ml)
- k) Lam ve lamel
- l) Film (Orwo, siyah-beyaz, 15 dyn, 25 ASA)

4.2. METOT

Günümüzde kalıtsal hastalıklar etiyolojilerindeki kalıtsal etkenin türüne göre aşağıdaki şekilde üç gruba ayrılarak incelenir:

I. Tekli Mutant Genlere Bağlı Olanlar

A. Otozomal Kalıtım

- 1. Otozomal dominant
- 2. Otozomal resesif

B. Gonozomal Kalıtım

- 1. X'e bağlı dominant
- 2. X'e bağlı resesif
- 3. Y kromozomal

II. Polijenik Olanlar

III. Kromozomal Olanlar

Bunlardan tekli mutant genlere bağlı olanların kalıtım biçimleri aile, ikiz ve pedigri yöntemi gibi

dolaylı yöntemlerle polijenik olanlar geniş anlamda aile ve populasyon araştırmaları ile ve kromozomal olanlar ise karyotip analizi ile ortaya konabilmektedir (17,18).

4.2.1. Kromozom Elde Etme Yöntemi

Kromozomlar kemik iliği ve periferik kan kültürü yöntemi olarak adlandırılan iki farklı yöntem ile elde edilir. Bu çalışmada MOORHEAD ve arkadaşlarının (1960), geliştirdikleri standart ya da makrokültür tekniğinin modifiye şekli olan ve mikroteknik ya da tüm kan tekniği olarak bilinen yöntemden yararlanılmıştır (19).

4.2.2. Preparasyon işlemleri

a) 2,4-D uygulama konsantrasyonları belirlenirken, terapötik doz ve maksimum doz olarak 10^{-2} M ve 10^{-7} M kullanıldı. 10^{-2} M dozu öldürücü doz olduğu için kullanılmadı, 10^{-4} M kullanıldı. Bu dozlar kültürlere hemen, 24. saat ve 48. saatlerde uygulandı.

b) Steril malzeme kullanılarak aseptik koşullarda hazırlanan stok kültür ortamı çözeltisinden yine aseptik koşullarda 5 ml kültür şişelerine konup ağzı kapatılarak parafinden geçirildikten sonra buzdolabında şoklanarak dondurulmuştur. Kullanılacağı zaman oda ısısında bekletilerek çözülmesi sağlanmıştır.

c) Her denek için bir kez kullanılan heparinize edilmiş plastik enjektörle alınan venöz kandan aseptik koşullarda ağzı açılan kültür şişesine 1 numaralı enjektör

iğnesiyle 9 damla damlatılıp ağızı kapatılarak 37°C'ye ayarlanmış etüve bırakılmıştır. Etüve bırakılan kültürlerin üzerine daha sonra eklenecek kimyasal maddeler, antibiyotik miktarı ve kimyasal bileşik ile etkileşme süresiyle ilgili bilgiler etiketlenmiştir (Tablo 2).

Tablo 2. Deneyleerin uygulama şeması

Süre Doz	72.Saat	48.Saat	24.Saat
Kontrol	1	1	1
10 ⁻⁴ M	1	1	1
10 ⁻⁷ M	1	1	1

d) Kültürün etüve bırakılış saatine göre, 48 saatlik kültüre 24. saatte, 24 saatlik kültüre 48. saatte, hemen olan kültüre de 72. saatte ilgili stok çözeltilerinden, bırakılmıştır.

e) Kültürdeki hücreleri, mitozun metafaz evresinde durdurmak için, 70. saatte 2 numaralı enjektör iğnesi ile 4'er damla kolşisin çözeltisinden eklenerek tekrar etüve yerleştirilmiştir.

f) 72. saatin sonunda kültürler etüvden alınarak üzerlerindeki etiketlerin benzeri bilgiler içeren santrifüj tüplerine aktarılmıştır. Tüpler daha sonra 800 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Boşalan kültür

şişelerine ise 5 ml hipotonik çözeltisi eklenmiştir.

g) Üzerleri numaralandırılmış pastör pipetleri tüplerin üzerindeki sıvı (süpernatant) atılıp, tüplerin dibinde bırakılan hücre çöküntüsü üzerine 5 ml. daha önce kültür şişelerine bırakılan hipotonik eklenerek pipetaj yapılmıştır. Hipotonik ortamda hücre ve nukleus membranlarının parçalanması için 10 dakika bekletildikten sonra tekrar 800 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir.

h) Santrifüj işlemi sonunda tüplerin üzerindeki sıvı atılarak kalan çöküntü üzerine 5 ml fiksatif yavaş yavaş damlatılıp pipetaj yapılmış ve yarım saat bekletilmiştir. Çöküntüye fiksatif uygulamadaki amaç nukleusları buldukları evrede tespit etmektir.

1) Tekrar 10 dakika santrifüj edilmiş fiksatif ile yapılan işlem dört kez daha tekrarlandıktan sonra tüpte kalan çöküntünün üzerine 3-4 damla fiksatif eklenmiş, dört adet lam üzerine damlatılarak yayma işlemi yapılmıştır.

i) Preparatlar kurduktan sonra giemsa solusyonu ile boyanmış 20 dakika bekletilmiştir. Boya döküldükten sonra musluk suyundan geçirilerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatların temizlenmesi için 10-15 saniye süreyle sırasıyla aceton, aceton-xylol ve xylol serisinden geçirilerek kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlara kanada balzamu damlatılıp lamel kapatılarak preparasyon işlemi tamamlanmıştır.

4.2.3. Preparatların Değerlendirilmesi

Değerlendirme işlemi önceden hazırlanan değerlendirme formuna gerekli bilgiler kaydedildikten sonra mikroskop altında incelenmesiyle yapılmıştır. Preparat tarama işlemine küçük büyütme objektifi (10x) başlayarak iyi ve kaliteli metafazlar seçildikten sonra immersiyon objektifiyle (100x) ayrıntılı olarak incelenmiş ve saptanan bulgular mikroskop şaryo kayıt numarasıyla birlikte değerlendirme formundaki bölümlere kısaltılmış semboller kullanılarak kaydedilmiştir. Bu şekilde deneklere ait her bir doz-süre kombinasyonu için zorunlu kalmadıkça 30'dan aşağı olmamak üzere metafaz plağı değerlendirmeye alınmıştır. İçlerinden fotoğraf çekilmesi için uygun olanlara sonraki işlemlerde kolaylık olması açısından işaret konulmuştur. Tarama işlemleri sırasında bir düzensizlik olarak kabul edilmemekle beraber satellit assosiasyonları da kaydedilmiştir.

Fotoğraf çekimi immersiyon objektifi ve 25 ASA'lı film kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Fotoğrafı çekilen her bir metafaz için iki fotoğraf kartı kullanılmış ve bu kartlardan biri kontrol amacıyla bırakılırken, diğeri ile karyotip yapılarak düzensizliğin hangi grup kromozomu tuttuğu saptanmaya çalışılmıştır.

5. BULGULAR

Kromozom elde etme çalışmaları metafaz safhasında ve in vitro şartlar altında periferik kan kültür yöntemiyle yapılmıştır. 2,4-D'nin litrede 0.5 mgr ve 2.5 mgr dozajları ayarlanmış, dozajlar 10^{-4} M ve 10^{-7} M olarak 5 ml'lik flakon tüplerdeki besiyerlerine 72. saat, 48. saat ve 24. saat olmak üzere verilmiştir. 72. saatte verilen 2,4-D dozajları besi yerlerinde kromozom üremesini oldukça azaltmış ve mitotik indeksi düşürmüştür. Aynı zamanda 10^{-4} M dozajı da mitotik indeksi düşürmüştür.

$2n=46$ kromozoma sahip olan insan kanından hazırlanmış normal bir karyotipte A grubu kromozomlar 1,2,3 numaralı kromozomlardır. Sentromerleri ortada en büyük metasentrik kromozomlardan oluşmuştur. B grubu kromozomlar 4 ve 5. çiftleri oluşturan submetasentrik kromozomlardır. C grubu kromozomlar submedian ve orta büyüklüktedir. 6-12 arası numaralı kromozomlar 7 çift kromozomdan oluşur. D grubu kromozomlar akrosentrik kromozomlardır. 13,14,ve 15 numaralı kromozomlardan ibarettir. E grubu kromozomlar 16,17 ve 18 numaralı küçük submetasentrik kromozomlar olarak gözlenir. F grubu kromozomlar 19, 20 numaralı kromozomlar olup, küçük ve medyan sentromerlidir. G grubu kromozomlar son iki kromozomu yani 21, 22 numaralı kromozomları içerir ve en küçük akrosentrik kromozomlardan oluşur. Eşey kromozomları ise ayrı bir numarası ve grubu

olmayan X ve Y kromozomlardır. X kromozomu C grubunun büyük kromozomuna benzer. Y kromozomu G grubu kromozomların özelliğindedir. Bu çalışmada bayanların hormonal değişikliklerinin fazla olması nedeniyle erkek bireyler kullanılmıştır. Erkek bireyler 44+XY kromozomuna sahiptir (20).

Preparatlar önce küçük büyütme objektifle taranmış (10x) ve stoplazma kalıntılarından arınmış, konsantrasyonu orta derecede, kromatid kolları fazla uzaklaşmamış birbirine paralel kromozomlar bulunduran iyi boyanmış metafaz plakları seçilmiştir. Üst üste binmiş, kolları bükülmüş yada yanlara gelmiş metafaz plakları dikkate alınmamıştır. Uygun metafaz plakları immersiyon objektifine alınarak şu işlemler yapılmıştır :

a) Sayım : Metafaz plağındaki kromozomlar sayılarak kaydedildi.

b) Fotoğraf : Uygun metafaz plakların immersiyon objektifiyle fotoğrafı çekildi.

c) Fotoğraf Üzerinde Sayım : Daha sonra fotoğraf üzerindeki kromozomlar sayıldı.

Yöntemine uygun olarak hazırlanmış olan ve mikroskopta 100x büyütme ile incelenmiş metafazdaki hücrelerde gözlenen düzensizlikler iki grup halinde değerlendirilmiştir.

5.1. Düzensizlikler

5.1.1. Sayısal Düzensizlikler

Gözlemler sonucunda sayısal kromozom düzensizlikleri içeren hücrelerin değerlendirmede dikkate alınmayacak kadar seyrek olduğu saptandı. Bu nedenle değerlendirmeye alınmamışlardır.

5.1.2. Şekil Düzensizlikleri

Uygulanan herbisitinin değişik doz ve süre kombinasyonlarının şekil düzensizliklerinin görülme oranlarına farklı şekilde etkili olduğu anlaşılmıştır (Tablo 3). İncelenen metafaz plaklarında en çok kromatid gap (Şekil 1), fragment kromozom (Şekil 2), kromatid kırık (Şekil 3,4), assosiyasyon (Şekil 5) ve isokromatid kırık (Şekil 6) gözlenmiştir. Uygulanan herbisitinin değişik doz ve süre kombinasyonlarının neden olduğu şekil düzensizliklerinin sayı ve yüzde oranları Grafik 1' de verilmiştir. Herbisitinin değişik doz ve süre kombinasyonlarının neden olduğu düzensizliklerin karşılaştırılabilmesi için aynı süre içindeki etkileri Grafik 1 ve 2' de verilmiştir.

Sentromerlerden kopan kromatidlerin çoğu kez yuvarlaklaşarak minute kromozom halini aldığı saptanmıştır (Şekil 7). Ayrıca sentromerlerden kopan kromatidlerden birbirine paralel olarak asentrik ve polikırık kromozomlara rastlanılmıştır (Şekil 8).

Metafaz plaklarında rastlanan birden fazla

düzensizlik içeren hücrelerin 2,4-D dozu arttırıldıkça arttığı (Grafik 2) gözlenmiştir. Uygulama süresi arttıkça (Grafik 3) hücre insidansı artmıştır. Kontrol gruplarında herhangi bir farklılığa rastlanmamıştır (Grafik 1).

5.2. Mitotik indeks

Değişik doz ve süre uygulamalarında saptanan mitotik indeks değerleri yüzde olarak Grafik 3 ve Tablo 4' de verilmiştir. Mitotik indeks değerleri kontrolün yüzdeleri olarak Tablo 4' de gösterilmiştir. Doz ve süre arttırıldıkça mitotik indeks değerleri düşmüştür. 24 saat önce verilen 10^{-7} M dozu kontrol grubuyla yaklaşık aynı mitotik indeks değeri vermiştir.

Tablo 4. 2,4-D uygulamalarında gözlenmiş bulunan mitotik indeks değerlerinin % oranları

Süre Doz	K	10^{-4}	10^{-7}
24	13,2	10,06	13
48	13,2	9,65	12,13
72	13,2	8,8	8,87

6. TARTIŞMA VE SONUÇ

Elde edilen bulguların tartışması, bulgular bölümündeki sıraya göre yapılacaktır. 2,4-D'nin etkileri topluca Tablo 5'te görülmektedir. Herbisitin kromozom düzensizliklerine neden olduğu hücrelerin durumu aşağıda maddeler halinde tartışılmaktadır.

2,4-D'nin kromozom düzensizliği içeren hücre oluşumuna etkisi:

a) Kontrolle karşılaştırıldığında 2,4-D'nin tüm dozları, bütün uygulama sürelerinde yüksek düzeyde kromozom düzensizliğine neden olmuştur. En fazla etkin olduğu süre 72. saatte verilen dozdur. Süre uzadıkça düzensiz hücre sayısının arttığı gözlenmiştir. Bu durum kromozom düzensizlikleri üzerinde herbisitin kesin etkisini gösterebilmesi için belirli bir sürenin geçmesi gerektiğini ortaya koymuştur.

b) 2,4-D'nin aynı süre içinde düzensiz hücre oluşumuna etkisi, doza bağlı olarak (özellikle $10^{-4}M$) değişik dozların aynı süre içinde neden oldukları düzensiz hücre sayısındaki artış farklarının da süre uzadıkça büyüdüğü gözlenmiştir (Grafik 2). Bu olaya marjinal fark denir. Dozlar arasındaki marjinal farkın, süre uzadıkça büyümesi dikkati çekmektedir.

c) En fazla kromozomal kırılmalar (%), doz ve süre arttığı zaman gözlenmiştir. Tam aksine mitotik indeks (%) düşmektedir. En az kromozomal kırılmalar (%), doz ve süre

Tablo 5. Kromozomal kırılmalar ve % değerleri

Uygulanan Doz (M)		10 ⁻⁴			10 ⁻⁷		
Uygulama Süresi (Saat)		72	48	24	72	48	24
Düzensizlik içeren Hücre	Sayı	47	17	12	23	9	4
	%	4,7	1,7	1,2	2,3	0,9	0,4
Kromatid gap	Sayı	27	14	10	8	5	4
	%	2,7	1,4	1	0,8	0,5	0,4
İsokromatid gap	Sayı	28	3	5	7	4	0
	%	2,8	0,3	0,5	0,7	0,4	0
Kromatid kırık	Sayı	27	0	0	2	2	0
	%	2,7	0	0	0,2	0,2	0
Birden Fazla Düzensizlik içeren Hücre	Sayı	4	1	0	5	0	0
	%	0,4	0,1	0	0,5	0	0

azaldığı zaman gözlenmiştir (Grafik 1) . Mitotik indeks (%) kontrol grubuyla (%) yaklaşık aynı değerlere sahiptir (Grafik 3).

d) Kontrol grubunda gözlenmiş bulunan düzensizliklerin oranı önemli bulunmamıştır (Grafik 3). 2,4-D, ağız yoluyla alınmakla beraber aynı zamanda deriyle de absorbe edilebilmektedir. İnsanda biyolojik etkiyi 36 mg 2,4-D kg/ vücut ağırlığı değerinde verebilmektedir. Ama gönüllülerde yapılan çalışmalarda yaklaşık 5 mg 2,4-D kg/ vücut ağırlığının toksik etki yaptığı gözlenmiştir.

2,4-D'yi de içeren tarımda kullanılan kimyasal maddelerin püskürtülmesinde çalışan işçilerin lenfositlerinde kromozom ve kromatid anormallikleri gözlemiştir (2).

Yapılan kontrollü çalışmalarda 2,4-D ve 2,4,5-T 'ye maruz kalan veya bunların üretilmesinde çalışan kişilerde kanser riskinin 5 kat daha fazla olması lenfosit kültürlerinde mutajenlerin aranmasını zorunlu kılar. Yalnız buralarda kullanılan 2,4-D ve kontaminantlarının beraber bulunması tümör oluşumunda hangi türevin etkili olduğunun saptanmasını zorlaştırmaktadır (20-22).

Elde edilen sonuçlara göre oluşan gap'ların, kromozomal proteinin etkilenmesinden oluştuğu sanılmaktadır. Yalnız bunlar daha sonra eski hallerine dönüşebilirler (23,24). Yüksek konsantrasyonlarda mitotik indeks düşmektedir. Ama metafaz plakların incelenmesini engelleyebilecek düzeyde değildir. Bu konsantrasyonlarda mitotik indeksin düşmüş olmasının nedeni, DNA sentezinin engellenmesi

suretiyle mitoz bölünmenin durdurulmasıdır. Bilindiği gibi DNA sentezi sonraki mitoz hazırlık ve onun gerekli olan ön kademesidir. 2,4-D eritrositlere bağlanmak suretiyle kanda dolaşmaktadır.

72. saatte verilen yüksek dozajdaki 2,4-D herbisitinin, kromozomal düzensizliği oldukça arttırdığı gözlenmiştir (Grafik 2). Bunun nedeni, sitolojik düzensizliklerin genellikle profazda ortaya çıkmasıdır. Ayrıca protein sentezi bozulur ve kromatid kırılmaları da bu evrede görülür.

Somatik kromozom düzensizlikleri ile karsinogenesis arasındaki ilişkiler bugün için tamamen açıklığa kavuşmuş değildir. Ancak insanlarda kronik myeloid lösemide 22.çift kromozomda delesyon tipinde bir olgunun söz konusu olduğu bilinmektedir (22).

Mutajenlerle karsinojenler birbirleriyle sıkı ilişkilidir. Burada çoğu mutajenler karsinojen etkisi de gösterir (17).

Kanser hücrelerindeki kontrol dışı üreme nedeninin, tek bir hücredeki bozulmuş gen fonksiyonu olduğu düşünülebilir. Kromozom kırıkları, gen delesyonlarının oluşturduğu mutasyonların mikroskopta görülebilen kısmıdır. Bunların mutagenesise yol açabilmeleri önemli bir yer oluşturmaktadır.

Ülkemizde sıklıkla kullanılan 2,4-D ve türevi herbisidlerin bu tür düzensizliğe neden olması ve kanserojen etkisi nedeniyle, bu konuda araştırmaların

derinleştirilmesi gereklidir.

Sonuç olarak 2,4-D'nin uygulanması doz ve süreye bağlı olarak önemli derecede kromozom düzensizliklerine neden olmaktadır. Bu değerlendirme literatür bulgularıyla da büyük uyum göstermektedir (1,2).

Bu etkilerin kalıtsal yönü konumuzun dışında olduğu için incelenmemiştir. Fakat düzensizliklerin çoğu ya steriliteye ya letaliteye ya da ikinci kuşak düzensizliklerine neden olduğu söylenebilir.

Bu nedenle hormon ve herbisit olarak kullanılan 2,4-D ve türevlerinin dikkatli kullanılması ve gerekirse kullanılmaktan kaçınılması araştımamızın ortaya koyduğu en önemli bulgulardandır.

Bulgularımızda da görüldüğü gibi, yüksek konsantrasyonların kırıkları arttırmaması ve etkileşme süresi arttıka mitotik indeksin düşmesi bunun mutasyona yol açabileceğini düşündürmektedir. Bu konu tartışmaya açıktır. Kromatid ve isokromatid kırıklar mutajen test için son derece elverişlidir.

7. KAYNAKLAR

1. MÜLLER-LOHS, 2,4-D (2,4 Dichlorphenoxyessigsäure) Herbicide Organische Herbizide Toxikologie 2 Auf UTB (Gustav-Fischer) Stuttgart-Jena 1992. Seite 155
2. WHO, Environmental Health Criteria 2,4-D, 29, Geneva, 1984.
3. DEMIRSOY A., Yaşamın Temel Kuralları, Cilt:1 Kısım:1,2 Hacettepe Üniv. Fen Fak. Biyoloji Bölümü Beytepe Ankara, 1990.
4. ALP N., Malignite ile İlgili Tek Gen Mutasyonları ve Kromozom Düzensizliklerinin İlişkisi Üzerine Araştırmalar, Dicle Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Diyarbakır, 1983.
5. POCHIN E.E., Malignancies Following Low Radiation Exp. in Man, Brit. J. of Radiology, 49, 1976. No: 583-577
6. DERE E., 2,4-D'nin Erkek Farelerin (Swiss-Albino) Karaciğer ve Kas Glikojen Seviyesine Etkisi, Cumhuriyet Üniv. Fen Bilimleri Ens. Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi 1992.
7. BAŞARAN D., Bitki Doku Kültürleri, Dicle Üniv. Fen Fak. Yayınları, No:14, Diyarbakır, 1990.
8. BAŞARAN D., Modern Genel Botanik, Dicle Üniv. Fen Fak. Biyoloji Bölümü Diyarbakır, 1990.
9. PINARBASI E., 2,4-D'nin Fare Böbreği GGP-DH, MDH ve HK Enzim Aktiviteleri Üzerine *in vivo* Etkisi, Cumhuriyet Üniv. Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, Sivas, 1988.
10. DERE E., YANIKOĞLU A., 2,4-D'nin Pimpla turionellae L. Dişilerinin Glikojen Seviyesine Etkisi, Cumhuriyet Üniv. Fen Bilimleri Dergisi Cilt:8 Sayı:1, Sivas, 1989.
11. DERE E., Endosülfan, 2,4-D ve Bacillus thuringiensis preparatının Swiss-Albino (Mus musculus) Farelerinin Değişik organlarında Bazı Enzimlerin Aktivitelerine ve Glikojen Seviyesine Etkileri, Cumhuriyet Üniv. Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Doktora Tezi, 1990.

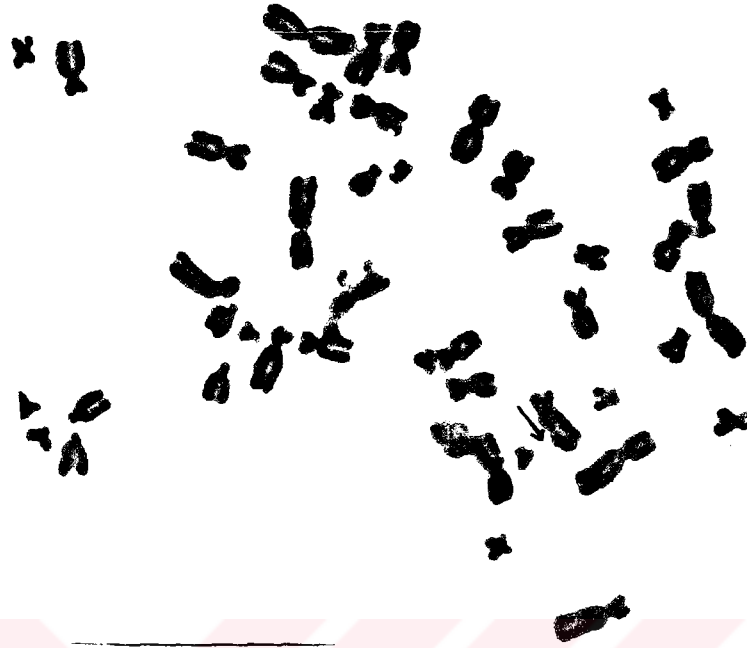
12. ORTAKAYA, C., Kanamisin' in Tavşan (Oryctolagus cuniculus) kromozomları üzerine invivo etkilerinin araştırılması, Doktora Tezi, D.Ü. Fen Bilimleri Enst., Diyarbakır, 1982.
13. TÜBİTAK, Moleküler Biyoloji Lisansüstü Yaz Okulu Ders Notları, 2. kısım Çanakkale, 1983.
14. POTTER, W.T., Radiometric Assay of Red Cell and Plasma Cholinesterase in Pesticide Appliers from Minnesota, Toxicol. Appl. Pharmacol, 119, 150-155, 1993.
15. LAURIE, D.A., Institute of Plant Science Research, Cambridge Laboratory, Maris Lone, Trumpington, Cambridge CB2 2JB United Kingdom.
16. PARLAR und ANGERHOFER, Chemische Okotoxikologie Springer Berlin Heidelberg, 1991. Seite:160- 207
17. BAGCI, H., Tübitak Moleküler Biyoloji ve Gen Mühendisliği Lisansüstü Yaz Okulu Ders Notları, ODTÜ, Biyoloji Bölümü, Ankara, 1985.
18. BAŞARAN, N., Tıbbi Genetik Ders Kitabı, Bilim Teknik Yayınları, Eskişehir, 1985.
19. MOORHEAD, P.S., Chromosomes preparation of leucocyts cultured from human peripheral blood Exptl. Cell. Res.,20: 613, 1960
20. DAHLEEN, L.S. and EIZENGA G.C., Meiotic and Isozymic Characterization of Plant Regenerated from Euploid and Selfed Monosomic Tall Fescue Embryos Theor Appl. Genet. 79, 39-44, 1990.
21. LEVAN, A., Nomenclature for Centromeric Position on Chromosomes Institute of Generic Lund, Sweden, 1964.
22. MESCHINI, R., Chromosomal Damage Induced by Maleic Hydrazide in Mammalian Cells Invitro and Invivo Mutal. Res. 204(4), Apr, 1988.
23. ŞAYLI, B.S., Medikal Genetik 1 Teorik ve Klinik Sitogenetik 4. Baskı, A.U. Tıp Fak. Yayınları, Sayı.381, Ankara, 1979.

24. TEZOK, Ö.F. Genetikte Temel Prensipler ve İnsan Genetiğindeki Değerlendirilmeleri, Uludağ U. Tıp Fak. Yay., No. A.1, 1977.

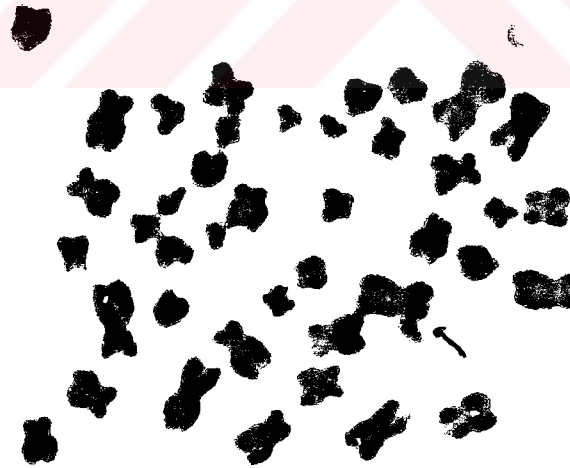




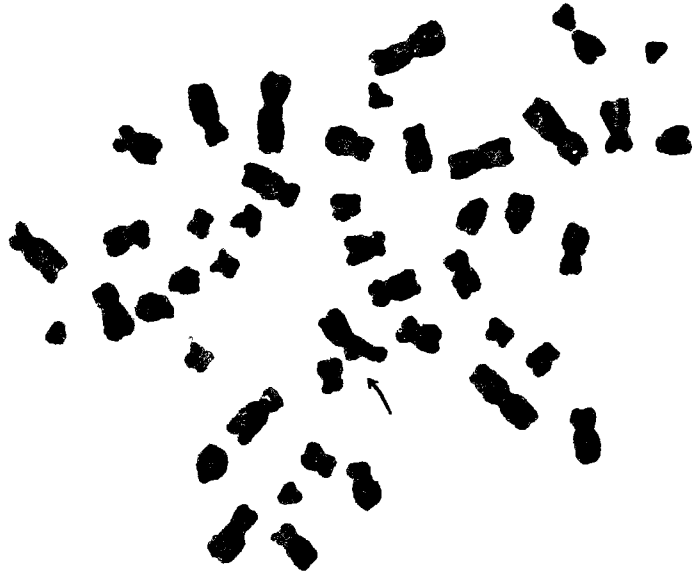
8. FOTOGRAF LISTES:



Şekil 1. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-7} M konsantrasyonunun 72 saat uygulama süresi sonundaki durum; Cq kromatid gap



Şekil 2. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-4} M konsantrasyonunda 48 saat uygulama süresi sonundaki durum; fragment



Şekil 3. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-4} M konsantrasyonunda 72 saat uygulama süresi sonundaki durum; Ap kromatid kırıklar



Şekil 4. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-7} M konsantrasyonunda 72 saat uygulama süresi sonundaki durum; Cq kromatid kırıklar



Sekil 5. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-7} M konsantrasyonunda 48 saat uygulama süresi sonundaki durum; Dg, Dg assiasyonu



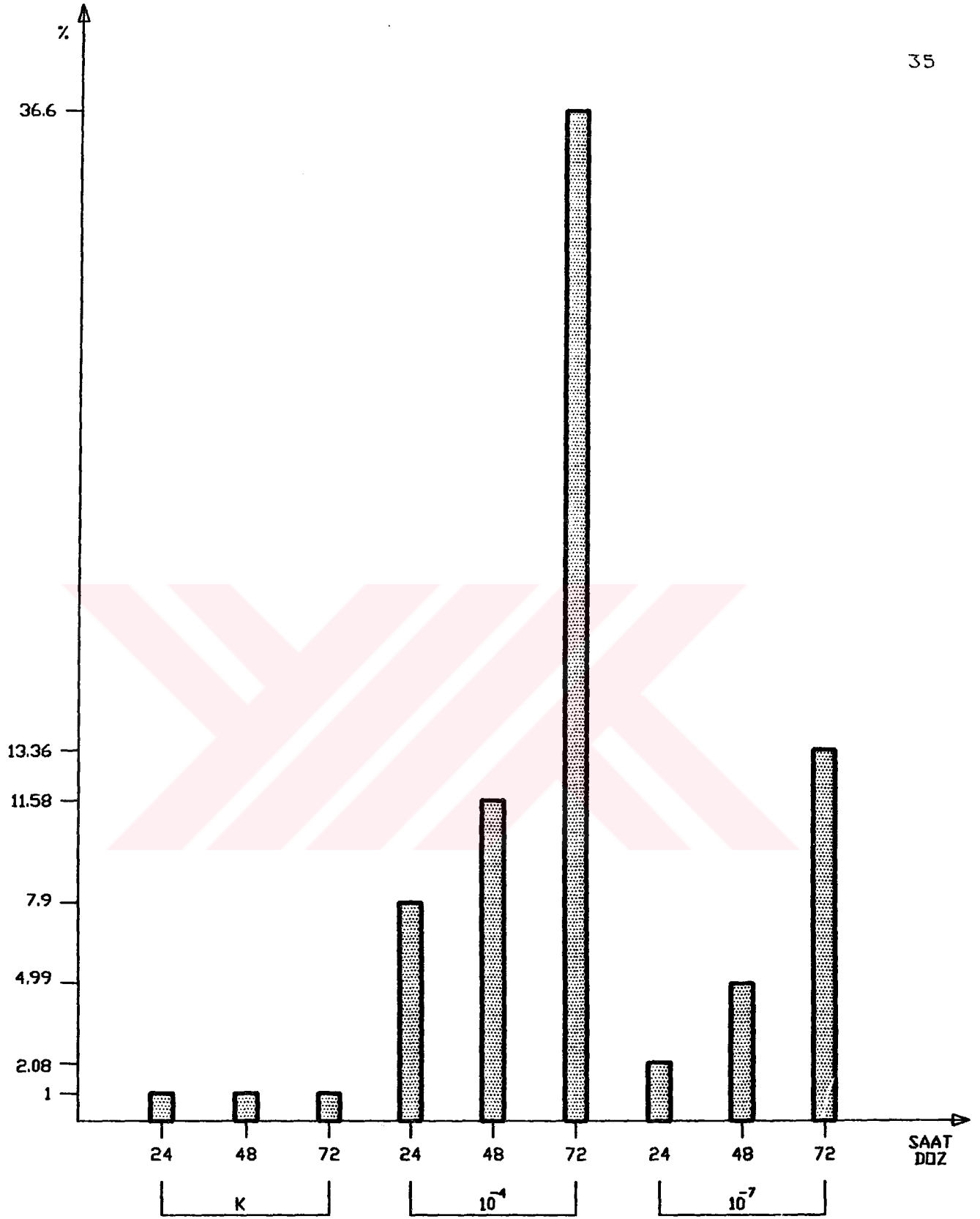
Sekil 6. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-4} M konsantrasyonunda 24 saat uygulama süresi sonundaki durum; Ap kırık



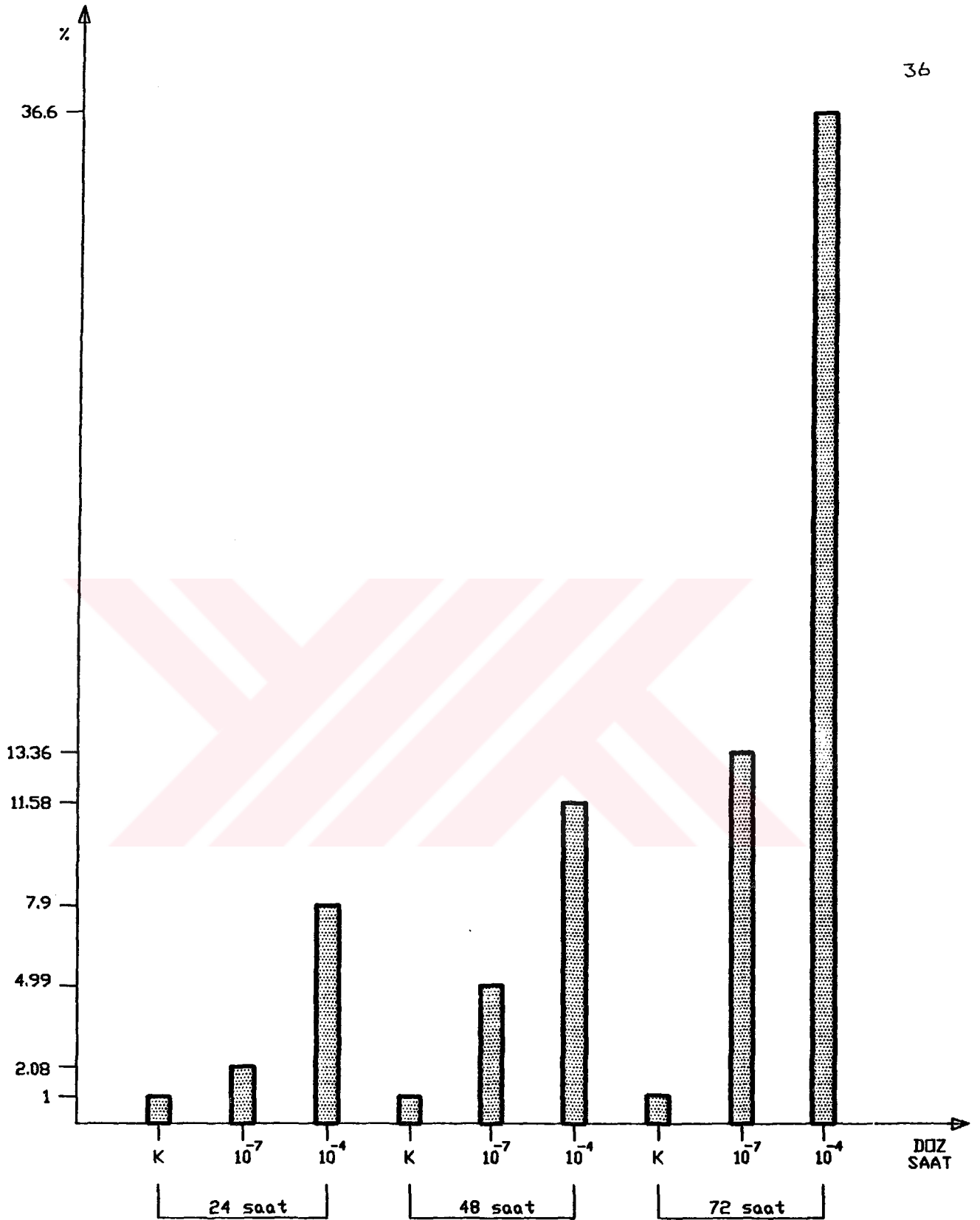
Sekil 7. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-7} M konsantrasyonunun 72 saat uygulama süresi sonundaki durum; gap kromozom



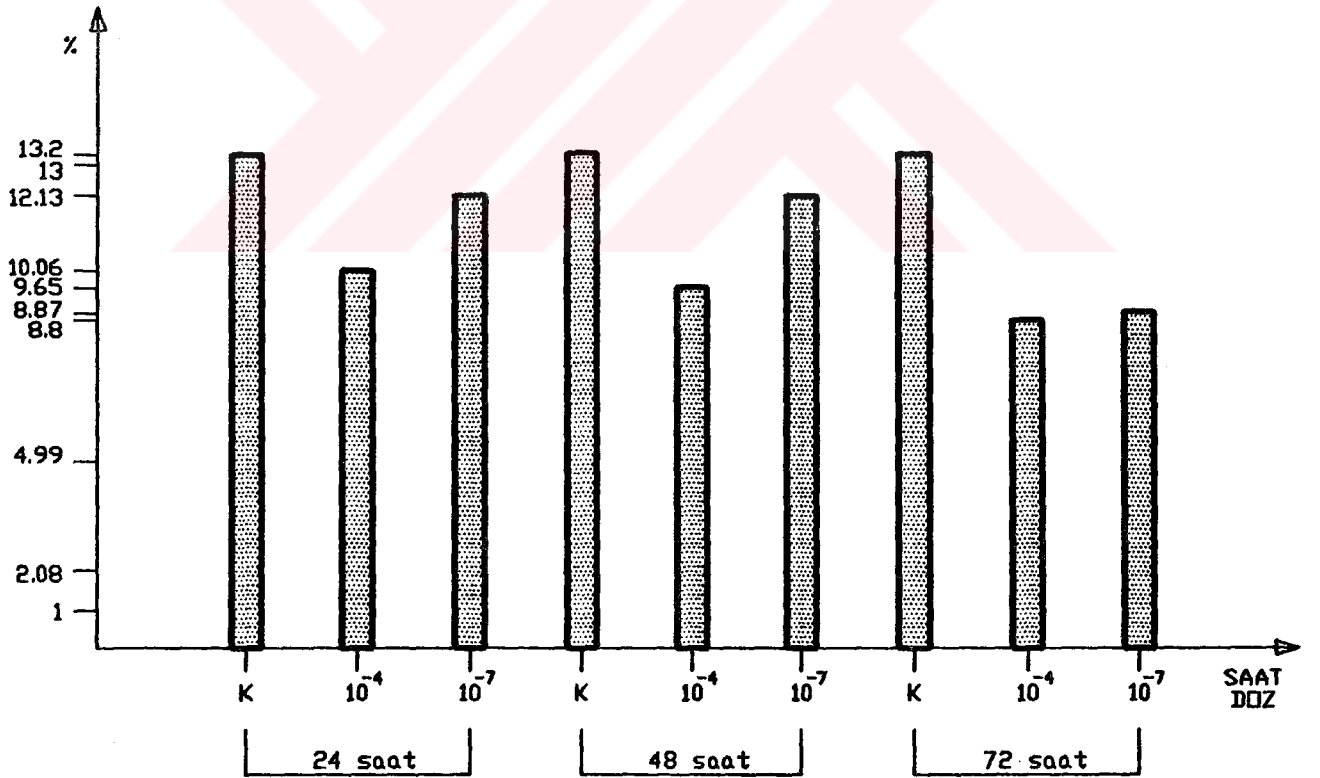
Sekil 8. insan kromozomlarında 2,4-D'nin 10^{-4} M konsantrasyonunda 48 saat uygulama süresi sonundaki durum; polikirik kromozom



DOZAJ DEĞİŞİMLERİNE GÖRE KROMOZAL KIRILMALARININ
KONTROL GRUBUYLA KARŞILAŞTIRILMASI



SAATLERE GÖRE KROMOZAL KIRILMA DEĞİŞİMLERİNİN
KONTROL GRUBUYLA KARŞILAŞTIRILMASI



**MITOTİK İNDEKS DEĞERLERİ
KONTROL GRUBUYLA KARŞILAŞTIRILMASI**

9. ÖZGEÇMİŞ

- 1969 Şanlıurfa'da doğdu. İlk ve orta öğrenimini Diyarbakır'da tamamladı.
- 1990 Dicle Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünü bitirdi.
- 1991 Dicle Üniversitesi Fen - Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünde Yüksek Lisans başladı.
- 1994 Amid Lisesi'nde Biyoloji öğretmeni olarak görevine devam etmektedir.