

T. C  
DICLE ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

# GENTAMYCİN'İN İNSAN KROMOZOMLARI ÜZERİNE İN VİTRO ETKİLERİ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Sema AGÜLOĞLU

T.C. DICLE ÜNİVERSİTESİ KÜTÜPHANESİ	
Bibliyografya No	0037351
Kitap No	574-87322
	AGÜ

1991

DIYARBAKIR - 1991

7

## İ Ç İ N D E K İ L E R

	<u>Sayfa</u>
1. Giriş . . . . .	1
2. Genel Bilgiler . . . . .	4
2.1. Mutajenler . . . . .	4
2.2. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler . . . . .	7
2.2.1. Kromozomların Morfolojik Özellikleri . . . . .	7
2.2.2. Kromozom Düzensizlikleri . . . . .	7
2.3. Gentamycin Hakkında Genel Bilgiler . . . . .	9
2.3.1. Gentamycinin Kimyasal Yapısı ve Özellikleri . . . . .	9
2.3.2. Gentamycinin Etki Mekanizması ve Antibakteriyel Özellikleri . . . . .	9
2.4. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları . . . . .	11
3. Gereç ve Yöntem . . . . .	13
3.1. Gereç . . . . .	13
3.1.1. Araştırma Populasyonu . . . . .	13
3.1.2. Kimyasal Maddeler . . . . .	13
3.1.3. Solüsyonlar . . . . .	13
3.1.4. Kültür Ortamı . . . . .	14
3.1.5. Diğer Gereçler . . . . .	14
3.2. Yöntem . . . . .	15
3.2.1. Kromozom Elde Etme Yöntemi . . . . .	15
3.2.2. Değerlendirme . . . . .	17
4. Bulgular . . . . .	19
4.1. Düzensizlik İçeren Hücrelere Ait Bulgular . . . . .	19
4.2. Yapısal Düzensizliklere Ait Bulgular . . . . .	20
4.3. Düzensizliklerin İstatistiksel Değerlendirilmesi . . . . .	21
4.3.1. Aynı Sürede Farklı Dozlarda Oluşan Yapısal Düzensizliklerin Önem Kontrolü . . . . .	23
4.3.2. Aynı Dozda Farklı Sürelerde Oluşan Yapısal Düzensizliklerin Önem Kontrolü . . . . .	24
4.3.3. Ortalamalar Arası Farkın Önem Kontrolü . . . . .	26

	<u>Sayfa</u>
4.3.4. Deneklerin Gentamycinden Etkilenme Dereceleri . . .	27
4.4. Mitotik İndekse Ait Bulgular . . . . .	27
4.4.1. Mitotik İndeks Bulgularının İstatistiksel Değerlendirme- dirmesi . . . . .	28
4.4.2. Mitotik İndeksin Toplam Ortalamalarının İstatistik- sel Değerlendirmesi . . . . .	30
4.5. Bulgulara Ait Çizelge ve Şekiller . . . . .	32
5. Tartışma . . . . .	49
6. Özet . . . . .	56
7. Summary . . . . .	57
8. Kaynaklar . . . . .	58

## 1. GİRİŞ

Yeryüzünde filogenetik sınıflandırması yapılmış, 1.7 milyon civarında canlı türünün yaşadığı belirlenmiştir (72). Bu canlı türlerini birbirinden ayıran başlıca faktör, hücrelerde türe özgü sayıda bulunan kromozomlar ve kromozomların gen içeriğidir. Kromozom sayıları eşit türler olabilmekle beraber, kromozomların gen içeriği türlere göre farklılıklar gösterir. Bu durum, yani kromozomu oluşturan genlerin sayı ve dizilişlerindeki farklılıklar, türlerin filogenetik sistemdeki yerlerinin yaklaşması ile azalırken, uzaklaşması ile artış gösterir (5,16,67,72).

Aynı türe ait bireylerin, kromozom sayıları eşit ve taşıdıkları genler özdeş olmakla birlikte, genleri oluşturan nükleotidlerin dizilişlerindeki küçük farklar nedeniyle aynı genlerin yönetimindeki özellik ve karakterlerde farklılıklar gözlenir. Bu nedenle, aynı tür içinde tek yumurta ikizleri dışında, birbirine tamamen benzeyen bireylere rastlamak olası değildir (5, 16, 67, 72).

Bilindiği gibi, günümüzde başta insan olmak üzere tüm canlıları tehdit eden çevresindeki tehlikeler, her geçen gün yeni boyutlar kazanarak artmaktadır. İnsanlığın kullanımına sunulmuş, 2 milyon çeşitten fazla kimyasal madde mevcuttur. Her yıl ortalama 2.000-4.000 yeni kimyasal madde de kullanıma sunulmaktadır.

Besin maddelerinde doğal olarak bulunan bazı flavonoidler, pyrolyzidin alkaloidleri, renk verici ve koruyucu olarak kullanılan birçok madde- nin de mutajenik özelliklerinin varlığı, yeni yeni anlaşılmaktadır.

Büyük sanayii kentlerinde, sanayii artıklarının çevreye yayılması ve değişik amaçlarla organik kökenli fosil yakıtların yoğun olarak kullanılması ile çevre kirlenmesi ve buna bağlı birçok sağlık sorununu ortaya çıkarmıştır. 1984 yılında, Hindistan'ın Bhopal kentinde, kimyasal madde üreten bir fabrikadaki kaza sonucu etrafa yayılan zehirli gaz, 3400 insanın ölümüne, onbinlercesinin de yaralanmasına neden olmuştur. 1986'da Sovyetler Birliği'nin Chernobil nükleer santralindeki kaza da, yüzlerce can kaybına, binlerce yaralanmaya ve taşıdığı tehlikelerle, milyarlarca insanın korkulu anları yaşamasına neden olmuştur.

Pestisid adı verilen tarım ilaçlarının, yoğun biçimde kullanılması, besin zinciri boyunca kademe kademe yoğunlaşarak birikmekte ve kötü sonuçlar doğurmaktadır. Bitkisel ve hayvansal, tüm besinlerde biriken bu tür



insektisid rezidüleri, beslenme zincirinin son halkasında bulunan insan için, sürekli bir zehirlenme potansiyeli yaratmaktadır.

Çevreyi kirleten, doğal dengeyi bozarak yeni sorunların ortaya çıkmasına neden olan, canlıları değişik şekillerde ve değişik oranlarda zehirleyen (1), fizyolojik dengesini bozarak bazı enzimlerin engellenmesine neden olan, bir kısım enzim ve hormonların daha çok salınımını sağlayan (4), canlıların gelişimini etkileyen (3) ve içiçe yaşadığımız kimyasal maddelerin canlılar üzerindeki etkileri sorunu, günümüz araştırmacılarının son derece ilgisini çekmektedir. Bu nedenle, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılabilmesi için yöntemler geliştirilmiştir (6, 10).

Yapılan araştırmalar, doğal çevremize bulaştırdığımız pek çok kimyasal maddenin, karsinojenik veya mutajenik etkiye sahip oldukları gerçeğini ortaya koymuştur (2, 15, 18, 20, 30, 33, 38, 52, 53, 61, 64).

Özellikle ilaç olarak kullanılan sentetik maddelerin, (ki en önemlisi antibiyotikler) tehlikeleri araştırmacılar tarafından sezilmiş ve 1956 yılından sonra, kromozom tekniklerinin gelişmesini takiben incelenmeye başlanmıştır. Birçok ilacın prenatal gelişmeyi bozduğu, morfolojik değişimlere sebep olduğu, bazı ilaçların da embriyotoksik etkiye sahip olması yanı sıra, bazılarının da anomali nedeni olduğu görülmüştür (70). Gelişmiş toplumlarda antibiyotikler, genellikle uyuşturucu ilaçlar gibi işlem görmüş ve hiçbir antibiyotiğin reçetesiz alınması olanağı bulunmadığı gibi, antibiyotik duyarlılık testi (antibiyogram) ile uygun bir antibiyotik saptanmadan reçete yazılması önlenmiştir. Oysa ülkemizi de içinde bulunduğu bazı toplumlarda, antibiyotik kullanımı henüz belli ilkelere dayanmamaktadır.

40-45 yıldan beri kullanılmakta olan antibiyotikler, salgın ve enfeksiyöz hastalıklardan ölüm oranının birden azalmasına neden olmuş, özellikle ilk zamanlarda bu tip hastalıkların, tamamen ortadan kalkacağı fikri yaygınlaşmıştır. Ancak kısa bir süre sonra, mikroorganizmaların kemoterapötik ve antibiyotiklere karşı gösterdikleri, giderek de artış gösteren direnç durumu başlangıçtaki ümitleri zayıflatmıştır. Belli bir süre sonunda, enfeksiyonların % 80-90 kadarının bilinen antibiyotiklere direnç göstereceğine inanılmaktadır. Bu yüzden Amerika'da 1981 yılında yapılan 3 yıllık Antibiyotik Araştırma Konferansı'nda iki yol önerilmiştir (46):

- 1- Antibiyotiklerin nasıl kullanıldığı tekrar gözden geçirilmeli,
- 2- Antibiyogram gibi laboratuvar testleri yapılmalıdır.

Bazı antibiyotikler, nükleik asit sentezlerini memeli hücrelerinde de bozduğundan, böyle antibiyotiklerin kullanılmasında doz ve sürenin iyi ayarlanması gerekir (22).

Eldeki bilgiler, antibiyotiklerin sitogenetik etkileriyle ilgili araştırmaların, Cohen ve arkadaşlarının 1963 yılında (23), "Streptomycin'in İnsan Kromozomları Üzerine İn Vitro Etkileri" konulu deneysel çalışması ile başlamış olduğu kanısını vermiştir.

Bu çalışmada kullanılan gentamycin, uzun yıllar önce bulunmuş ve gerek ülkemizde gerekse dünyada en yaygın kullanılan antibiyotiklerden biridir. Gentamycin ve diğer aminoglikozitlerin, çok yaygın kullanılması ve buna bağlı olarak sayısız yararları yanında, yukarıda değinilen bazı riskleri de çağrıştırmaları, bu çalışmayı yapmaya karar vermemizin ana gerekçesini oluşturmuştur.

Bu amaçlar doğrultusunda, zevkle çalıştığım bu konuda gerekli teşvik, öneri ve yardımlarını esirgemeyen, çalışmalarımı yönlendiren değerli hocam Yrd.Doç.Dr. Celal ORTAKAYA'ya şükranlarımı belirtmeyi bir borç bilirim.

## 2. GENEL BİLGİLER

Bir mutajen, bölünmesi sırasında yavru hücrelere geçen genetik materyali başkalaştırarak, etki yapar ve bu hücreler böylece kalıtsal olarak geçebilen, yeni karakterler edinirler. Genetik materyaldeki bu başkalaşmalar ya bir veya birkaç nükleotidi, ya kromozomların sayısını ya da kromozom yapısını değiştirebilir (72). Eğer bir mutajen, insan germ hücreleri ya da cinsel olarak üreyen, herhangi bir başka organizma üzerine etki yaparsa, bazı döller bütün hücrelerinde, mutasyona uğramış genleri taşıyacaklardır.

Mutajen, somatik hücreler üzerine de etki yapabilir. Bu taktirde yaptığı etkiler, etkilenen hücrelerin tipine göre değişir, yine de gelecek döllere geçmez. Örneğin, Kemik iliği hücrelerinin çoğalması, kişinin bütün yaşamı boyunca sürer, bunların bölünmesiyle oluşan ürünler kana, alyuvar ve akyuvarlar halinde geçer. Bir süre sonra da ortadan kalkarlar ve yerlerini yenileri alır. Bu hücrelerin genetik materyalinin, çok başkalaşması hücre bölünmesinin normal olarak oluşmasını engelleyebilir. Bunun sonucunda kemik iliğinin fonksiyonunun azaldığı gözlenir.

Genetik materyalin benzer başkalaşması, erişkin yaşamda normal olarak artık bölünmeyen hücreleri, yeniden bölünmeye başlatmasıyla da görülebilir. Eğer böyle bir bölünmenin ürünleri, normal dokuları işgal eder ya da onların yerine geçerse, bunun sonucu kanserdir.

Her iki durumda da mutajen, kanserojen bir madde gibi davranmıştır. O halde denilebilir ki, mutajenez ile kanserojeniz arasında bir benzerlik vardır. Çünkü her ikisi de, temel genetik karakterde (fenotipte) kalıtsal değişiklikler yapmaktadır (49). Kanserojenizde mutasyon teorisini, ilk kez Boveri (19) ileri sürmüştür. Son zamanlarda bazı kanserojen kimyasal maddelerin ya da metabolitlerin, aynı zamanda mutajen özelliklerinin de bulunduğu ortaya çıkarılması, bu teoriyi güçlendirmiştir. Bugün bazı kimyasal maddelerin, teratojen, mutajen ve kanserojen etkiler yaptıkları söylenebilir. Fakat bu üç etkiden birini yapan bütün maddelerin, mutlaka öbür ikisini de ya da öbür ikisinden birini de yapabileceğini gösteren, hiçbir bilgi yoktur.

### 2.1. Mutajenler

İnsanın germ veya somatik hücrelerindeki gen mutasyonlarının, çevrede bulunan kimyasal maddelerin etkisinden mi ileri geldiği ve etkisinin ne öl-

çüde olduğu bilinmiyor, ama bazı gözlemler (41, 57) gizli güç olarak, bazı ciddi sorunların bulunduğunu göstermektedir. Örneğin;

1- Birçok madde, mikroorganizma ve böceklerde gen mutasyonları yapmıştır.

2- İnsanda spontan düşüklerde ve yeni doğmuş bebeklerde, oldukça sık kromozom anomalileri görülmüştür.

3- Laboratuvarda bazı ilaçlar, memeli sistemlerde in vivo ve insan somatik hücrelerinde mutasyon oluşturmuştur.

4- Kromozomların temel birimi olan nükleik asitlere etki eden kimyasal maddelerin kullanılması gittikçe artmaktadır.

Çevrede bulunan kimyasal maddelerden ileri gelebilecek mutajenez tehlikelerini en aza indirebilmek için yapılacak en önemli şey, bütün bu maddelerin insanda yapabilecekleri mutajen etkileri araştırmaktır. Nitekim, bunun yapılması olanaksız olduğu için, şu ana kadar ancak ilaçlar için böyle bir program yapılmış ve mutajen etkilerinin ana çizgileri çizilmiştir (56).

Mutajen ajanları ortaya çıkarmak ve tanımak için bir test, hatta bir grup test yeterli kabul edilmemeli ve birçok testlere başvurulmalıdır. Mutajen aktivite deneylerinin, memeliler üzerinde yapılması çok yerinde olur. Memeli olmayan sistemler üzerinde yapılan deneyler, yardımcı kabul edilmelidir (28).

Mutasyon, normal genlerin, bir hücreden ötekine geçişi veya yeniden karışması olmadan, nükleotidlerin, sayısında veya molekül yapısında ya da sıralanışında birdenbire olan değişikliktir (4). Bir başka tanımlamaya göre mutasyon, genetik materyalde birdenbire meydana gelen değişikliklerdir (74).

Mutajenlere ilişkin çalışmalar, ilk olarak 1940'da Auerbach tarafından, "Nitrojen Mustard Gazının Drosophila Üzerindeki Etkisi" konulu çalışma ile başlamıştır (12). Müller 1927'de ilk kez radyasyonun mutajenik olduğunu ileri sürmüştür (51). Auerbach ve Robson Drosophila'da nitrojen mustard gazının, mutasyonik etkilerini belirtti (51). 1943'de ise Oehlkers ve arkadaşları Uretan'ın kanserojen etki yaptığını ileri sürmüşlerdir (56). 1946'da Rapoport karbonik bileşiklerin mutasyonik etkilerini açıklamıştır (62). Daha sonra bu alandaki çalışmalar genişlemiş ve ilk kez 1961'de Cohen ve Lansky tarafından, nitrojen mustardın lenfosit kültürü üzerindeki etkileri açıklanmıştır (24). Son 20 yılda, kimyasal mutajenler hakkında oldukça geniş araştırmalar yapılmıştır. Örneğin, Röhsborn 1965 yılında ilk kez muta-

jenler hakkında genel bir özetleme yapmıştır (64). Mutasyon ve mutajenik ajanların kromozomlar üzerindeki etkilerine ilişkin araştırmalar, özellikle toksik değeri olan bileşikler ele alınarak araştırılmıştır (48).

Kafeinin neden olduğu kromozomal bozukluklar, oldukça fazladır (16, 42, 73). Nikotin ise, çeşitli kromozomal bozuklukların oluşumuna neden olan diğer bir kimyasal maddedir (2, 52, 71). Amidrolün insan lenfosit kültür hücrelerinde, yüksek dozlarda verildiği zaman, mitotik indeksi önemli derecede bozduğu izlenmiştir. Kromozomal yapıdaki bozukluk ise, kanserojen ve mutajenik olup, gap, kromatid kırılma ve izokromatid kırılması şeklinde belirtilmiştir (48). Lysergic Acid Diethylamid (LSD), kromozomlarda kırılma ve yeniden birleşmeler yapar (39).

Pestisidlerin kromozom üzerine etkileri, kromozom gapleri, telofaz ve anafaz köprüleri olarak tespit edilmiştir (9, 15, 21, 40, 45).

1976 yılında yapılan bir araştırmaya göre (40), kimyasal mutajenin insan lenfosit kromozomu üzerindeki etkileri, şu şekilde belirtilmektedir:

- 1- Kromatid kırılmaları ve çeşitli değişiklikler,
- 2- Kromozom tipi düzensizlikler (yüzükleşme, disentrik, asentrik kromozomlar v.b.). İnsan lenfosit kültürlerinde, in vivo çalışmalarda, kromozom kırılma ve değişimleri birarada bulunamamıştır.

İlaçların, insan genetiği ve sitogenetiğindeki etkileri, 2 bölümde incelenebilir (68):

- 1- İlaçların, bazı kalıtsal metabolik hastalıklara etkisi,
- 2- Kromozomlara olan etkisi.

Bunlar; ozon, alkilleyici ajanlar, antibiyotikler, nükleik asit analogları, lysergic acid diethylamid, sitotoksik ilaçlardır.

Çevresel mutajenlerin, canlılar üzerindeki etkilerinin testlendirilmesi bakımından önerilen yeni sistemin, gelecekte insanoğlu tarafından gerçekleştirileceği savunulmaktadır (26):

- 1- in vivo insan somatik mutasyonları saptanabilecektir.
- 2- Memelilerde, in vitro meiosis, özellikle somatik kültür hücrelerinde izlenebilecektir.
- 3- Memeli test sistemleri ile özel mutajenik ajanlar karşılaştırılabilecektir.

4- Populasyon sağıtımının düzenlenmesi sağlanacaktır.

5- İn vitro insan somatik mutasyonları geliştirilecektir.

6- Doku kültürü hücrelerinde, gen transferi söz konusu olacaktır.

7- Mikrobial ökaryotiklerde kromozom bozuklukları, kromozomal mutasyona karşı nokta mutasyon sınırlarını oldukça geliştirmektedir.

## 2.2. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler

### 2.2.1. Kromozomların Morfolojik Özellikleri

Işık mikroskobu kullanılarak, mitoz bölünmenin metafaz evresinde incelenebilen insan kromozomları 23 ( $2n:46$ ) çiftten ibarettir (Şekil 2). Normal kromozomlarda görülen doğal morfolojik özellikler şunlardır:

I. Sentromer: Boyandığında kromozomların en soluk boya alan kesimlidir. Kromozomlar, sentromerlerinin lokalizasyonuna göre, 3 gruba ayrılırlar. Her kromozomda bir tane olan sentromer, hücre bölünmesi sırasında kromozomların iğ ipliklerine tutunmasını sağlar.

a) Median (Metasentrik) Kromozom: Sentromeri ortada ve iki kolu birbirine eşit olan kromozomlardır.

b) Submedian (Submetasentrik) Kromozom: Sentromeri merkezden uzak ve iki kolu birbirine eşit olmayan kromozomlardır.

c) Akrosentrik Kromozom: Sentromeri, kromozomun bir ucuna çok yakın olan kromozomlardır.

II. Satellit: Belirli kromozomların kısa kollarına bağlı bulunan yuvarlak düğme biçimindeki kromatin materyalidir.

III. Sekonder Darlık: Sentromer tüm kromozomlarda bulunduğu halde bu oluşumu sadece belirli kromozomlarda (özellikle, 1, 3, 6, 9, 11 ve 16 no'lu kromozomlarda) görülür. Bu oluşum, sentromerden farklı ve ayrı özelliklere sahiptir. Satellitler gibi, bunların da çekirdekçik oluşumu ile ilgili oldukları sanılmaktadır (8, 16, 21, 31).

### 2.2.2. Kromozom Düzensizlikleri

Normal bireylerin otozomlarında, daima 46 olan kromozom sayısı, bazen sayı, şekil ve yapı bakımından bazı değişiklikler gösterebilmektedir (8, 16, 29).

#### A. Sayısal Kromozom Düzensizlikleri

I. Euploidy (Öploidi): Kromozom sayısındaki artış ya da azalmaların temel kromozom sayısının ( $n:23$ ) tam katları kadar olmasıdır.

1- Triploidi: Hücrede temel kromozom sayısının 3 katı kadar kromozom bulunması durumudur.

2- Tetraploidi: Hücrede temel kromozom sayısının 4 katı kadar kromozom bulunması durumudur.

3- Yüksek poliploidiler: Hücrede kromozom sayısının 4 katından fazla kromozom bulunması durumudur.

II? Aneuploidy (Anöploidi): Temel kromozom sayısının tam katları kadar olmayan artma ve azalma durumudur.

1. Hyperploidy(Hiperploidi): Kromozom sayısının  $2n+1$  ve  $2n+2$  şeklinde artmasıdır.

Hypoploidy(Hypoploidi): Kromozom sayısının  $2n-1$  ve  $2n-2$  şeklinde azalmasıdır.

#### B. Yapısal Kromozom Düzensizlikleri

1- Deletion (Eksilme): Kromozomdan küçük bir parçanın koparak ayrılmasıdır.

2- Duplication (Artma): Homolog olan ya da olmayan 2 kromozomun birinden kopan bir parçanın, başka bir kromozoma eklenmesidir.

3- Gap (Aralık): Kromozom kollarının herhangi bir bölgesinde kromatidin enini geçmeyen ve kromozom ekseninden sapmamış, boya almayan bir bölgenin görülmesidir.

3.1. Kromatid gap: Kromozomun bir kromatidinde görülen gap durumudur (Şekil 7-E, 10-B).

3.2. İzokromatid gap: Kromozomun her iki kromatidinde gap görülmesi durumudur.

3.3. Sentromer gap: Gap'ın sentromer bölgesinde görülmesidir (Şekil 7-D, 10-C).

4- Break (Kırık): Kromozomun herhangi bir bölgesinde bir kromatid enini aşan ve kromozom ekseninden sapan, boyanmamış bölgelerdir.

4.1. Kromatid kırık: Kırık olarak değerlendirilen düzensizliğin kromozomun bir kromatidinde görülmesi durumudur (Şekil 5-D, 7-A,B,C, 9-B,C, 10-A, 11-B).

4.2. İzokromatid kırık: Kırık olarak değerlendirilen düzensizliğin kromozomun her iki kromatidinin, eş kesimlerinde (loküs) görülmesi durumudur.

5- Dicentric (iki sentromerli) Kromozom: Kromozomda bir yerine, iki sentromer bulunmasıdır (Şekil 8, 11-A).



- 6- Quadriradial (Haç) Kromozomu: Büyük ve küçük submedian kromozomların kollarının, yanyana gelerek haç şeklini almasıdır.
- 7- Acentric (Sentromersiz) Kromozom: Kromozomda sentromerin bulunmaması durumudur (Şekil 5-A,B,C, 7-F,G, 10-D).
- 8- Fragment: Kopmuş kromatid parçacıklarıdır (Şekil 10-E).
- 9- Minute (Kromatin Damlacığı): Terminal delesyondan daha küçük olan asentrik fragment çiftleridir.
- 10- Minik Kromozom: Büyük ölçüde delesyona uğramış kromozomdur.
- 11- Ring (Halka): Kromozomun iki ucunda birleşerek yüzük görünümü alması durumudur. Sentromer içerenlere, sentrik ring denir ve genellikle asentrik fragmentle yanyana bulunur. Sentromer içermeyenlere ise asentrik ring denir. (Şekil 6, 9-A).
- 12- Yapışkanlık: Kromozomların birbirine tutunarak yığın haline gelmesidir.
- 13- Invertion (Ters Dönme): Bir kromozoma iki darbenin gelmesi sonucu kopan parçanın kaybolmadan kendi eksenini etrafında 180 derece dönerek eski yerine tutunmasıdır. Kırılma ve yeniden birleşme, kromozomun aynı kolunda olursa, parasentrik inversiyondan; kırılma ve yeniden birleşme noktaları sentromeri de içeriyorsa, perisentrik inversiyondan söz edilir.
- 14- Translocation (Yer Değiştirme): İki ayrı kromozomdan kopan parçanın yer değiştirerek kromozomlara tutunmasıdır.
- 15 İzokromozom: Sentromerin enlemesine bölünmesi durumudur.
- 16- Sentromer bölünmesinde asenkroni: Sentromerin aynı anda bölünmemesi durumudur.

### 2.3. Gentamycin Hakkında Genel Bilgiler

#### 2.3.1. Gentamycin'in Kimyasal Yapısı ve Özellikleri

Gentamycin, Actinomycetes'lerden Micromonospora purpurea'dan elde edilen bir antibiyotiktir. İlk olarak 1963'de, Weinstein ve arkadaşları tarafından izole edilmiştir. Gram (-) bakterilerin, şiddetli enfeksiyonlarına büyük tepki göstermektedir. Aminoglikozitler grubuna girmektedir. Aşağıda yapıları gösterilen C<sub>1</sub>, C<sub>2</sub> ve C<sub>1A</sub> kısımlarından oluşmuştur (Şekil 1).

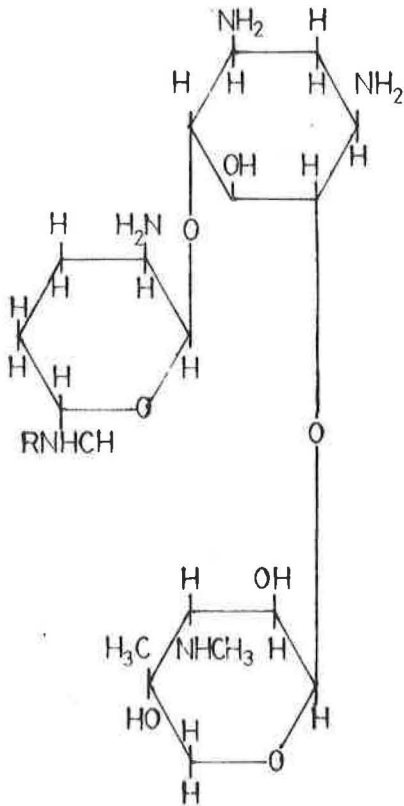
#### 2.3.2. Gentamycin'in Etki Mekanizması ve Antibakteriyel Özellikleri

Gentamycin, bakteriler üzerinde doza bağlı olarak değişen, bakterisid



bir etkiye sahiptir (63). *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli*, *Klebsiella* ve *Aerobacter*'e karşı etkilidir. *Haemaphysus influenzae*, *Acinetobacter*'ve *Bacteroidler* gentamycine karşı duyarlıdır. *Proteus* türleri, *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycoplasma pneumoniae* gentamycine büyük bir hassasiyet gösterirler. *Citrobacter*, *Salmonella*, *Shigella*, *Listeria*, *Brucella* ve bazı *Streptococcus* türleri ise normal bir hassasiyet gösterirler. *Neisseria gonorrhoeae*, *N. meningitidis*, *Clostridium* ve *Corynebacterium* nispeten dirençlidir. Gentamycinin bakterilere karşı etkisi, diğer aminoglikozitlerle aynıdır, fakat etkinlik açısından onlardan üstündür (63, 43).

Polar bir aminoglikozit olan gentamycin, gastrointestinal sistemden yavaş bir şekilde absorbe edilir. Gentamycinin kas içine enjeksiyonu yapıldıktan 1-1/2 saat sonra plazmada etkili konsantrasyona geçer. Plazmada 6-8 saat boyunca etkili konsantrasyonda kalır. Bütün aminoglikozitler gibi gentamycinin de, vücut içine diffüzyonu kısıtlıdır (35). % 80-90'ı dolaşımdan 12 saat içinde uzaklaştırılır. Gentamycinin terapötik dozu, 3 Mg/ml'dir. Gram (-) bakterilerin tedavisinde kullanılan, en önemli antibiyotiktir. Uriner bölge enfeksiyonları, bel soğukluğu, yanıklar, burun ve boğaz enfeksiyonları v.b. durumlarında etkili olmaktadır (11).



Gentamycin	R	R'
C <sub>1</sub>	CH <sub>3</sub>	CH <sub>3</sub>
C <sub>2</sub>	CH <sub>3</sub>	H
C <sub>1A</sub>	H	H

Şekil 1: Gentamycinin kimyasal yapısı

#### 2.4. Antibiyotiklerin Etki Mekanizmaları

İnsanda enfeksiyonları oluşturan etkenler, genellikle tek hücreli mikroorganizmalardır. Bunların metabolizmaları da memeli hücrelerinin metabolizmasına benzer. Bu bakımdan, enfeksiyonlarla, dolayısıyla mikroorganizmalarla mücadelede kullandığımız antimikrobikler, seçici bir toksik etki göstermelidirler. Antibiyotiklerin mikroorganizmalar üzerinde birkaç yönden etkilidirler:

1- Metabolik Antagonizm: Bu yolla etkide, mikroorganizma metabolizmasında yer alan maddelerden bir veya birkaç tanesi kimyasal yapı bakımından kendine benzeyen, fakat fonksiyonu başka olan maddelerle değişir. Böylece o maddenin girdiği reaksiyondan istenen sonuç elde edilemez ve hücre metabolizması bozulur. Örneğin, sülfanamidin etkisi.

2- Hücre duvarı sentezinin inhibisyonu: Hücre duvarını oluşturan mukopeptid tabaka bakterinin şeklini verdiği gibi, onu, dış etkilere, özellikle, osmotik basınç değişikliklerinin zararlarından korur. Değişik antimikrobikler, bu hücre duvarı sentezini değişik etaplarda inhibe ederler. Örneğin, penicilline.

3- Sitoplazmik membrana etki: Sitoplazmik membran, ortada lipid, her iki kenarda da protein tabakası olan 3 tabakadan oluşmuştur. Bazı antimikrobikler, bu tabakaların, birbirinden ayrılmalarına ve permeabilitenin artmasına neden olurlar. Örneğin, polymyxine, polyen antibiyotikler.

4- DNA sentezinin inhibisyonu: Nalidixic acid, griseofulvin gibi antimikrobikler DNA sentezini bozarak bakterileri etkilerler.

5- RNA sentezinin inhibisyonu: Rifamycin'ler, RNA-polymerase enzimini inaktive ederek, RNA sentezini durdururlar.

6- Protein sentezinin inhibisyonu: Hücrenin üremesi için, hücredeki biyokimik olaylar, periyodik olarak tekrarlanır, metabolizmanın devamı bu intrasellular düzene bağlıdır. Bazı antimikrobiklerde, bakteriler, protein sentezini bozarak, etkilerini gösterirler. Aminoglikozitler, genetik kodun yanlış okunmasına yol açar (7). Bu suretle, istenmeyen proteinler meydana gelmektedir. Bu proteinler ise, toksik etki göstermekte, sonuçta hücre ölmektedir. Örneğin, streptomycin, erithromycin, gentamycin, kanamycin, chloramphenicol (13, 17, 27, 34, 35, 63).

Kromozomlar, yüksek yoğunluktaki streptomycin, gentamycin, erithromycin, chloramphenicol ve tetracyclin'e karşı, yoğun bir eğilim göstermekte-

dir. Bazı araştırmalarda ise, annenin ve çocuklarında doğuştan gelen anomalilerin, antibiyotik tedavisi ve akraba evliliğinden ileri geldiği söylenebilir. Antibiyotiklerin, insan lökositlerinde, in vitro olarak, kromozom üzerine etkileri hakkında yapılan araştırmada, kromozomlar, antibiyotiğin yüksek konsantrasyonunda, birleşmelere eğilimli olduğu ve ayrıca mitozu inhibe ettiği açıklanmıştır (53). Çeşitli yoğunluktaki antibiyotik eriyiklerinin neden olduğu anomaliler, kromozom yapışkanlığı, despiralizasyon veya özellikle, kırılma, profaz ve metafazda redüksiyonel gruplar teşekkülü, multipolar anafaz ve nadir olarak kromozom parçalanması şeklinde saptanmıştır (3).

Son yıllarda sorunun, değişik yönleri ile ele alınması önem kazanmış, antibiyotik kullanım kuralları ile çalışmalar yoğunlaşmıştır (22, 32, 36, 53, 70).

### 3- GEREÇ VE YÖNTEM

#### 3.1. Gereç

##### 3.1.1. Araştırma Populasyonu

Çalışmada yaşları 25 - 33 arasında değişen 5 erkek birey kullanılmıştır. Deneklerin numaralarına göre yaş durumları; 1) 24, 2) 33, 3) 25, 4) 28, 5) 30 olup, yaş ortalaması 28'dir. Denekler yakın geçmişlerinde (son 5-6 ay içinde) virütik enfeksiyon geçirmemiş, herhangi bir antibiyotik ve benzeri kemoterapötik kullanmamış, radyoterapi görmemiş ya da radyasyon etkisinde kalmamış, sigara tiryakisi olmayan, tamamen sağlıklı bireyler arasından seçilmiştir.

##### 3.1.2. Kimyasal Maddeler

- a) TC Medium 199 (Difco, 5477- 72- 6)
- b) TC Fetal Calf Serum Desiccated (Difco, 5065- 67)
- c) Phytohemagglutinin M (Difco, 0528- 67)
- d) Colchicine (40 mg colchicine + 100 ml triple distile su)
- e) 0,075 M KCl çözeltisi (Potassium Chloride)
- f) Acetic acid glacial (Merck)
- g) Methanol (Merck)
- h) Xylol (Merck)
- ı) Giemsa Lösung (Merck)
- i) Heparin (Liquemine, Roche)
- j) Penicilline G- Potassium (1.000.000 ünite)
- k) Streptomycine Sulfate (1 gr'lık)
- l) Kanada Balzamu (Rhenohistol, Merck)
- m) Ethyl Alcohol
- n) Gentamycin
- o) Triple distile su
- ö) Parafin
- p) Aceton

##### 3.1.3. Solüsyonlar

- a) Kolşisin (Colchicine) Solüsyonu :  
40 mg kolşisin + 100 ml triple distile su
- b) Hipotonik Solüsyonu  
0.075 M KCl



- c) Tespit Solüsyonu (Fiksatif)  
3 kısım metanol + 1 kısım asetik asit glasiyal
- d) Penicilline Solüsyonu  
1.000.000 ünite penisilin G- Potasyum + 10 ml steril triple distile su
- e) Streptomycine Solüsyonu  
1 gr streptomisin sülfat + 10 ml steril triple su
- f) Phytohemagglutinin Solüsyonu  
5 ml fitoheamagglutinin M, Bacto + 5 ml steril triple distile su
- g) Boya Solüsyonu  
1 ml giemsa lösung + 19 ml distile su
- h) Gentamycin Solüsyonları
- I. Ana Stok Solüsyonu (240 Mg/ml)  
1 ml gentamycin + 41 ml TC Medium 199
- II. Stok Solüsyon I (120 Mg/ml)  
5 ml ana stok solüsyonu + 15 ml TC Medium 199
- III. Stok Solüsyonu II ( 60 Mg/ml)  
5 ml ana stok solüsyonu + 35 ml TC Medium 199
- IV. Stok Solüsyonu III ( 30 Mg/ml)  
5 ml ana stok solüsyonu + 75 ml TC Medium 199

#### 3.1.4. Kültür Ortamı

##### Periferik Kan Kültürü

- |                                 |        |
|---------------------------------|--------|
| a) TC Medium 199                | 80 ml  |
| b) TC Fetal Calf Serum Solution | 15 ml  |
| c) Phytohemagglutinin Solution  | 3,5 ml |
| d) Penicillin Solution          | 0.1 ml |
| e) Streptomycin Solution        | 0.1 ml |

#### 3.1.5. Diğer Gereçler

- a) Zaman ayarlı santrifüj (Hettich universal II)
- b) Etüv (Heraus)
- c) Kuru hava sterilizatörü (Köttermann)
- d) Mikroskop (Olymus)
- e) Duyarlı terazi (Bosch)
- f) Değişik çapta enjektörler ve pipetler
- g) 10 ml'lik kültür şişeleri
- h) Şaleler

- 1) 15 ml'lik konik santrifüj tüpleri
- i) Mezürler
- j) LâmEL (24X32 mm)
- k) Lam
- 1) Film (Orwo, siyah-beyaz, 15 dyn, 25 ASA)

### 3.2. Yöntem

Günümüzde kalıtsal hastalıklar, etiyolojilerindeki kalıtsal etkenin türüne göre aşağıdaki şekilde 3 gruba ayrılarak incelenirler:

#### I. Tekli Mutant Genlere Bağlı Olanlar

##### A. Otozomal Kalıtım

1. Otozomal Dominant
2. Otozomal Resesif

##### B. Gönozomal 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 ağacı, ikiz ve pedigri yöntemi gibi dolaylı yöntemlerle, polijenik olanlar geniş anlamda aile ve populasyon araştırmaları ile ve kromozomal olanlar ise karyotip analiziyle ortaya konabilmektedir (29, 31). Araştırmamızda amaç gerek spontan, gerekse kullanılan kemoterapötiğe bağlı olarak oluşan indüklenmiş kromozom düzensizliklerini saptamak olduğu için karyotip analizine başvurulmuştur.

##### 3.2.1. Kromozom Elde Etme Yöntemi

Çeşitli dokularda kromozomlar mitoz bölünmenin metafaz evresinde en iyi şekilde görülebilirler. Bu nedenle, kromozom incelemesinin yapılabilmesi için elimizde çok sayıda metafaz plağı bulunmalıdır. İncelediğimiz insan lenfositleri normal olarak %1 gibi düşük bir oranda kendiliğinden (spontan) mitoz bölünmeye girerler. Bu nedenle fitohemagglutinin denilen bir kimyasal madde ile hücre kültürlerinde üretilen lenfositlerin yapay olarak mitoz sokulmaları ve sonradan kolşisin adı verilen diğer bir kimyasal madde ile mitoz bölünmenin metafaz evresinde durdurulmaktadır (66).

Lenfositlerin fitohemagglutinin temasından 24 saat sonra, 2. mitoz bölünmeye girdikleri bilinmektedir (8, 23, 29, 50, 54, 58). Bu nedenle lenfositler, kültür ortamlarında 37 °C'de 72 saat bekletilirler. Bu süre içinde, hücrelerin canlılık ve üreme etkinliklerini sürdürebilmeleri için esasını aminoasitler, vitaminler ve minerallerin oluşturduğu heterolog insan serumu ya da dana serumu içeren kültür ortamlarında tutulmaları gerekir (8, 29, 50).

Bu çalışmada Moorhead ve arkadaşlarının geliştirdikleri standart ya da makrokültür tekniğinin modifiye şekli olan ve mikroteknik veya tüm kan tekniği olarak bilinen yöntemden yararlanılmıştır (50, 54, 59).

#### Preparasyon işlemleri

a) Gentamycinin uygulama konsantrasyonları belirlenirken, terapötik doz ve maximum tolere edilebilir doz olarak da 3 Mg/ml ve 12 Mg/ml'lik dozlar seçildi. Bu dozlar kültürlerle 6, 24 ve 48 saat süre ile uygulandı.

b) Steril malzeme kullanılarak, aseptik koşullarda hazırlanan stok kültür ortamı çözeltisinden, yine aseptik koşullarda 4,5 ml kültür şişelerine konup ağzı kapatılarak parafinden geçirildikten sonra buzdolabında donduruldu. Kullanılacağı zaman oda ısısında bekletilerek çözülmesi sağlandı.

c) Her denek için bir kez kullanılan heparinize edilmiş enjektör iğnesi ile 8 damla damlatılıp, ağzı kapatılarak 37°C'ye ayarlanmış etüve bırakıldı. Etüve bırakılan kültürlerin üzerine, daha sonra eklenecek kimyasal ile sahip olacağı ilaç derişimi ve kimyasalla etkileşme süresi ile ilgili bilgiler içeren etiketler yapıştirıldı.

Çalışmamızda, 3 ayrı doz ve 3 ayrı uygulama süresi ile bunların kontrollerinden oluşan her birey için 12 kültür hazırlandı (Çizelge 1).

d) Kültürün etüve bırakılış saatine göre, 48 saatlik kültüre 24. saatte, 24 saatlik kültüre 48. saatte, 6 saatlik kültüre de 66. saatte ilgili stok gentamycin çözeltilerinden, kontrol gruplarına 0,5 ml TC Medium eklendi.

e) Kültürdeki hücreleri, mitozun metafaz evresinde durdurmak için, 70. saatte 0,25 cc kolşisin çözeltilisinden eklenerek tekrar etüve yerleştirildi.

f) 72. saatin sonunda kültürler, etüvden alınarak üzerlerindeki etiketlerin benzeri bilgiler içeren santrifüj tüplerine aktarıldı. Tüpler



daha sonra, 800 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Boşalan kültür şişelerine ise 5 ml hipotonik ( 0.075 M KCl) çözeltisi eklendi.

g) Tüplerin üzerindeki sıvı (süpernatant) atılıp, tüplerin dibinde bırakılan hücre çöküntüsü üzerine 5 ml daha önce kültür şişelerine bırakılan hipotonik eklenerek pipetaj yapıldı. Hipotonik ortamda, hücre ve nükleus membranlarının parçalanması için 15 dakika bekletildikten sonra, tekrar 800 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi.

h) Santrifüj işlemi sonunda, tüplerin üzerindeki sıvı atılarak kalan çöküntü üzerine 5 ml fiksatif, (3 kısım metanol + 1 kısım asetik asit) yavaş yavaş damlatılarak pipetaj yapıldı, tekrar 800 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Çöküntüye fiksatif uygulamadaki amaç, nükleusları buldukları evrede tespit etmektir.

ı) Santrifüj işlemi sonrası fiksatif ile yapılan işlem 3 kez daha tekrarlanır. Tüpte kalan çöküntünün üzerini örtecek kadar fiksatif eklenip, pipetaj yapılarak pipete alındı. Her materyal, kültürlerle göre numaralandırılmış etiketler taşıyan, 5 adet lam üzerine damlatılarak yayma işlemi yapılan preparatlar kurumaya bırakıldı.

i) Preparatın boyama işlemi: Kuruma işlemi tamamlanmış lamaların üzerine, giemsa solüsyonu bırakılarak 20 dakika bekletilip preparatlardaki boya döküldükten sonra, saf sudan geçirilerek kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatların temizlenmesi için, 10-15 saniye süre ile, sırasıyla aseton, aseton-ksilol ve ksilol serilerinden geçirilerek tekrar kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatlara, kanada balzamu damlatılıp, lamel kapatılarak preparasyon işlemi tamamlandı.

### 3.2.2. Değerlendirme

Değerlendirme işlemi, önceden hazırlanan değerlendirme formuna gerekli bilgiler kaydedildikten sonra, preparatların mikroskop altında incelenmesi ile yapılmıştır. Preparat tarama işlemine küçük büyütme objektif (X10) ile başlayarak, iyi ve kaliteli metafazlar seçildikten sonra, immer-siyon objektifi ile ayrıntılı olarak incelenmiş ve spontan bulgular, mikroskop şaryo kayıt numarası ile birlikte, değerlendirme formundaki bölümlere kaydedilmiştir.

Metafaz plakları, kromozomlardaki sayı ve şekil düzensizlikleri açısından değerlendirilmişlerdir. Poliploid hücreler, X670 büyütmede fotoğraf alanına sığmaması nedeni ile, X268 büyütme ile fotoğrafları çekilmiştir.



Süre Doz	6 saat	24 saat	48 saat
3 Mg/ml	1	1	1
6 Mg/ml	1	1	1
12 Mg/ml	1	1	1
Kontrol	1	1	1

Çizelge 1: İlacın doz- süre kombinasyonları

Değerlendirmenin yansız olabilmesini sağlamak için preparatlar, herhangi bir sıraya bağlı olmaksızın incelenmişlerdir. Değerlendirme işlemi bittikten sonra, preparat numarası bilgi işlem formuna yazılmıştır. Metafaz plağındaki gözlenen düzensizliklerin değerlendirilmesinde, birçok araştırmacının uyulmasını önerdikleri ( 24, 66 ) ölçülere bağlı kalınmıştır.

İstatistiksel değerlendirmeler, Yurtsever (75), Özdamar (59), Kutsal ve Muluk (66) ile Tezok'un (69) kitaplarından yararlanılarak yapılmıştır.

#### 4. BULGULAR

Araştırma için seçilen, sağlıklı 5 bireyin her birinden alınan kan, 3 farklı doz ve 3 farklı süre kombinasyonu için, 9 kültür ortamına ve kontrol grubu için de 3 kültür ortamına ekilmiştir. Böylece, her bir denek için, 12 adet kültür ortamı kullanılmıştır. Giemsa boyama yöntemiyle hazırlanan preparatlardan, toplam 3671 metafaz kaydedilmiştir.

Kromozom elde etme çalışmaları, metafaz safhasında ve in vitro şartlar altında yapılmıştır. Çünkü anafaz plaklarının çok kısa sürede yüksek mitotik indeksler verdiği ve metafaz safhasının daha uygun olduğu belirtilmiştir (54).

Hazırlanan preparatlar, önce ışık mikroskopunun hafif büyütme objektifiyle taranmış (X67) ve sitoplazma artıklarından arınmış, konsantrasyonu orta derecede, kromatid kolları fazla uzaklaşmamış, birbirine paralel kromozomlar bulunduran, iyi boyanmış metafaz plakları seçilmiştir. Üst üste binmiş, kolları bükülmüş veya yanyana gelmiş plaklar dikkate alınmamıştır. Uygun metafaz plakları immersiyon objektifine alınarak şu işlemler yapılmıştır:

- a. Sayım: Metafaz plağındaki kromozomlar sayılarak kaydedildi.
- b. Fotoğraf: Uygun metafaz plaklarının immersiyon objektifiyle fotoğrafları çekildi.
- c. Fotoğraf üzerinde sayım: Daha sonra fotoğraf üzerindeki kromozomlar sayıldı.

Yöntemine uygun olarak hazırlanmış olan ve mikroskopta X670 büyütme ile incelenmiş metafazdaki hücrelerde, gözlenen düzensizlikleri içeren hücrelerden, sayısal kromozom düzensizlikleri içeren hücrelerin dikkate alınmayacak kadar az olduğu saptandı. Ancak plaklarda gözlenmiş olan poliploid hücrelerden ilginç bir fotoğraf verilmesinin uygun olacağı düşünülmüştür (Şekil 4).

##### 4.1. Düzensizlik İçeren Hücrelere Ait Bulgular

Çalışmada toplam olarak 3671 metafaz incelenmiş olup, 1133 tanesinde düzensizlik kaydedilmiştir. Bunları kontrol grubu ve deney gruplarına göre inceleyecek olursak; kontrol grubunda incelenen 975 metafazdan 55 tanesinde düzensizlik kaydedilmiştir. Kontrol grubunda düzensizlik içeren hücre yüzdesi 5.64 olarak bulunmuştur. 3 Mg/ml'lik doz sabit tutularak

6, 24 ve 48 saatlik uygulama sürelerinde toplam 988 metafaz incelenmiş, 222 tanesinde düzensizlik saptanmıştır. Düzensizlik içeren hücrelerin : toplam metafaz sayısına oranı % 22.46 olarak bulunmuştur. 6 Mg/ml'lik deney grubunda, 6, 24 ve 48 saatlik uygulama sürelerinde, toplam 927 metafaz incelenmiş olup, 340 tanesinde düzensizlik saptanmış ve toplam metafaz sayısına oranı %36.64 olarak bulunmuştur. Uygulanan 12 Mg/ml'lik doz ve 6, 24 ve 48 saatlik sürelerde incelenen, toplam 781 metafazdan 516 tanesinin düzensizlik içerdiği tespit edilmiş ve toplam metafaz sayısına oranı % 66.06 olarak bulunmuştur.

Düzensizlik içeren hücrelere ait bulgular, istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; gentamycin dozunun arttırılmasına paralel olarak sürenin arttırılmasının kromozomal düzensizlik oluşumunu fazlalaştırdığı ve doz sabit tutularak sürenin arttırılmasının düzensizlik içeren hücre oluşumunda artışa neden olduğu görülmüştür.

Gentamycin dozunun arttırılmasına paralel olarak düzensizlik içeren hücre sayısının arttığı, gentamycin uygulama süresinin artmasına bağlı olarak kromozom düzensizliği içeren hücre sayısında bir artış olduğu ve süre sabit tutularak dozun arttırılması ile düzensizlik içeren hücre sayısının arttığı belirlenmiştir.

#### 4.2. Yapısal Düzensizliklere Ait Bulgular

5 deneğe ait incelenen 3671 metafazdan, 1133'ünde toplam 2309 yapısal düzensizlik saptanmıştır. 410 metafazda 1, 236 metafazda 2, 132 metafazda 3, 81 metafazda 4'den fazla yapısal düzensizlik gözlenmiştir. Kontrol gruplarında yapısal düzensizlik oranı, 100 metafazda ortalama 5.02 iken, bu oran deney gruplarında % 83.82'ye yükselmektedir. Bu oranlar deneklere ait genel sonuç çizelgelerinde (Çizelge 17, 18, 19, 20, 21, 22) görüleceği gibi farklı doz-süre kombinasyonlarında değişiklikler göstermektedir. Çizelge 2'de yapısal düzensizlik tiplerinin sıklıkları gösterilmiştir.

En sık rastlanan düzensizlik tipleri Çizelge 2'de görüldüğü gibi, izokromatid kırık ve kromatid kırıktır. Kromatid ve izokromatid gap ile kırıkların toplam yapısal düzensizliklere oranı % 82.89'dur. En fazla kromatid ve izokromatid kırığa 12 Mg/ml doz ve 48 saatlik sürelerde rastlanmıştır. Sözü edilen doz ve sürede kaydedilen toplam 781 metafazda, 529

tane izokromatid kırık tipinde düzensizlik kaydedilmiş olup, toplam metafaz sayısına oranı % 67.73 olarak bulunmuştur. 330 tane de kromatid kırığa rastlanmıştır ve % 42. 25 oranında görülmüştür.

Görülen diğer düzensizliklerden fragment, sadece 48 saatlik kontrol grubunda saptanmıştır. Doz- süre kombinasyonu uygulanan bütün deney gruplarında görülmüş ve tüm yapısal düzensizliklere oranı % 9.61 olarak bulunmuştur. Disentrik kromozom, toplam 16 tane olup, yapısal düzensizliklere oranı % 0.69'dur. Haç kromozomu, tüm deney gruplarında toplam 17 tane görülmüş, kontrol gruplarında rastlanmamıştır. Tüm yapısal düzensizliklere oranı % 0.73 olarak bulunmuştur. Asentrik kromozoma ise 3 Mg/ml - 6 saatlik doz-süre kombinasyonları dışında bütün deney gruplarında rastlanmıştır. Toplam 37 tane asentrik kromozom kaydedilmiş olup toplam yapısal düzensizliklere oranı % 1.60'dır. 2 tane de ring kromozomuna rastlanmıştır. Ayrıca tanımlanamayan 7 düzensizlik kaydedilmiştir.

NO	Düzensizlik Tipi	Düzensizlik Sayısı	%'si
1	Kromatid Gap	346	14.98
2	Kromatid Kırık	589	25.50
3	İzokromatid Gap	125	5.41
4	Fragment	222	9.61
5	İzokromatid Kırık	854	36.98
6	Delesyon	94	4.07
7	Haç Kromozomu	17	0.73
8	Disentrik Kromozom	16	0.69
9	Asentrik Kromozom	37	1.60
10	Ring	2	0.08
11	İlginç Görüntü	7	0.30

Çizelge 2: Yapısal Düzensizlikler ve Sıklıkları

#### 4.4. Kromozom Düzensizliklerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi

Kontrol grubu, 3 Mg/ml, 6 Mg/ml ve 12 Mg/ml doz gruplarında gentamy-



cinin 6, 24 ve 48 saatlik uygulama süreleri sonrasında oluşan yapısal kromozom düzensizliklerine ait veriler, sayımla elde edilen değerlendirmelerdir. Bu veriler çalışmamıza uygun istatistiksel yöntemin uygulanabilmesi için Arc-Sin transformasyonu ile açı değerlerine çevrilmiştir. Daha sonra farklı doz-süre kombinasyonlarına genel olarak dozun, sürenin, etkileşimin aynı dozda, süre ve aynı sürede dozun etkisini belirlemek ve gruplara ait verileri birbirleriyle karşılaştırmak için çift yönlü varyans analizi-faktöryel planlama yöntemi ile test edilmiştir. Çizelge 3'de buna ilişkin kaynak tablosu çıkarılmıştır.

<u>KAYNAK</u>	<u>SıD.</u>	<u>K.T.</u>	<u>K.O.</u>
Genel Kareler Toplamı	59	909.85	15.421
Etki Grupları Arası K.T.	11	742. 50	67.50
Doz Grupları Arası K.T.	3	706.61	253.53
Süre Grupları Arası K.T.	2	26.70	13.35
Etkileşim K.T.	54	176. 54	3.26
Hata (gruplar içi) K.T.	48	167. 35	3. 486
Aynı Dozda Süre K.T.	8	35.90	4.487
Aynı Sürede Doz K.T.	9	715.74	79.526
Doz Grupları İçi K.T.	56	203.24	3.629

Çizelge 3: Farklı Doz-Süre Kombinasyonlarında Oluşan Yapısal Kromozom Düzensizliklerinin Kaynak Tablosu

Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre; gentamycin dozunun artırılması ile yapısal kromozom düzensizliklerinde artış olduğu ( $p > 0.01$ ), gentamycinin uygulama süresine bağlı olarak yapısal kromozom düzensizliklerinin arttığı ( $p > 0.05$ ), doz artışına paralel olarak sürenin arttırılmasının yapısal kromozom düzensizliklerinde artış meydana getirdiği ( $p > 0.05$ ), dozun sabit tutulup sürenin arttırılmasının kromozomlarda yapısal düzensizliği arttırdığı ( $p > 0.05$ ), ayrıca süre sabit tutularak dozun artırılması ile kromozomlarda yapısal düzensizliklerin arttığı ( $p > 0.01$ ) tespit edilmiştir(Çizelge 4).

KAYNAK	DF	p Değerleri	Tablo Değeri		Sonuç
			0.05	0.01	
Etkileşim	54-48	0.935	1.61	1.96	$p > 0.01$
Doz Grupları Arası Fark	3-48	67.564	2.80	4.22	$p > 0.01$
Süreler Arası Fark	2-48	3.825	3.19	5.08	$p > 0.05$
Aynı Dozda Süre Artışı	8-48	1.287	2.14	2.90	$p > 0.05$
Aynı Sürede Doz Artışı	9-48	24.394	2.08	2.80	$p > 0.01$

Çizelge 4: Yapısal Düzensizliklerin Hata Kareleri Ortalamasına Göre Belirlenmesi

#### Aynı Sürede Farklı Dozlarda Oluşan Yapısal Düzensizliklerin Önem Kontrolü

Gentamycinin 6 saatlik süre ile farklı dozlarda uygulanması sonucu meydana gelen yapısal kromozom düzensizlikleri ortalaması arasındaki fark gerçek önemli fark değerine göre değerlendirildiğinde; 6 Mg/ml - Kontrol grubu, 12 Mg/ml - Kontrol grubu, 12 Mg/ml - 3 Mg/ml'lik deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p > 0.05$ ), 3 Mg/ml - Kontrol grubu ve 6 Mg/ml - 3 Mg/ml'lik deney grupları arasındaki farkın anlamlı olmadığı ( $p < 0.05$ ) saptanmıştır (Çizelge 5).

Gentamycinin 24 saat süre ile farklı dozlarda uygulanması sonucunda meydana gelen yapısal düzensizlikleri ortalaması arasındaki fark, gerçek önemli fark değerine göre değerlendirildiğinde; 6 Mg/ml - Kontrol grubu, 12 Mg/ml - Kontrol grubu, 12 Mg/ml - 3 Mg/ml'lik deney grupları ve 12 Mg/ml - 6 Mg/ml'lik deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $p > 0.05$ ), 3 Mg/ml - Kontrol grubu ve 6 Mg/ml - 3 Mg/ml'lik deney grupları arasındaki farkın anlamlı olmadığı ( $p < 0.05$ ) saptanmıştır (Çizelge 6).

Gentamycinin, 48 saat süre ile ve farklı dozlarda uygulanması sonucunda meydana gelen yapısal kromozom düzensizlikleri ortalaması arasın-

<u>Karşılaştırılan Dozlar</u>	<u>I. Doz</u> <u>X's1</u>	<u>II. Doz</u> <u>X's1</u>	<u>Fark</u>	<u>G<sub>0.05</sub></u>	<u>SONUÇ</u>
3 Mg/ml-Kontrol	3.31	1.40	1.91	3.769	p<0.05
6 Mg/ml-Kontrol	5.64	1.40	4.24	3.769	p>0.05
6 Mg/ml-3 Mg/ml	5.64	3.31	2.33	3.769	p<0.05
12 Mg/ml-Kontrol	9.57	1.40	8.17	3.769	p>0.05
12 Mg/ml-3 Mg/ml	9.57	3.31	6.26	3.769	p>0.05
12 Mg/ml-6 Mg/ml	9.57	5.64	3.93	3.769	p>0.05

Çizelge 5: 6 saatlik uygulamada kontrol ve doz grupları ile grupların kendi aralarındaki ortalama değerler arası farkın önem kontrolü

<u>Karşılaştırılan Dozlar</u>	<u>I. Doz</u> <u>X's1</u>	<u>II. Doz</u> <u>X's1</u>	<u>Fark</u>	<u>G<sub>0.05</sub></u>	<u>SONUÇ</u>
3 Mg/ml-Kontrol	5.35	1.88	3.47	3.769	p<0.05
6 Mg/ml-Kontrol	6.77	1.88	4.89	3.769	p>0.05
6 Mg/ml-3 Mg/ml	6.77	5.35	1.42	3.769	p<0.05
12 Mg/ml-Kontrol	11.64	1.88	9.76	3.769	p>0.05
12 Mg/ml-3 Mg/ml	11.64	5.35	6.29	3.769	p>0.05
12 Mg/ml-6 Mg/ml	11.64	6.77	4.87	3.769	p>0.05

Çizelge 6: 24 saatlik uygulamada kontrol ve doz grupları ile grupların kendi aralarındaki ortalama değerler arasındaki farkın önem kontrolü

daki fark, gerçek önemli fark değerine göre değerlendirildiğinde; 6 Mg/ml-Kontrol grubu, 12 Mg/ml-Kontrol grubu, 12 Mg/ml-3 Mg/ml'lik deney grubu ve 12 Mg/ml-6 Mg/ml'lik deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu (p>0.05), 3 Mg/ml-Kontrol grubu ve 6 Mg/ml-3 Mg/ml'lik deney grupları arasındaki farkın anlamlı olmadığı (p<0.05) saptanmıştır (Çizelge 7).

#### 4.3.2. Aynı Dozda Farklı Sürelerde Oluşan Yapısal Düzensizliklerin Önem Kontrolü

Kontrol grubu ve 3 Mg/ml, 6 Mg/ml, 12 Mg/ml'lik deney gruplarında, 6 saat gentamycin uygulaması sonucunda oluşan yapısal kromozom düzensiz-

<u>Karşılaştırılan Dozlar</u>	<u>I. Doz <math>\bar{X}'s_1</math></u>	<u>II. Doz <math>\bar{X}'s_2</math></u>	<u>Fark</u>	<u><math>G_{0.05}</math></u>	<u>SONUÇ</u>
3 Mg/ml-Kontrol	4.64	1.54	3.10	3.769	$p < 0.05$
6 Mg/ml-Kontrol	7.57	1.54	6.03	3.769	$p > 0.05$
6 Mg/ml-3 Mg/ml	7.57	4.64	2.93	3.769	$p < 0.05$
12 Mg/ml-Kontrol	11.76	1.54	10.22	3.769	$p > 0.05$
12 Mg/ml-3 Mg/ml	11.76	4.64	7.12	3.769	$p > 0.05$
12 Mg/ml-6 Mg/ml	11.76	7.57	4.19	3.769	$p > 0.05$

Çizelge 7: 48 saatlik uygulamada kontrol ve doz grupları ile grupların kendi aralarındaki ortalama değerler arası farkın önem kontrolü.

likleri gerçek önemli fark düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ) (Çizelge 8).

<u>Süre / Doz</u>	<u>24 saat <math>\bar{X}'s_1</math></u>	<u>6 saat <math>\bar{X}'s_2</math></u>	<u>Fark</u>	<u><math>G_{0.05}</math></u>	<u>SONUÇ</u>
Kontrol Grubu	8.1	1.40	7.96	4.47	$p > 0.05$
3 Mg/ml	25.3	3.31	21.99	4.47	$p > 0.05$
6 Mg/ml	67.7	5.64	62.06	4.47	$p > 0.05$
12 Mg/ml	64.1	9.57	54.53	4.47	$p > 0.05$

Çizelge 8: Aynı dozda farklı sürelerin aritmetik ortalamaları arası farkın önem kontrolü.

Kontrol grubu ve 3 Mg/ml, 6 Mg/ml, 12 Mg/ml'lik deney gruplarında, 24 48 saat gentamycin uygulaması sonucunda oluşan yapısal kromozom düzensiz-



likleri, gerçek önemli fark düzeyinde, istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p > 0.05$ )(Çizelge 9).

Süre Doz	48 saat $\bar{X}'s_1$	24 saat $\bar{X}'s_1$	Fark	$G_{0.05}$	SONUÇ
Kontrol Grubu	15.4	8.1	7.3	4.47	$p > 0.05$
3 Mg/ml	46.4	25.3	21.1	4.47	$p > 0.05$
6 Mg/ml	75.7	67.7	8.0	4.47	$p > 0.05$
12 Mg/ml	76.1	64.1	12.0	4.47	$p > 0.05$

Çizelge 9: Aynı dozda farklı sürelerin aritmetik ortalamalar arası farkın önem kontrolü

Kontrol grubu ve 3 Mg/ml, 6 Mg/ml ve 12 Mg/ml'lik deney gruplarında, 6 ve 48 saat gentamycin uygulaması sonucunda oluşan yapısal kromozom düzensizlikleri sonucunda oluşan yapısal kromozom düzensizlikleri gerçek önemli fark düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bulunmuştur ( $p > 0.05$ ) (Çizelge 10).

Süre Doz	48 saat $\bar{X}'s_1$	6 saat $\bar{X}'s_1$	Fark	$G_{0.05}$	SONUÇ
Kontrol Grubu	15.4	1.40	14.0	4.77	$p > 0.05$
3 Mg/ml	46.4	3.31	43.09	4.47	$p > 0.05$
6 Mg/ml	75.7	5.64	70.06	4.47	$p > 0.05$
12 Mg/ml	76.1	9.57	66.53	4.47	$p > 0.05$

Çizelge 10: Aynı dozda farklı sürelerin aritmetik ortalamaları arası farkın önem kontrolü

#### 4.3.3. Ortalamalar Arası Farkın Önem Kontrolü

Daha önce yapılan varyans analizinde, aynı sürede dozlar arasındaki farkın yapısal düzensizlikler açısından, önemli düzeyde anlamlı olduğu bu-

lunmuştur. Aynı sürede, doz grupları içi farkın ise gerçek önemli fark değerinden farklı olmadığı ( $p:2.11$  ve  $Q:0.05 - 4.29 = p < 0.05$ 'dir) saptanmıştır. Bu durumda, daha önce de uygulama süresi artışının, yapısal düzensizlik oluşumunu etkilemesi de gözönüne alınarak, süre dışlanıp doz ortalamaları farklarının, önem kontrolünün yapılması gerekir.

Süre gözönüne alınmadan doz grupları ortalamaları arası fark, gerçek önemli fark değeri ile karşılaştırıldığında, bütün doz grupları ve bütün deney grupları arasındaki farkın, istatistiksel olarak, önemli düzeyde anlamlı olduğu ( $p > 0.05$ ) saptanmıştır (Çizelge 11).

<u>Karşılaştırılan Dozlar</u>	<u>I. Doz <math>\bar{X}'_{s1}</math></u>	<u>II. Doz <math>\bar{X}'_{s1}</math></u>	<u>Fark</u>	<u><math>G_{0.05}</math></u>	<u>SONUÇ</u>
3 Mg/ml-Kontrol	66.55	24.12	24.43	2.11	$p > 0.05$
6 Mg/ml-Kontrol	99.97	24.12	75.85	2.11	$p > 0.05$
6 Mg/ml-3 Mg/ml	99.97	66.55	33.42	2.11	$p > 0.05$
12 Mg/ml-Kontrol	164.93	24.12	140.81	2.11	$p > 0.05$
12 Mg/ml-3 Mg/ml	164.93	66.55	98.38	2.11	$p > 0.05$
12 Mg/ml-6 Mg/ml	164.93	99.97	64.96	2.11	$p > 0.05$

Çizelge 11: Süre dışlandığında doz ortalamaları farklarının önem kontrolü

#### 4.3.4. Deneklerin Gentamycinden Etkilenme Dereceleri

5 ayrı deneğe ait, gentamycinin farklı doz-süre kombinasyonlarında oluşan yapısal kromozom düzensizliklerinin toplamı,  $\chi^2$  testi ile analiz edilmiş ve denekler arasında yapısal kromozom düzensizlikleri açısından önemli düzeyde fark olduğu ( $p:81.86$  ve  $\chi^2:9.488$ ,  $p > 0.05$ ) görülmüştür. . Bir başka deyişle yapısal kromozom düzensizliği oluşması bakımından denekler, gentamycinden farklı ölçülerde etkilenmişlerdir. Hangi deneklerin, gentamycinden daha çok etkilendiğini bulmak üzere yapılan  $\chi^2$  testinde ; 1,3 ve 4 numaralı deneklerde gözlenen yapısal kromozom düzensizliklerinin 2 ve 5 numaralı deneklere göre daha yüksek olduğu saptanmıştır.

#### 4.4 Mitotik İndekse Ait Bulgular

Kontrol grupları ile deney gruplarına ait preparatların her birinden, 1000 hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiş olup, çalışmada kullanılmış olan gentamycinin, hücrelerin mitoz girme oranları üzerine, herhangi

bir etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bulgular, Çizelge 12'de verilmiş; ayrıca gerekli istatistiksel değerlendirmeler de yapılarak, sonuçlar 13, 14, 15 ve 16 numaralı çizelgelerde sunulmuştur.

Mitotik indekse ait değerler, farklı doz ve sürenin uygulandığı denekler arasında da, belirgin farklılıklar göstermektedir. Tüm deneklere ait bulgular toplamının aritmetik ortalamaları ile yapılan karşılaştırmada; kontrol gruplarının genel aritmetik ortalaması 29.86 iken, 3 Mg/ml'lik deney grubunda 26.20'ye, 6 Mg/ml'lik deney grubunda 18.66'ya, 12 Mg/ml'lik deney grubunda ise 14.26'ya düştüğü gözlenmektedir.

Süre	I	II	III	IV	V	X	X
Doz							
Kontrol-6 saat	35	32	33	30	29	159	31.80
Kontrol-24 saat	30	33	25	28	29	145	29.00
Kontrol-48 saat	30	34	21	31	28	144	28.80
Kontrol Ortalaması	31.66	33.00	26.33	29.66	28.66	149.31	29.86
3 Mg/ml-6 saat	33	22	31	28	26	140	28.00
3 Mg/ml-24 saat	28	28	31	24	28	139	27.80
3 Mg/ml-48 saat	21	23	25	23	22	114	22.80
3 Mg/ml Ortalaması	27.33	24.33	29.00	25.00	25.33	131.00	26.20
6 Mg/ml-6 saat	21	15	24	21	20	101	20.20
6 Mg/ml-24 saat	23	20	23	18	18	102	20.40
6 Mg/ml-48 saat	13	13	21	16	14	77	15.40
6 Mg/ml Ortalaması	19.00	16.00	22.66	18.33	17.33	93.33	18.66
12 Mg/ml-6 saat	13	14	16	13	12	68	13.60
12 Mg/ml-24 saat	20	18	15	14	13	80	16.00
12 Mg/ml-48 saat	13	15	14	12	12	66	13.20
12 Mg/ml Ortalaması	15.33	15.66	15.00	13.00	12.33	71.33	14.26
Deney Grupları X'si	23.33	22.25	23.25	21.50	20.91	11.25	22.24

Çizelge 12: Deneklere ait mitotik indeks değerleri

#### 4.4.1. Mitotik İndeks Bulgularının İstatistiksel Değerlendirmesi

Deneklere ait, farklı doz - süre kombinasyonlarına ait mitotik indeks değerleri hesaplandıktan sonra, uygulanan her süre için kontrol grubu ve deney gruplarına ait bulgular, "t testi" uygulanarak gruplar arasında olup olmadığı ya da gentamycinin mitotik indeksi etkileyip etkilemediği belir-



lenmiştir.

- 6 Saatlik Sürede Mitotik İndeks Karşılaştırması

6 saatlik süre uygulamasındaki veriler karşılaştırıldığında, sadece kontrol grubundan 3 Mg/ml'lik deney grubuna geçişte mitotik indeks olgusunda herhangi bir değişiklik olmadığı ( $p < 0.05$ ), ancak diğer gruplar arasında mitotik indeksin oldukça önemli seviyede etkilendiği saptanmıştır ( $p > 0.05$ ) (Çizelge 13).

Karşılaştırılan Dozlar	p değeri	Tablo değeri		SONUÇ
		0.05	0.01	
Kontrol-3 Mg/ml	1.728	1.860	2.892	$p < 0.05$
Kontrol-6 Mg/ml	6.408	1.860	2.892	$p > 0.01$
Kontrol-12 Mg/ml	14.398	1.860	2.892	$p > 0.01$
3 Mg/ml-6 Mg/ml	3.228	1.860	2.892	$p > 0.01$
3 Mg/ml-12 Mg/ml	7.062	1.860	2.892	$p > 0.01$
6 Mg/ml-12 Mg/ml	4.094	1.860	2.892	$p > 0.01$

Çizelge 13: 6 saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması

- 24 Saatlik Sürede Mitotik İndeks Karşılaştırması

Gentamycinin 24 saatlik süre ile farklı dozlarda deneklere uygulanması sonucu elde edilen veriler karşılaştırıldığında; sadece kontrol grubundan 3 Mg/ml'lik deney grubuna geçişte mitotik indeks olgusunda herhangi bir değişiklik olmadığı ( $p < 0.05$ ), diğer kontrol grubu ve deney grupları arasındaki mitotik indeksin oldukça önemli seviyede etkilendiği ( $p > 0.01$ ), 6 Mg/ml'lik deney grubundan 12 Mg/ml'lik deney grubuna geçişte ise 0.05 önem seviyesinde etkilendiği saptanmıştır (Çizelge 14).

- 48 Saatlik Sürede Mitotik İndeks Karşılaştırması

Gentamycinin 48 saatlik süre ile farklı dozlarda deneklere uygulanması sonucu elde edilen veriler karşılaştırıldığında; kontrol grubundan 6 ve 12 Mg/ml'lik deney gruplarına geçişte mitotik indeks olgusunun etkilendiği ( $p > 0.05$ ), ancak diğer kontrol grubu ve deney grubu ile deney gruplarının kendi aralarında mitotik indeks olgusunun etkilenmediği saptanmıştır ( $p < 0.05$ ) (Çizelge 15).

Karşılaştırılan Dozlar	p değeri	Tablo değeri		SONUÇ
		0.05	0.01	
Kontrol-3 Mg/ml	0.70	1.860	2.892	$p < 0.05$
Kontrol-6 Mg/ml	5.00	1.860	2.892	$p > 0.01$
Kontrol-12 Mg/ml	7.05	1.860	2.892	$p > 0.01$
3 Mg/ml-6 Mg/ml	4.68	1.860	2.892	$p > 0.01$
3 Mg/ml-12 Mg/ml	6.88	1.860	2.892	$p > 0.01$
6 Mg/ml-12 Mg/ml	2.55	1.860	2.892	$p > 0.05$

Çizelge 14: 24 saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması

Karşılaştırılan Dozlar	p değeri	Tablo değeri		SONUÇ
		0.05	0.01	
Kontrol-3 Mg/ml	0.84	1.860	2.892	$p < 0.05$
Kontrol-6 Mg/ml	2.01	1.860	2.892	$p > 0.05$
Kontrol-12 Mg/ml	2.47	1.860	2.892	$p > 0.05$
3 Mg/ml-6 Mg/ml	1.15	1.860	2.892	$p < 0.05$
3 Mg/ml-12 Mg/ml	1.61	1.860	2.892	$p < 0.05$
6 Mg/ml-12 Mg/ml	0.50	1.860	2.892	$p < 0.05$

Çizelge 15: 48 saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması

#### 4.4.1.2. Mitotik İndeksin Toplam Ortalamalarının İstatistiksel Değerlendirilmesi

Kontrol gruplarının toplam ortalaması ile deney gruplarının tek tek ortalamaları karşılaştırıldığında; kontrol grubundan 12 Mg/ml'lik deney grubuna geçişte ve 3 Mg/ml'lik deney grubundan 12 Mg/ml'lik deney grubuna geçişte mitotik indeks olgusunun etkilendiği ( $p > 0.05$ ), diğer gruplar arasında mitotik indeksin etkilenmediği ( $p < 0.05$ ) saptanmıştır (Çizelge 16).

Karşılaştırılan Dozlar	p değeri	Tablo değeri 0.05	SONUÇ
Kontrol-3 Mg6ML	0.49	1.860	$p < 0.05$
Kontrol-6 Mg/ml	1.64	1.860	$p < 0.05$
Kontrol-12 Mg/ml	2.60	1.860	$p > 0.05$
3 Mg/ml-6 Mg/ml	1.15	1.860	$p < 0.05$
3 Mg/ml-12 Mg/ml	1.96	1.860	$p > 0.05$
6 Mg/ml-12 Mg/ml	0.78	1.860	$p < 0.05$

Çizelge 16: Mitotik indekse ait toplam ortalamaların istatistiksel değerlendirmesi

4.5.

BULGULARA AİT ÇİZELGE VE  
ŞEKİLLER

Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz Sa- yısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre %'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Düzen- sizlikler	Toplam Yapısal Düzen- sizlikler	Toplam Yapısal Düzen- sizliklerin İncelenen Met. Sayısına Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlikler	Toplam Düzensizlik %'
Kontrol-6 saat	283	271	12	4.24	6	2	1	1	-	-	-	10	3.53	2	1	13	4.59
Kontrol-24 saat	343	318	25	7.28	4	5	3	7	-	-	-	19	5.53	10	1	30	8.74
Kontrol-48 saat	349	331	18	5.15	9	-	4	6	-	1	-	20	5.73	4	-	24	6.87
3 Mg/ml-6 saat	323	267	56	17.33	13	5	24	18	2	5	1	68	21.05	10	1	79	24.45
3 Mg/ml-24 saat	330	237	93	28.18	21	5	29	40	6	20	7	128	39.09	8	-	136	41.21
3 Mg/ml-48 saat	335	262	73	21.79	12	8	30	29	2	8	6	95	28.35	9	3	107	31.94
6 Mg/ml-6 saat	327	237	90	27.52	37	9	47	54	6	4	4	161	49.23	4	-	165	50.45
6 Mg/ml-24 saat	327	199	128	39.14	31	15	69	85	8	20	4	232	70.64	7	1	240	73.39
6 Mg/ml-48 saat	273	151	122	44.68	27	18	52	84	15	24	7	227	83.15	5	5	237	86.81
12 Mg/ml-6 saat	284	127	157	55.28	56	27	125	139	10	31	5	393	138.73	1	-	395	139.08
12 Mg/ml-24 saat	268	89	179	66.59	80	19	124	194	19	42	15	493	183.95	3	1	497	185.44
12 Mg/ml-48 saat	229	49	180	78.60	50	12	81	196	26	67	31	463	201.74	1	3	466	203.49
TOPLAM	3671	2538	1133	30.86	346	125	589	854	94	222	79	2309	62.89	64	16	2389	65.07
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					9.42	3.40	16.04	23.26	2.56	6.04	2.15	62.89		1.74	0.43	65.07	

Çizelge 17: Deneklerin ait bulguların genel sonuçlar tablosu



Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz Sa- yısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre %'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Dü- zensizlikler	Toplam Yapısal Dü- zensizlikler	Toplam Yapısal Dü- zensizliklerin İn- celenen M.S. Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlik- ler	Toplam Düzensizlik %si
Kontrol-6 saat	35	33	2	5.71	1	-	-	-	-	-	-	1	2.85	-	1	2	5.71
Kontrol-24 saat	53	52	1	1.88	-	-	-	2	-	-	-	2	3.77	-	-	2	3.77
Kontrol-48 saat	82	81	1	1.21	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	1	-	1	1.21
3 Mg/ml-6 saat	47	45	2	4.25	-	-	-	2	1	-	-	3	6.38	1	-	4	8.51
3 Mg/ml-24 saat	44	34	10	22.72	1	1	2	4	1	4	2	15	34.09	1	-	16	36.36
3 Mg/ml-48 saat	73	63	10	13.69	-	1	4	4	-	-	1	10	13.69	1	-	11	15.06
6 Mg/ml-6 saat	57	41	16	28.07	6	1	11	18	1	1	1	39	68.42	1	-	40	70.17
6 Mg/ml-24 saat	57	45	12	21.05	3	1	1	7	2	-	-	14	24.56	3	-	17	29.82
6 Mg/ml-48 saat	25	13	12	48.00	1	-	4	7	-	1	-	13	52.00	1	-	14	56.00
12 Mg/ml-6 saat	53	33	20	37.73	3	1	11	15	-	-	1	31	58.49	-	-	31	58.49
12 Mg/ml-24 saat	43	9	34	79.06	14	4	28	41	5	9	4	105	244.18	-	-	105	244.18
12 Mg/ml-48 saat	32	9	23	71.87	3	1	6	15	5	5	4	39	121.87	-	-	39	121.87
TOPLAM	601	458	143	23.79	32	10	67	115	15	20	13	272	45.25	9	1	282	46.92
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					5.32	1.66	11.14	19.13	2.49	3.32	2.16	45.25		1.49	0.16	46.92	26.45

Çizelge 18: 1 numaralı deneğin genel sonuçlar tablosu

Kimyasalın Dozu  
ve  
Uygulama Süresi

	İncelenen Metafaz Sayısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre %'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Düzensizlikler	Toplam Yapısal Düzensizlikler	Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen M.S. Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlikler	Toplam Düzensizlik %'si
Kontrol-6 saat	71	68	3	4.22	1	1	-	1	-	-	-	3	4.22	1	-	4	5.63
Kontrol-24 saat	66	61	3	7.57	-	-	2	2	-	-	-	4	6.06	1	-	5	7.57
Kontrol-48 saat	52	50	2	3.84	1	-	-	-	-	-	-	1	1.92	1	-	2	3.84
3 Mg/ml-6 saat	81	63	18	22.22	8	3	9	5	-	2	-	27	33.33	1	1	29	35.80
3 Mg/ml-24 saat	85	61	24	28.23	6	2	11	9	2	2	1	33	38.82	3	-	36	42.35
3 Mg/ml-48 saat	66	54	12	18.18	-	2	7	7	-	-	1	17	25.75	-	-	17	25.75
6 Mg/ml-6 saat	81	54	27	33.33	15	2	9	16	1	1	-	44	54.32	1	-	45	55.55
6 Mg/ml-24 saat	63	30	33	52.38	5	5	17	18	2	4	-	51	80.95	1	-	52	82.35
6 Mg/ml-48 saat	50	24	26	52.00	4	6	10	26	2	5	3	56	112.00	-	-	56	112.00
12 Mg/ml-6 saat	60	37	23	38.33	10	1	8	12	2	2	1	36	60.00	-	-	36	60.00
12 Mg/ml-24 saat	47	7	40	85.10	15	6	27	65	9	3	6	131	278.72	-	-	131	278.72
12 Mg/ml-48 saat	47	7	40	85.10	16	3	16	45	14	17	6	117	248.93	-	1	118	251.06
TOPLAM	769	516	253	32.89	81	31	116	206	32	36	18	520	67.62	9	2	531	69.05
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					10.53	4.03	15.08	26.78	4.16	4.68	2.34	67.62		1.17	0.26	69.05	

Çizelge 19: 2 numaralı deneyin genel sonuçlar tablosu

Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz Sayısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre %'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Dü- zensizlikler	Toplam Yapısal Dü- zensizlikler	Toplam Yapısal Dü- zensizliklerin İn- celenen M.S. Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlikler	Toplam Düzensizlik %'si
Kontrol-6 saat	66	65	1	1.51	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	1	-	1	1.51
Kontrol-24 saat	97	90	7	7.21	2	1	-	-	-	-	-	3	3.09	3	1	7	7.21
Kontrol-48 saat	79	74	5	6.32	1	-	1	2	-	-	-	4	5.06	1	-	5	6.32
3 Mg/ml-6 saat	66	59	7	10.60	-	-	-	-	-	-	-	-	0.00	6	-	6	9.09
3 Mg/ml-24 saat	68	51	17	25.00	1	-	4	8	2	4	1	20	29.41	1	-	30	30.88
3 Mg/ml-48 saat	75	57	18	24.00	1	-	4	6	-	1	-	12	16.00	6	1	19	25.33
6 Mg/ml-6 saat	64	59	5	7.81	-	-	2	5	-	1	-	8	12.50	2	-	10	15.62
6 Mg/ml-24 saat	83	68	15	18.07	-	1	6	8	1	-	-	16	19.27	3	1	20	24.09
6 Mg/ml-48 saat	85	67	18	21.17	6	1	12	4	3	5	1	32	37.64	1	1	34	40.00
12 Mg/ml-6 saat	64	25	39	60.93	17	5	36	47	4	11	1	121	189.06	1	-	122	190.62
12 Mg/ml-24 saat	75	49	26	34.66	7	1	25	23	2	4	2	64	85.33	1	-	65	86.66
12 Mg/ml-48 saat	49	14	35	71.42	7	-	13	46	3	16	7	92	187.75	-	1	93	189.79
TOPLAM	871	678	193	22.15	42	9	103	49	15	42	12	372	42.70	26	5	403	46.26
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					4.82	1.03	11.82	17.10	1.72	4.82	1.37	42.70		2.98	0.57	46.26	

Çizelge 20: 3 numaralı deneğin genel sonuçlar tablosu

Kimyasalın Dozu  
ve  
Uygulama Süresi

Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz Sa- yısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre %'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Düzen- sizlikler	Toplam Yapısal Düzen- sizlikler	Toplam Yapısal Düzen- sizliklerin İncelenen Met. Sayısına Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlikler	Toplam Düzensizlikler % 'si
Kontrol-6 saat	54	51	3	5.55	3	-	-	-	-	-	-	3	5.55	-	-	3	5.55
Kontrol-24 saat	69	60	9	13.04	2	4	-	2	-	-	-	8	11.59	5	-	13	18.84
Kontrol-48 saat	73	64	9	12.32	7	-	2	4	-	1	-	14	19.17	1	-	15	20.54
3 Mg/ml-6 saat	67	53	14	20.89	3	1	9	10	-	1	-	24	35.82	-	-	24	35.82
3 Mg/ml-24 saat	64	43	21	32.81	12	1	7	5	1	5	1	32	50.00	2	-	34	53.12
3 Mg/ml-48 saat	62	47	15	24.19	9	3	6	4	-	4	3	29	46.77	1	-	30	48.38
6 Mg/ml-6 saat	62	39	23	37.09	9	4	12	10	4	1	3	42	67.74	-	-	42	67.74
6 Mg/ml-24 saat	63	28	35	55.55	14	7	19	29	3	9	2	83	131.74	-	-	83	131.74
6 Mg/ml-48 saat	53	19	34	64.15	10	5	17	26	4	3	1	66	124.52	2	2	70	132.07
12 Mg/ml-6 saat	60	18	42	70.00	19	11	39	41	2	9	1	122	203.33	-	-	122	203.33
12 Mg/ml-24 saat	51	14	37	72.54	18	3	17	30	1	13	1	83	162.74	1	1	85	166.66
12 Mg/ml-48 saat	49	9	40	81.63	5	4	20	43	2	9	7	90	183.67	-	1	90	185.71
TOPLAM	727	445	282	38.78	111	43	148	205	17	54	19	596	81.98	12	4	61	84.18
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					15.26	5.91	20.35	28.19	2.33	7.42	2.61	81.98		1.65	0.55	84.18	

Çizelge 21: 4 numaralı deneğin genel sonuçlar tablosu



Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz Sayısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre %'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Düzen- sizlikler	Toplam Yapısal Düzen- sizlikler	Toplam Yapısal Düzen- sizliklerin İncelenen Met. Sayısına Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlikler	Toplam Düzensizlik % 'si
Kontrol-6 saat	57	54	3	5.26	1	1	1	-	-	-	-	3	5.26	-	-	3	5.26
Kontrol-24 saat	58	55	3	5.17	-	-	1	1	-	-	-	2	3.44	-	-	3	5.17
Kontrol-48 saat	63	62	1	1.58	-	-	1	-	-	-	-	1	1.58	-	-	1	1.58
3 Mg/ml-6 saat	62	47	15	25.19	2	1	6	1	1	2	1	14	22.58	2	-	16	25.80
3 Mg/ml-24 saat	69	48	21	30.43	1	1	5	14	-	5	2	28	40.57	1	-	29	42.02
3 Mg/ml-48 saat	59	41	18	30.50	2	2	9	8	2	2	2	27	45.76	1	2	30	50.84
6 Mg/ml-6 saat	63	44	19	30.15	7	2	13	5	-	1	-	28	44.44	-	-	28	44.44
6 Mg/ml-24 saat	61	28	33	54.09	9	1	26	23	-	7	2	68	111.47	-	-	68	111.47
6 Mg/ml-48 saat	60	28	32	53.33	6	6	9	21	6	10	2	60	100.00	1	2	63	105.00
12 Mg/ml-6 saat	47	14	33	70.21	7	9	31	24	2	9	1	83	176.59	-	-	83	213.46
12 Mg/ml-24 saat	52	10	42	80.76	26	5	27	35	2	13	2	110	211.53	1	-	111	213.46
12 Mg/ml-48 saat	52	10	42	80.76	19	4	26	47	2	20	7	125	240.38	1	-	126	242.30
TOPLAM	703	441	262	37.26	80	32	155	179	15	69	19	549	78.09	8	4	561	79.80
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					11.37	4.55	22.04	25.46	2.13	9.81	2.70	78.09		1.13	0.56	79.80	

Çizelge 22: 5 numaralı deneğin genel sonuçlar tablosu

Kıyasalın Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz Sayısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sa- yısı	Düzensizlik İçeren Hücre %'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Düzensizlik- ler	Toplam Yapısal Düzensizlik % 'si	Toplam Yapısal Düzensizlik- lerin İncelenen Metafaz Sa- yısına Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlik	Toplam Düzensizlik %'si
Kontrol-6 saat	283	271	12	4.24	6	2	1	1	-	-	-	10	3.53	2	1	13	4.59
Kontrol-24 saat	343	318	25	7.28	4	5	3	7	-	-	-	19	5.53	10	1	30	8.74
Kontrol-48 saat	349	331	25	5.15	9	-	4	6	-	1	-	20	5.73	4	-	24	6.87
TOPLAM	975	920	55	5.64	19	7	8	14	-	1	-	49	5.02	16	2	67	6.87
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					1.94	0.71	0.82	1.43	-	1.10	-	5.02		1.64	0.20	6.87	

Çizelge 23: Kontrol gruplarının farklı sürelerdeki kromozomal düzensizlik bulguları

<u>Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi</u>	<u>İncelenen Metafaz Sayısı</u>	<u>Normal Metafaz Sayısı</u>	<u>Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı</u>	<u>Düzensizlik İçeren Hücre % 'si</u>	<u>Kromatid Gap</u>	<u>izokromatid Gap</u>	<u>Kromatid Kırık</u>	<u>izokromatid Kırık</u>	<u>Eksilme (Deletion)</u>	<u>Fragment</u>	<u>Diğer Yapısal Düzensiz- likler</u>	<u>Toplam Yapısal Düzen- sizlikler</u>	<u>Toplam Yapısal Düzensiz- liklerin İncelenen Me- tafaz Sayısına Oranı</u>	<u>Endomitoz</u>	<u>Endoreduplikasyon</u>	<u>Toplam Düzensizlikler</u>	<u>Toplam Düzensizlik % 'si</u>
3 Mg/ml-6 saat	323	267	56	17.33	13	5	24	18	2	5	1	68	21.05	10	1	79	24.45
3 Mg/ml-24 saat	330	237	93	28.18	21	5	29	41	6	20	7	129	39.09	8	-	136	41.21
3 Mg/ml-48 saat	335	262	73	21.79	12	8	30	29	2	8	6	95	28.35	9	3	107	31.94
TOPLAM	988	766	222	22.46	24	18	83	88	10	33	14	292	29.55	27	4	323	32.69
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					4.64	1.82	8.40	8.90	1.01	3.34	1.41	29.55		2.73	0.40	32.69	

Çizelge 24: 3 Mg/ml'lik doz ve farklı sürelerde Gentamycinin neden olduğu kromozomal düzensizlik bulguları

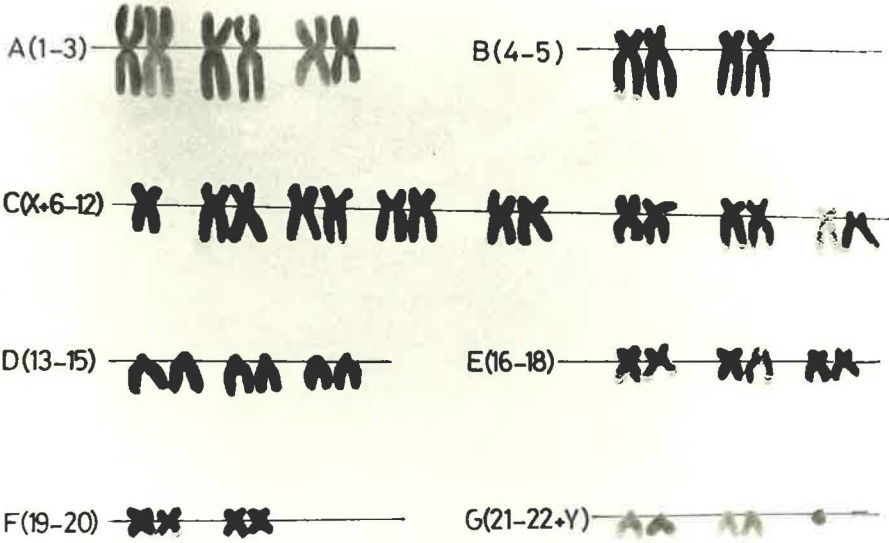
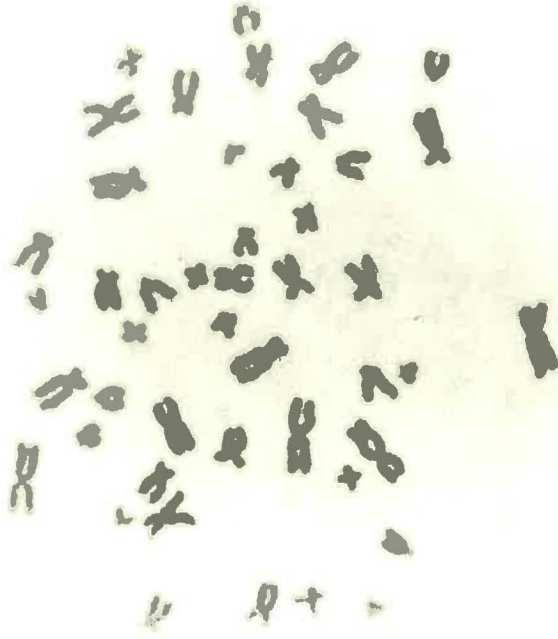


Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz Sayısı	Normal Metafaz Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre % 'si	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Deletion)	Fragment	Diğer Yapısal Düzensiz- likler	Toplam Yapısal Düzensiz- likler	Toplam Yapısal Düzensiz- liklerin İncelenen Me- tafaz Sayısına Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam Düzensizlikler	Toplam Düzensizlikler % 'si
6 Mg/ml-6 saat	327	273	90	27.52	37	9	47	54	6	4	4	161	49.23	4	-	165	50.45
6 Mg/ml-24 saat	327	199	128	39.14	31	15	69	85	8	20	3	231	70.54	7	1	240	73.39
6 Mg/ml-48 saat	273	151	122	44.68	27	18	52	84	15	24	7	227	83.15	5	5	237	86.81
TOPLAM	927	587	340	36.67	95	42	168	223	29	48	14	619	66.77	16	6	641	69.14
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					10.24	4.53	18.12	24.05	3.12	5.17	1.51	66.77		1.72	0.64	69.14	

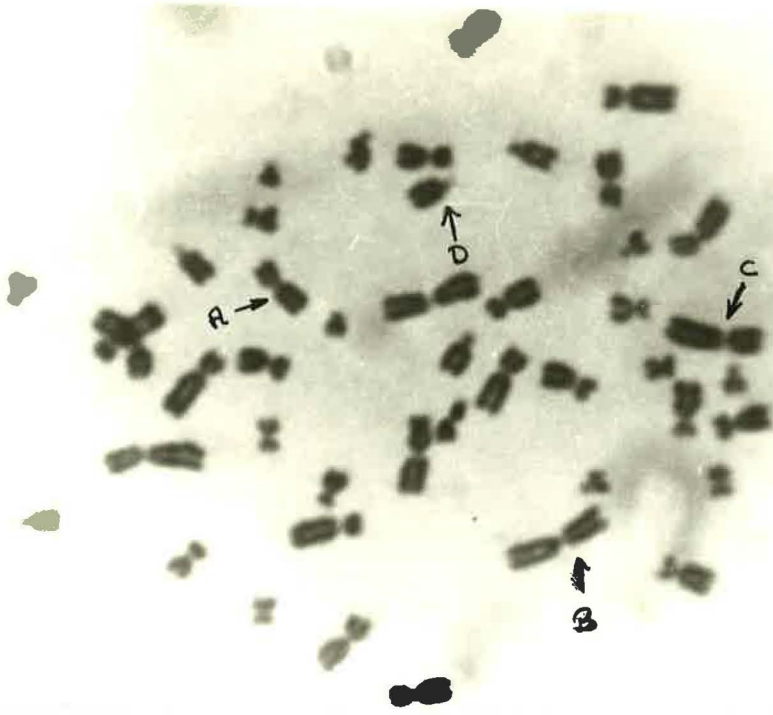
Çizelge 25: 6 Mg/ml'lik doz ve farklı sürelerde Gentamycinin neden olduğu kromozomal düzensizlik bulguları

<u>Kimyasalın Dozu ve Uygulama Süresi</u>	<u>İncelenen Metafaz Sayısı</u>	<u>Normal Metafaz Sayısı</u>	<u>Düzensizlik İçeren Hücre sayısı</u>	<u>Düzensizlik İçeren Hücre %'si</u>	<u>Kromatid Gap</u>	<u>İzokromatid Gap</u>	<u>Kromatid Kırık</u>	<u>İzokromatid Kırık</u>	<u>Eksilme (Deletion)</u>	<u>Fragment</u>	<u>Diğer Yapısal Düzensizlikler</u>	<u>Toplam Yapısal Düzensizlikler</u>	<u>Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı</u>	<u>Endomitoz</u>	<u>Endoreduplikasyon</u>	<u>Toplam Düzensizlik</u>	<u>Toplam Düzensizlik %'si</u>
12 Mg/ml-6 saat	284	127	157	55.28	56	27	125	139	10	31	6	394	138.73	1	-	395	139.08
12 Mg/ml-24 saat	268	89	179	66.79	86	19	224	194	19	42	15	493	183.95	3	1	497	185.44
12 Mg/ml-48 saat	229	49	180	78.60	50	12	81	196	26	67	30	462	201.74	1	3	466	203.49
TOPLAM	781	265	516	66.06	186	58	330	529	55	140	51	1349	172.72	5	4	1358	173.87
Toplam Yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı					23.81	7.42	42.25	67.73	7.04	1.79	6.53	172.72		0.64	0.51	173.87	

Çizelge 26: 12 Mg/ml'lik doz ve farklı sürelerde Gentamycinin neden olduğu kromozmal düzensizlik bulguları



Şekil 2: Denver sistemine göre hazırlanmış, normal bir erkeğe ait karyotip.



Şekil 3: A. Sentromer, B. Metasentrik kromozom, C. Submetasetrik kromozom, D. Akrosentrik kromozom.



Şekil 4:  $4n=92$  kromozomlu tetraploid hücre.

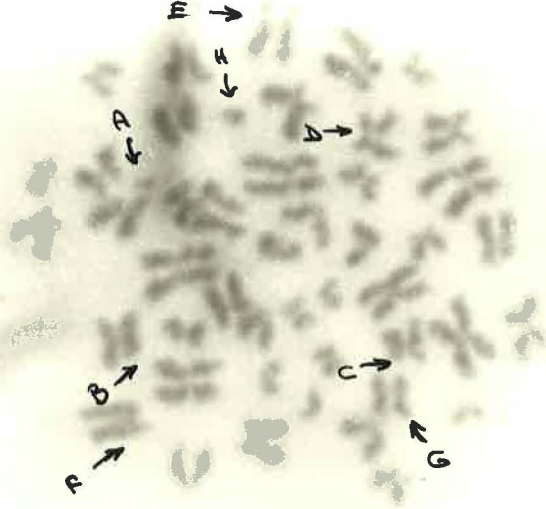


Şekil 5: 4 No'lu bireyin 6 Mg/ml-24 saatlik preparatında A,B,C, Sentromersiz kromozom, D, Kromatid kırık



Şekil 6: 3 No'lu bireyin 3 Mg/ml-6 saatlik preparatında ring kromozomu





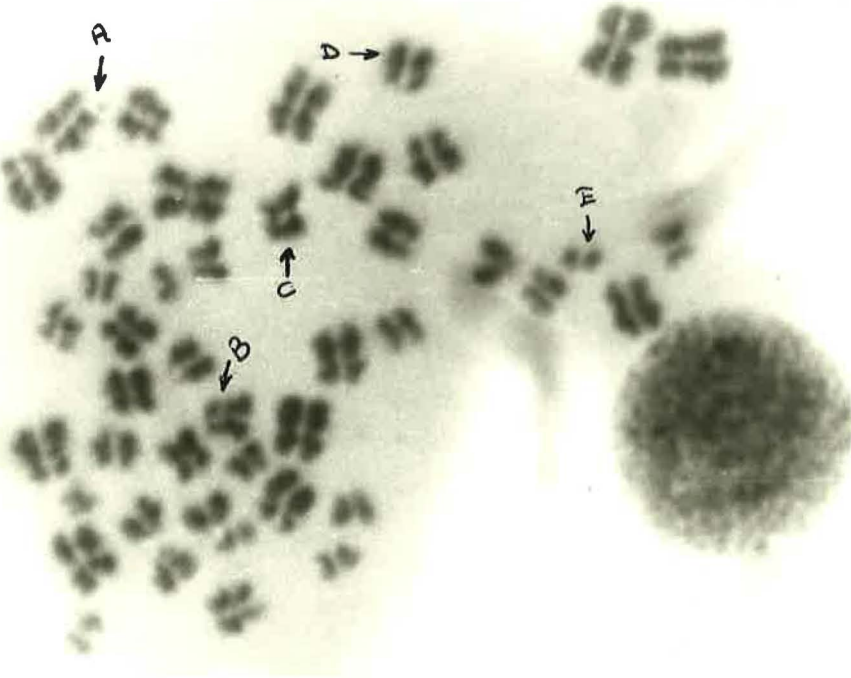
Şekil 7: 2 No'lu bireyin 12 Mg/ml-48 saatlik preparatında A.B.C. Kromatid kırık, D. Sentromer gap, E. Kromatid gap, F.G. Sentromersiz kromozom, H. Minute (Kromatin damlacığı)



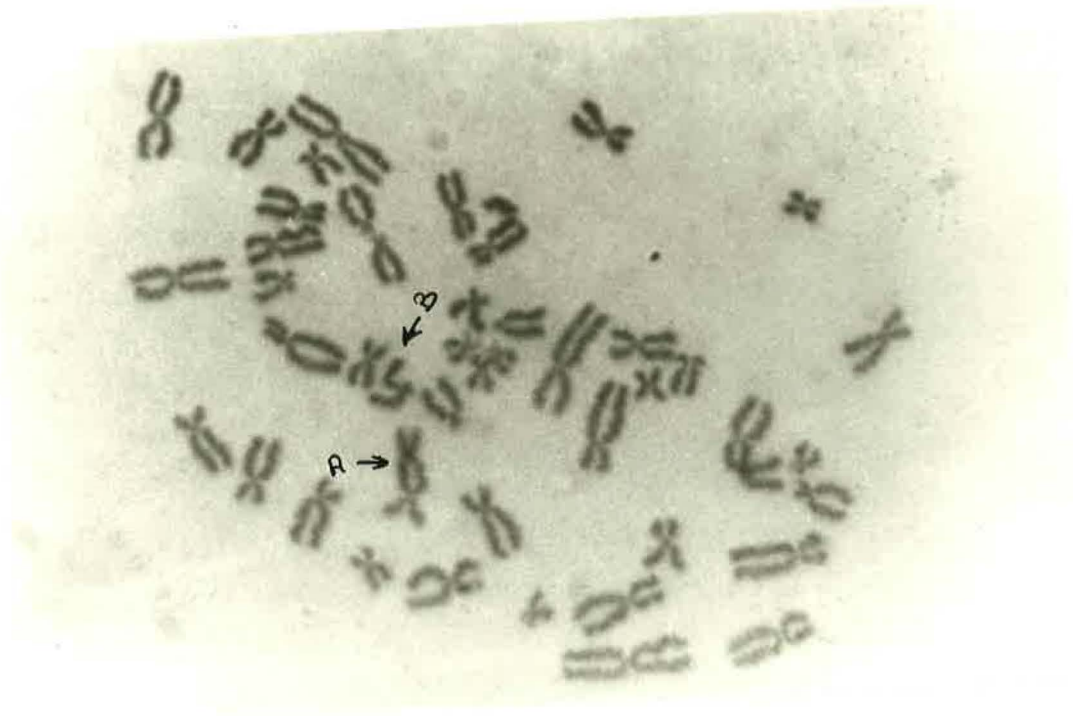
Şekil 8: 4 No'lu bireyin 6 Mg/ml-6 saatlik preparatında disentrik kromozom



Şekil 9: 5 No'lu bireyin 12 Mg/ml-6 saatlik preparatında A. Ring kromozomu, B.C. Kromatid kırık



Şekil 10: 1 No'lu bireyin 6 Mg/ml-24 saatlik preparatında A. Kromatid kırık, B. Kromatid gap, C. Sentromer gap, D. Sentromersiz kromozom, E. Fragment



Şekil 11: 1 No'lu bireyin 6 Mg/ml-48 saatlik preparatında A. Disentrik, B. Kromatid kırık

## 5- TARTIŞMA

5 ayrı bireyde, 3 farklı doz ve süre kombinasyonları ile bunların, kontrollerinden oluşan çalışmamızın, bulgularının tartışması aşağıda maddeler halinde tartışılmaktadır.

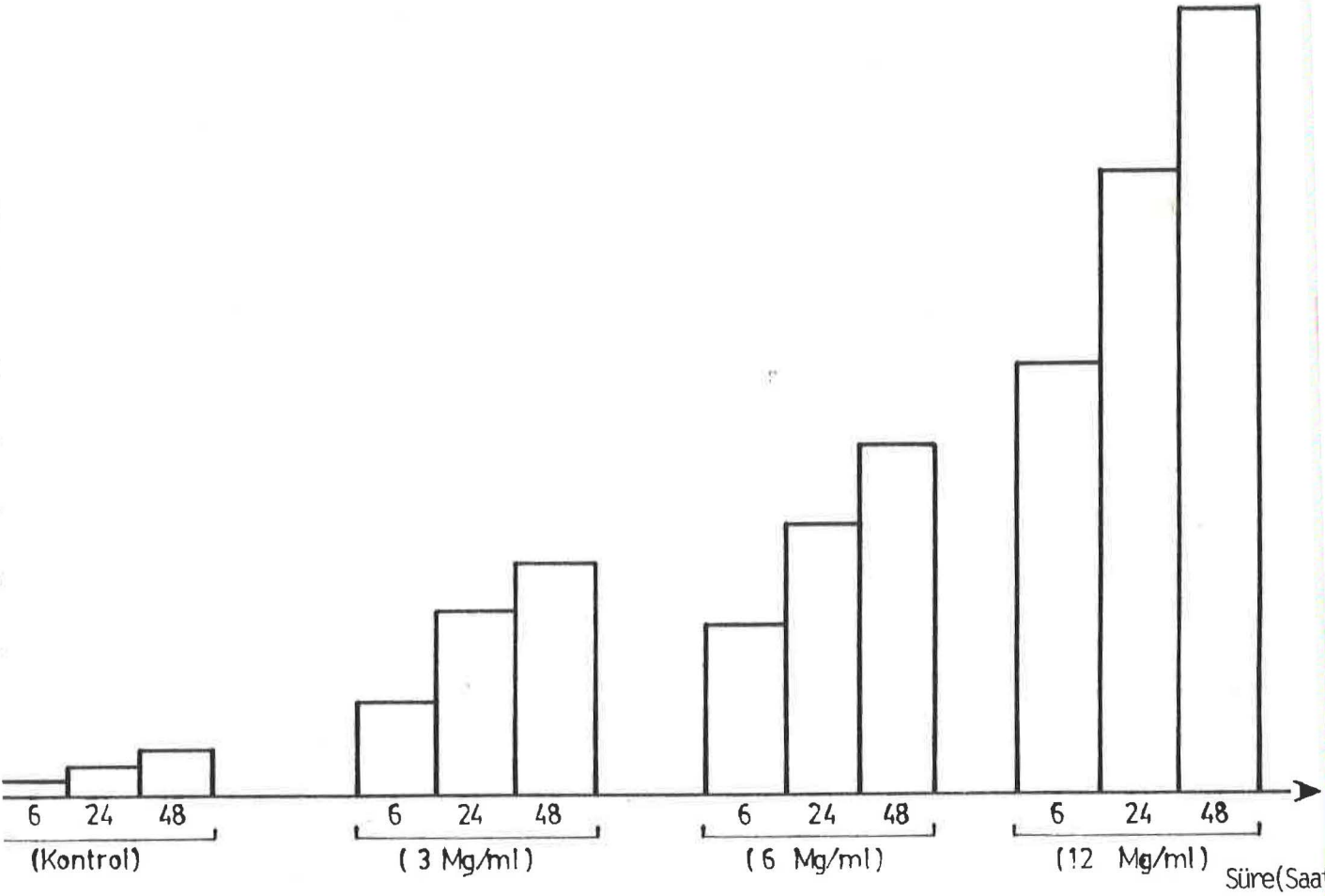
Gentamycinin kromozom düzensizliği içeren hücre oluşumuna etkisi:

a. Gentamycinin tüm dozları, bütün uygulama sürelerinde kromozom düzensizliğine neden olmaktadır (Şekil 12). Süre uzadıkça, kromozom düzensizliğine sahip hücre oluşumunda, artış gözlenmektedir.

3 Mg/ml ilaç dozunda, 6, 24 ve 48 saatlik 3 ayrı uygulama süresinde toplam 988 metafaz incelenmiş, bunlardan 222 tanesinde yapısal kromozom düzensizliğine rastlanmıştır. Toplam yapısal düzensizliklerin, incelenen metafaz sayısına oranı, % 29.55 olarak bulunmuştur. Toplam yapısal düzensizliklerin, incelenen metafaz sayısına oranı sırasıyla; kromatid gap için, % 4.65, izokromatid gap için % 1.82, kromatid kırık için % 8.40, izokromatid kırık için % 8.90, eksilme için % 1.01, fragment için % 3.34 ve diğer yapısal düzensizlikler için % 1.41 olarak bulunmuştur (Çizelge 24).

6 Mg/ml'lik deney grubunda uygulanan, 6, 24 ve 48 saatlik sürelerde, toplam 927 metafaz kaydedilmiş, bunlardan 340 tanesinde, yapısal kromozom düzensizliğine rastlanmıştır. Toplam yapısal düzensizliklerin, incelenen metafaz sayısına oranı, % 66.77 olarak bulunmuştur. Toplam yapısal düzensizliklerin, incelenen metafaz sayısına oranı sırasıyla; kromatid gap için % 10.24, izokromatid gap için % 4.53, kromatid kırık için % 18.12, izokromatid kırık için % 24.05, eksilme için % 3.12, fragment için % 5.17 ve diğer düzensizlikler için % 1.51 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 25).

12 Mg/ml'lik gentamycin dozunda, 6, 24 ve 48 saatlik, 3 ayrı uygulama süresinde toplam 781 metafaz incelenmiş, bunlardan 516 tanesinde yapısal kromozom düzensizliğine rastlanmıştır. Bu ilaç dozunda, normal olarak değerlendirilen metafazlara karşılık, düzensizlik görülen 516 metafazda bir ve birden fazla düzensizlik tespit edilmiştir. Toplam yapısal düzensizliklerin, incelenen metafaz sayısına oranının, % 172.72 gibi yüksek bir değere ulaşması da bunun kanıtıdır. Düzensizlik içeren hücrelerin incelenen metafaz sayısına oranı, % 66.06 olarak bulunmuştur. Toplam yapısal düzensizliklerin, incelenen metafaz sayısına oranı sırasıyla; kromatid gap için % 23.81, izokromatid gap için % 7.42, kromatid kırık için % 42.25, i-

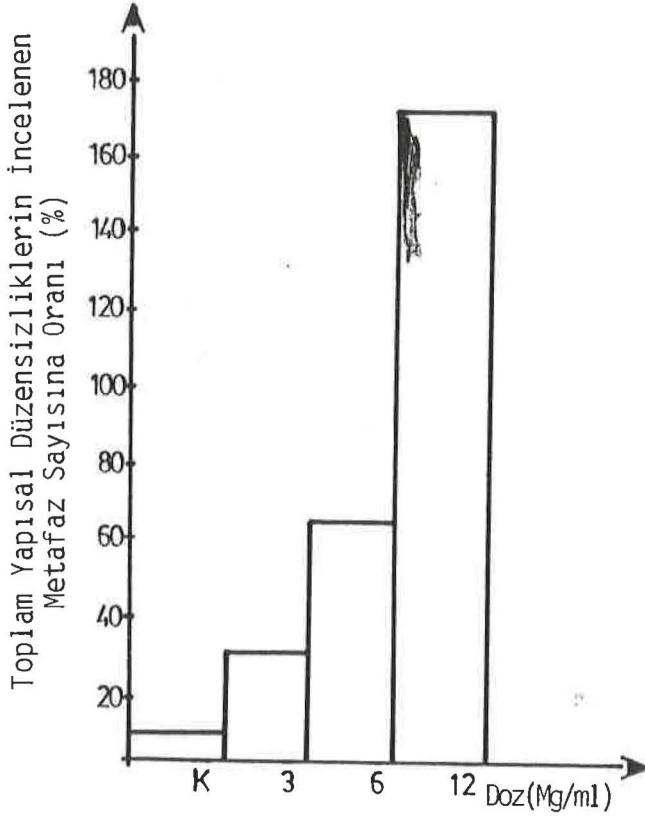


Şekil 12: Değişik uygulama sürelerinde toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı

zokromatid kırık için %63.73, eksilme için %7.04, fragment için %1.79 ve diğer yapısal düzensizlikler için ise %6.53 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 26).

Deneylerimizde kullandığımız, bir aminoglikozit olan gentamycin, insan lenfosit kromozomları üzerinde, doz artışına paralel olarak artan düzensizliklere neden olmuştur (Şekil 13).





Şekil 13: Değişik dozların yapısal düzensizlik oluşumuna etkisi

b. Aynı süre içinde gentamycinin, kromozom düzensizliği içeren hücre oluşumuna etkisi, doza bağlı olarak artmıştır (Şekil 14).

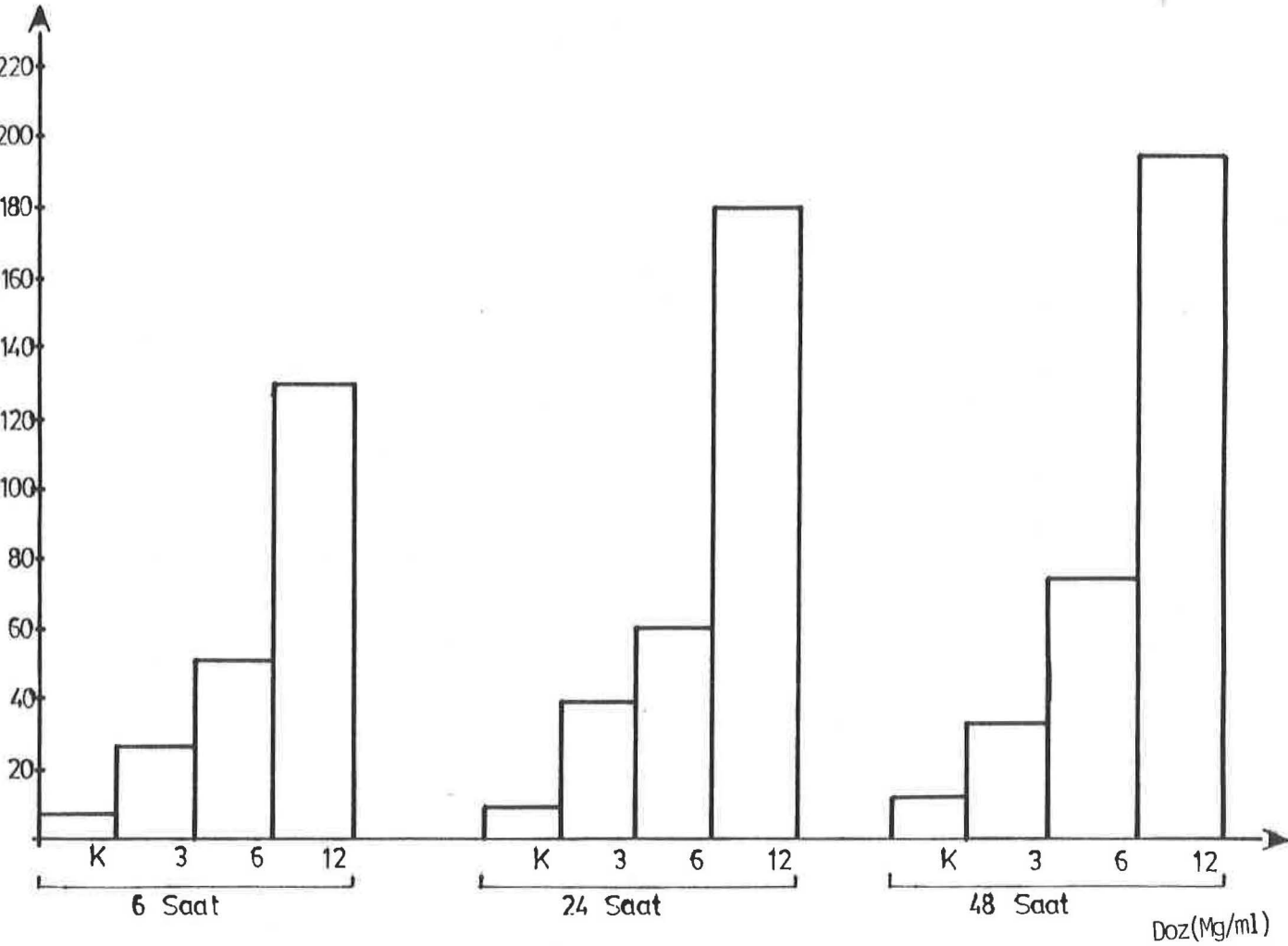
c. Aynı dozdaki gentamycinin, süreye bağlı olarak kromozom düzensizliği içeren, hücre oluşumunu arttırdığı gözlenmiştir (Şekil 15).

d. Gentamycinin, doz ve süresi arttıkça, mitotik indekste azalmalar izlenmiştir. 6, 24 ve 48 saatlik sürelerde, kontrol grupları ile deney gruplarının, mitotik indeks değerleri karşılaştırıldığında; kontrol gruplarında ortalama 29.86 olan, mitotik indeks değerinin, 3 Mg/ml'lik deneme grubunda 26.20'ye, 6 Mg/ml'lik deney grubunda 18.66'ya ve 12 Mg/ml'lik deney grubunda ise, 14.26'ya düştüğü gözlenmiştir (Çizelge 12). Buradan doz artışına paralel olarak, mitotik indeksin düştüğü sonucuna varılabilir (Şekil 16).

e. Kontrol grubunda, 6, 24 ve 48 saatlik uygulama sürelerine ait incelenen, toplam 975 metafazda 49 tane yapısal düzensizlik kaydedilmiştir. Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı, %5.02 olarak bulunmuştur. Kromatid gap sıklığı %1.94, izokromatid gap sıklığı %0.71, kromatid kırık sıklığı %82, izokromatid kırık sıklığı %1.43, fragment sık-

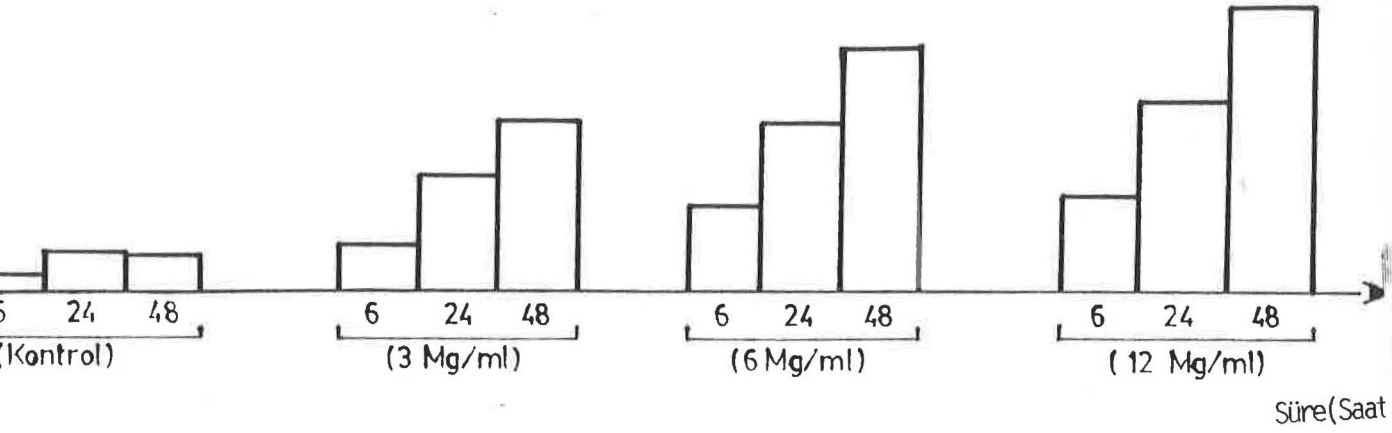
lığı %0.10 oranında tespit edilmiştir Çizelge 13).

Dresp, Schmid ve Baucinger (27), 1978 yılında çalışmalarına aldıkları 3 sağlıklı bireyden oluşan, kontrol gruplarında 1200 metafaz sayılmış ve yapısal kromozom düzensizliği oranı %0.42 olarak bulunmuştur. Bunlardan , kromatid kırık oranı %0.3, delesyon oranı ise %0.1 olarak bulunmuştur.



Şekil 14: Aynı sürede doz artışının yapısal düzensizliklere etkisi

Promchainant (60), 1975'de yaptığı bir çalışmada rastgele seçilen, 22-27 yaşlarındaki, 5 erkek bireyden elde ettiği kromozom preparatlarında, kontrol grubunda %1.60 oranında yapısal kromozom düzensizliği saptanmış-



Şekil 15: Değişik uygulama sürelerinde düzensizlik içeren metafaz yüzdeleri

tır. 100 metafazda 1.20 oranında tekli gap, 0.40 oranında izogape rastlanmış; 1.40 oranında kromatid kırık, 0.40 oranında da izokromatid kırık tespit etmiştir.

Alp (8), 1983'de yaptığı bir çalışmada, kontrollerde %5.7 oranında yapısal kromozom düzensizliği saptamıştır.

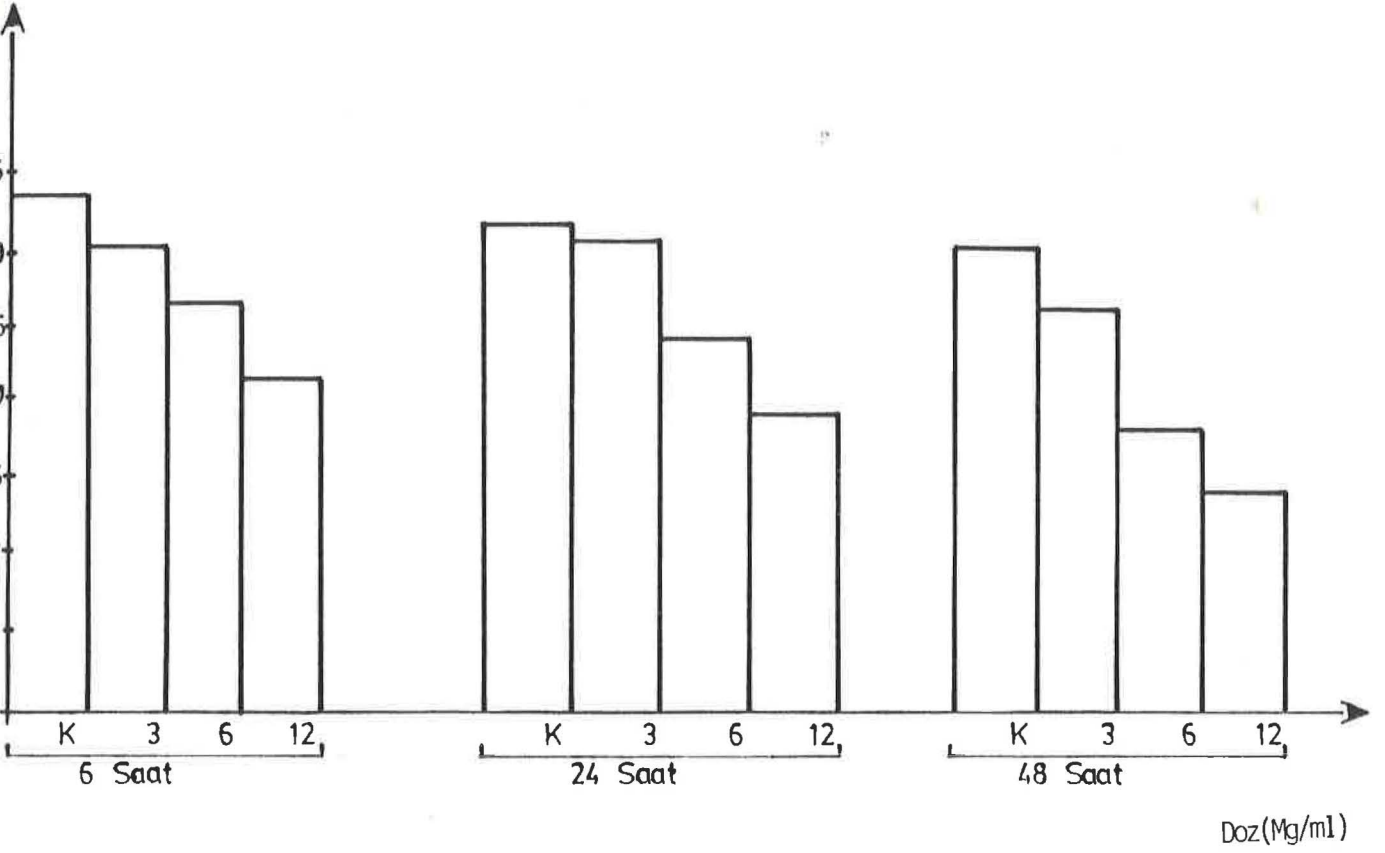
Ortakaya (58), 1982'deki çalışmasında kontrol gruplarında % 4.6 oranında yapısal düzensizlik saptamıştır.

Elbistan (29), 1987 yılında, mental hastalarda yaptığı bir çalışmada kontrollerde %6.22 oranında yapısal kromozom düzensizliği kaydetmiştir.

Bu konudaki bulgularımızla, diğer araştırmacıların elde ettikleri veriler arasındaki farklılıkların hemen hemen tüm araştırmacıların hem fikir olduğu, laboratuvarlar arasındaki değerlendirme bütünlüğünü sağlama zorluğundan kaynaklandığı kanısına varılmıştır. Zaten kontrol grubu oluşturmadaki amacımız, kendi araştırmamızda değerlendirme bütünlüğü sağlamaktır.

Kromozomlarda kopma ve bu kopmaların ürünü olan asentrik fragmentler

oluşmuştur. Kromozom kümelenmesi, kopma, meioz ve mitozda pekçok araştı-  
rıcı tarafından incelenmiştir (6, 47, 55).



Şekil 16: Aynı sürede doz artışında mitotik indeks değerleri

Gözlemlerimiz sırasında, sıkça rastladığımız gap ise kromozomal pro-  
teinin etkilenmesinden oluşmaktadır (66). Kromozom bozulmalarında oluşan  
anomalilerin %95 kadarının, eski hallerine dönüşmek üzere birleştikleri  
bildirilmekte ve bu olay Darlington (25) tarafından izah edilmektedir.

Somatik kromozom düzensizlikleri ile, karsinogenesis arasında iliş-  
kiler bugün için tamamen açıklığa kavuşmuş değildir. Nichols'e göre (54),  
kromozom kırıkları, gen delesyonları gibi mikroskopta görülmeyen mutasyon-  
ların, gözlenebilen bir bölümüdür ve bu nedenle mutagenesiste önemleri bü-

yüktür. Dünyada sıklıkla kullanılan antibiyotiklerin kromozom düzensizliklerine neden olması ve bu düzensizliklerin çoğunun, hücre yaşamıyla bağdaşabilecekleri bildirilen tipte kromozom düzensizlikleri olması nedeniyle, bu konuda araştırmaları derinleştirmenin gerekli olduğu kanısına varmamıza neden olmuştur.

Sonuç olarak diyebiliriz ki, antibiyotik uygulaması, araştırmamızda gentamycin uygulaması, doz ve süreye bağlı olmakla birlikte, önemli derecede kromozom düzensizliği içeren, hücre oluşumuna neden olmaktadır. Bu değerlendirme, literatür bulgularıyla da uyum sağlamaktadır (28, 36, 49, 61).

Bu düzensizliklerin hangilerinin kalıtsal olduğu, yani hangilerinin bir sonraki kuşağa geçtiği, araştırmamızın amacı dışında olduğu için incelenmemiştir. Fakat denilebilir ki, düzensizliklerin çoğu, ya steriliteye, ya letaliteye veya ikinci kuşak düzensizliklerine neden olur. Bu nedenle ülkemizde kullanımı belli esaslara bağlı olmayan antibiyotiklerin, doz ve sürelerine çok dikkat edilmesi gereği, araştırmamızın ortaya koyduğu, en önemli bulgulardan biridir.



## 6- ÖZET

5 deneğe ait 3, 6 ve 12 Mg/ml dozda gentamycin ve 6, 24 ve 48 saat süre uygulayarak in vitro koşullarda, kontrollü olarak yapılan bu çalışmada toplam 3671 metafaz değerlendirilmiştir.

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde, yapısal düzensizlik içeren hücre oluşumu, gentamycin dozunun arttırılması, uygulama süresinin arttırılması ve aynı sürede doz arttırılması ile artmaktadır. Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı kontrol gruplarında % 5.02 iken, 3 Mg/ml'lik deney grubunda % 29.55'e, 6 Mg/ml'lik deney grubunda % 66.77'ye ve 12 Mg/ml'lik deney grubunda % 172.72'ye yükselmektedir. Ayrıca gentamycin dozunun artmasına bağlı olarak yapısal düzensizliklerin çeşit ve miktarında artma olmaktadır.

Gentamycinin insan kromozomları üzerine sıklıkla meydana getirdiği düzensizlikler; kromatid gap, kromatid kırık, izokromatid gap ve izokromatid kırıklardır.

Kontrol ve deney gruplarına ait preparatların her birinden 1000 hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiş olup, çalışmada kullanılmış olan gentamycinin, hücrelerin mitozaya girme oranlarını düşürdüğü sonucuna varılmıştır.

## 7- SUMMARY

3671 metaphases of 5 normal individuals control groups were evaluated in in vitro studies, where 3, 6 and 12 Mg/ml doses of gentamycin were administered for 6, 24 and 48 hours.

When the results were evaluated it is concluded that both the aberrant cell formations and the structurally aberrant cell formation were increased by increasing the dosage and the duration of gentamycin.

While the ratio of total structural aberrations to the number of metaphases examined was 5.02 % in the control group, it was 29.55 % in the 3 Mg/ml experimental group, 66.77 % in the 6 Mg/ml experimental group and 172.72 % in the 12 Mg/ml experimental group. In addition, there was an increase in the varieties and the quantities of the structural aberrations due to the increase in gentamycin dosage.

The chromosomal aberrations that are frequently found in gentamycin injected human are; chromatid gaps, chromatid breaks, isochromatid gaps and isochromatid breaks.

Mitotic index is determined by counting 1000 cells in every slide prepared from both the control and experimental groups, and it is concluded that gentamycin which is used in this study decreases the ratio of mitosis of the cells.

## 8. KAYNAKLAR

- 1- Abaoğlu, A.: Teşhisten Tedaviye. Formul. Mat., İstanbul, 1980.
- 2- Abel, E.L.: Smoking During Pregnancy. A Review of Effects on Growth and Development of offspring. Hum.Biol., Detroit. 52: 593-625, 1980.
- 3- Akdik, S.; Özek, Ö.: Antiseptik ve Antibiyotiklerin Bakteriyostatik ve Bakterisid Tesirlerinin, Buğday, Arpa ve Baklanın Gelişimine Mani Tesirleri ile Kontrolü. 13. Milli Türk Tıp Kongresi tutanak ve serbest tebliğleri. İstanbul, 1954.
- 4- Akman, M., Gülmezoğlu, E.: Tıbbi Mikrobiyoloji. H.Ü. Yay. A-15, 1980.
- 5- Aktan, F.: Medikal Biyoloji. I.222-224, Çukurova Ü. Yay. No: 3, ANKARA- 1980.
- 6- Alam, M.T., Corbeil, M., Chagnon, A., Kasatiya, S.S.: Chromosomal Anomalies Hamster Cell. Chromosoma., 49: 77, 1974.
- 7- Alberghina, M., Nicoletti, G., Torris, A.: Genetic Determinants of Aminoglycoside Resistance in Strains of Mycobacterium tuberculosis. Chemotherapy., 19: 148, 1973.
- 8- Alp, M.N.: Malignite ile İlgili Tek Gen Mutasyonları ve Kromozom Düzensizliklerinin İlişkisi Üzerine Araştırmalar (Doktora Tezi). D.Ü.Tıp Fak., Diyarbakır, 1983.
- 9- Amer, S.M., Farah, O.R.: Cytological Effects of Pesticides VI. Effect of the Insecticide "Rogor" on the Mitosis of Vicia faba and Gossypium barbadense. Cytologia, 39: 507, 1974.
- 10- Ames, B.N., Lee, F.D., Durston, W.E.: An Improvement Bacterial Test System for the Detection and Classification Mutagens and Carcinogens. Proc. Nat. Acad. Sci., 70: 782, 1973.
- 11- Arda, M.: Genel Bakteriyoloji. A.Ü. Vet. Fak. Yay. 342, 1972.
- 12- Auerbach, C., Robson, J.M.: Chemical Production of Mutations. Nature, 157: 302, 1946.
- 13- Bachmann, K., Schwarz, J.I., Forney, J.R.: The Effect of Erythromycin on the Disposition Kinetics of Warfarin. Pharmacology, 28: 171, 1984.

- 14- Bağcı, H.: TÜBİTAK Moleküler Biyoloji ve Gen Mühendisliği Lisans-üstü Yaz Okulu, ders notları. O.D.T.Ü. Biyoloji Bölümü. ANKARA- 1985.
- 15- Bao, T.V., Szabo, I., Ruzicska, P., Czeizel, A.: Chromosome Aberrations in Patients Suffering Acute Organic Phosphate Insecticide Intoxication. Human Genetic, 24: 33, 1974.
- 16- Başaran, N.: Tıbbi Genetik Der Kitabı. Bilim Teknik Yay., ESKİŞEHİR, 1985.
- 17- Baykan, Ş.: RTF Taşıyan E. coli K-12 J5-3'de Aminoglikozidik Antibiyotiklerin İnaktivasyonu ve Kanamisin Fosforilazın İzolasyonu. H.Ü. Fen Fak. Moleküler Biyoloji ve Viroloji Bölümü. V. Bilim Kongresi Tıp Araştırma Grubu Tebliğ Özetleri. İSTANBUL, 1975.
- 18- Bilge, E.: Mutagenic Change in Vicia faba Induced by Streptomycin. İ.Ü. Fen Fak.Mec. 27: 123, 1973.
- 19- Bovery, T.: The Origin of Malignant Tumors. Baltimore, 1929.
- 20- Briganti, G., Levi, G., Spalleta, E., Galloni, L., Mauro, F.: Effect of Bleomycin on Mouse Hemopoietic Colony Forming Cell in Culture. Cell. Tissue. Kinet. 13(2): 145-51, 1980.
- 21- Budak, T.: Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Sıklıkla Kullanılan İnsektisidlerden Malathion ve Lindane'nin Fare Kromozomları Üzerine İn Vivo Etkilerinin Araştırılması (Doçentlik Tezi). D.Ü. Tıp Fak., 1981.
- 22- Büke, M.: Antibiyotikler ve Kullanım Kuralları. Ege Ü., 1980.
- 23- Cohen, M.M., Shaw, M.W., Craig, P.: The Effect of Streptomycine on Cultured Human Leucocytes. Proc.Natl.Acad.Sci.(US), 50:16, 1963.
- 24- Cohen, P.E., Lansky, G.S.: Chromosome Damage During Nitrogen Mustard Therapy. Br.Med.J., 2: 1055, 1961.
- 25- Darlington, C.D.: Evaluation of Genetic Systems. Oliver and Boyd, Edinburgh, 1958.
- 26- Drake, J.W. et al( Committee 17, Appointed by the Council of the Environmental Mutagen Mutagen Society). Environmental Muta-

- genic Hazard. Sci., 187: 503, 1975.
- 27- Dresp, J., Schmid, E., Bauchinger, M.: The Cytogenetic Effect of Bleomycin on Human Peripheral Lymphocytes In Vitro and In Vivo. Mutat.Res., 56: 341-353, 1978.
- 28- Dünya Sağlık Örgütü(WHO): İnsan Sağlığı için Çevresindeki Tehlikeler. Cilt: 5-6, 1975.
- 29- Elbistan, M.: Mental Hastalarda Genetik Araştırmalar (Doktora Tezi). D. Ü. Tıp Fak. DİYARBAKIR, 1987.
- 30- El-Sebae, A.H., Ahmed, N.S., Soliman, S.A.: Effect of Pre-Exposure on Acute Toxicity of Organo-Phosphorus Insecticides to White Mice. J.Environ. Sci.Health. B.13:11, 1978.
- 31- Erdal, M.E.: Kanserli Hastalarda, Serum Proteinleri Düzeyinin ve Bazı Haptoglobulin Tipleri Sıklığının Polyakrilamid Jel Disk Elektroforezi Yöntemiyle Araştırılması (Doktora Tezi). D.Ü. Tıp Fak. DİYARBAKIR, 1987.
- 32- Felix, B.G., Carrathers, J.K., Steiner, J.: Handbook of Clinical Pharmacology, 1978.
- 33- Forni, A.: Chromosomal aberrations in Monitoring Exposure to Mutagens-Carcinogens. IARC.Sci.Publ., 59: 325-37, 1984.
- 34- Gerber, B.: Effectiveness of Periparturient Preventive Use of Antibiotics with Ampicillin/Gentamycin or Cefotiam in Abdominal Cesarean Section. Zentralbl. Gynecol., 111(10): 658-63, 1989.
- 35- Gibson, D.H., Fitzgeorge, R.B.: Persistence in Serum and Lungs of Guinea Pigs of Erythromycin, Gentamycin, Chloramphenicol and Rifamycin and Their In Vitro Activities Against Legionella Pneumophila. J.Antimicrob. Chemother., 12: 235, 1983.
- 36- Hıncal, F.: Aminoglikozit Antibiyotikler ve Toksik Etkileri. Doğa Bilim Dergisi. Seri C, 5: 101, 1981.
- 37- Ioka, H.: The Effect of Antibiotics (Gentamycin) on Placental Aminoacid Transport Activity (Using Human Placental Microvillus Membrane Vesicles). 39(11): 2025-8, Nov., 1987.
- 38- Jaar, I.: Effects of Gentamycin and Chloramphenicol on the Transparency of Cultured Rat Lenses. Ophthalmic Res. 21(2): 118-25, 1989.



- 39- Kalia, C.S., Singh, M.P., Jain, H.K., Katiyar, R.K.: LSD Induced Genetic Damage in Barley. *Chromosoma*, 32: 142, 1970.
- 40- Kelle, A.: Güneydoğu Anadolu Bölgesi'nde Yoğun Olarak Kullanılan Bazı Klorlandırılmış Hidrokarbon İsektisidlerin Süt, Balık İçyağı ve İnsan Yağı Dokusundaki Rezidülerinin İnce Tabaka Kromatografisi Yöntemiyle Araştırılması (Doçentlik Tezi). D.Ü. Tıp Fak., DİYARBAKIR, 1982.
- 41- Kihlmann, B.A., Sturelid, S., Hartley, B., Hilson, K.: The Enhancement by Caffeine of Chromosomal Aberrations Induced in Plant and Animal Cells by Chemical and Physical Agents. *Mutat.Res.*, 26: 105, 1974.
- 42- Kihlmann, B.A.: Factors affecting the Production of Chromosome Aberrations by Chemicals. *J. Biophys.Biochem. Cytol.*, 2: 540, 1956.
- 43- Kopel, M.E.: Gentamycin Solution for Mediastinal Irrigation; Systemic Absorption, Bactericidal Activity and Toxicity. *Ann. Thorac. Surg.* 48(2): 228-31, Aug, 1989.
- 44- Kutsal, A., Muluk, F.Z.: Uygulamalı Temel İstatistik. H.Ü.Yay. A-2., 1975.
- 45- Lessa, M.M., Beçak, W., Rabello, M.N., Pereira, C.A.B., Ungaro, I.T.: Cytogenetic Study of DDT on Human Lymphocytes In Vitro. *Mutat.Res.*, 40: 131, 1976.
- 46- Levy, S.: Boston Press Lecture. *Time*, 33: 41, 1981.
- 47- Majumdar, L.G., Stern, H.: The Inhibition of Protein Synthesis in Meiotic Cell and Its Effect on Chromosome Behaviors. *Chromosoma*,26: 298, 1969.
- 48- Meschini, R.: Chromosomal Damage Induced by Maleic Hydrazide in Mammalian Cells In Vitro and In Vivo. *Mutat.Res.*, 204(4): 645-8, Apr., 1988.
- 49- Miller, E.C., Miller, J.A.: The Mutagenicity of Chemical Carcinogens, Problems and Interpretations. Dans: Hollaender, A., Chemical Mutagens, Plenum., Press., New York, 1971.
- 50- Moorhead, P.S., Nowell, P.C., Mellman, W.I., Battips, D.M., Hungerford, D.A.: Chromosomes Preparations of Leucocytes Cul-

- tured from Human Peripheral Blood. *Exptl. Cell. Res.*, 20: 613, 1960.
- 51- Müller, H.J.: Artificial Transnurtation of the Gene. *Science*, 66: 84, 1927.
- 52- Nasrat, H.A., Al-Machim, G.M., Mahmood, F.A.: Perinatal Effects of Nicotine. *Biol. Neonata*, 49(1): 8-14, 1986.
- 53- Neu, R., Aspillage, M.T., Gardner, L.T.: Effect of Antibiotic on Chromosomes of Cultured Human Leucocytes. *Nature*, 205: 171, 1965.
- 54- Nichols, W.W.: Chromosome Aberrations. *Chromosome Diagnostics in Clinical Medicine*, 1961.
- 55- Obe, G.: Action of Streptomycin and Dihidromycin on the Chromosomes of Vicia faba. *Molec.Gen. Genet.* 119: 373, 1972.
- 56- Oehlkers, F.: Die Auslösung von Chromosomes Mutationen in der Meiosis durch Einwirkung von Chemikalien. 2. Induktiven Abstammungs. *Vererbungslehre.*, 81: 313, 1943.
- 57- OMS, Groupe:Scientifique sur les Principes et'les Problemes Deevaluation et de la Recherche des Effects Mutagenes des Medicaments. Rapport, Geneve ( Org.Mond.Sante Ser.Rappo. Techn., No: 482).., 1971.
- 58- Ortakaya, C.: Kanamycinin Tavşan Kromozomları Üzerine İn Vivo Et-kileri (Doktora Tezi). D.Ü. Fen Fak., 1982.
- 59- Özdamar, K.: Biyoistatistik. 290-313, *Bilim-Teknik Yay.*, ANKARA, 1985.
- 60- Promchainant, C.: Cytogenetic Effect of Bleomycin on Human Leucocytes In Vitro. *Mutat.Res.*, 28: 107-112, 1975.
- 61- Psaraki, K.: Induction of Chromosome Damage and Sister-Chromatid Exchanges in Human Lymphocyte Cultures by Antitumour Antibiotic Neocarsinostation. *Mutat.Res.*, 204(4): 669-73, Apr, 1988.
- 62- Rapoport, J.A.: Carbonyl Compounds and the Chemical Mechanism of Mutation. *C.R. Acad.Sci.U.S.S.R.*, 54: 65, 1946.
- 63- Rouch, D.A.: The aaca-aphD Gentamycin and Kanamycin Resistance

- Determinant of Tn-4001 from Staphylococcus aureus, expression and nucleotide sequence analysis. J.Gen.Microbiol. 133(Pt-11): 3039-52, 1987.
- 64- Schacter, J., Sweet, R.L., Grossman, M.: Experience with the Routine Use of Erithromycin for Chlamydial Infections in Pregnancy. N.Engl.J.Med., 314: 276, 1986.
- 65- Sierra, R.R.: Acute Renal Failure Caused by Ceporin, Kanamycin and Gentamycin. Urol.Nefrol., 2: 50-30, 1989.
- 66- Şaylı, B.S.: Medikal Genetik. I. Teorik ve Klinik Sitogenetik. Dördüncü Baskı, A.Ü. Tıp Fak. Yay., Sayı: 381, ANKARA, 1979.
- 67- Tavat, S., Artankalı, S., Garan, R., Akçasu, A.: Farmakoloji ve Tedavide Tatbiki. ANKARA- 1975.
- 68- Tayşi, K., Say, B.: Tıbbi Genetik. H.Ü.Yay., 408, ANKARA, 1973.
- 69- Tezok, Ö.F.: Genetikte Temel Prensipler ve İnsan Genetiğindeki Değerlendirilmeleri. Bursa Ü. Tıp Fak. Yay. No: A-1, 1977.
- 70- Vıg, B.K.: Genetic Toxicology of Mitomycin, Daunomycin and Adriamycin. Mutat.Res., 49: 189, 1977.
- 71- Vijayalaxmi and Evans, H.J.: In Vivo and In Vitro Effect of Cigarette Smoke on Chromosomal Damage and Sister-Chromatid Exchange in Human Peripheral Blood Lymphocytes. Mutat.Res. 92: 321-332, 1982.
- 72- Villee, A.V.: Biyoloji. Çevirenler: Prof.Dr. M.Nihat Şişli, Doç. Dr. A.Nihat Bozcuk, Doç.Dr. Suna Bozcuk, Doç.Dr. Ayşe Boşgelmez tarafından Genel Biyoloji adıyla çevrilmiştir. M.E. G. ve Spor Bakanlığı Yay. No:24, Bilim ve Kültür Eserleri Dizisi. İkinci Baskı, 109- 124, 612-613, 771-814, ANKARA, 1972.
- 75- Yurtsever, N.: Deneysel İstatistik Metodlar. 90-313. Tarım-Orman ve Köy İşleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Yay., No: 56., ANKARA, 1984.