

T.C.  
İSTANBUL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
Tıbbi-Biyoloji Anabilim Dalı

60499

Danışman: Doç. Dr. Ahmet SİVAS

PYRIMETHAMINE'İN (DARAPRİM) İNSAN KROMOZOMLARI  
ÜZERİNE ETKİSİ

(Doktora Tezi)

MSc. Bio. Ünal EGELİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

İstanbul Tıp Fakültesi Tez Bürosu- 1988

## İÇİNDEKİLER

	Sayfa No.
GİRİŞ .....	1
GENEL BİLGİLER .....	4
GEREÇ VE YÖNTEM .....	30
BULGULAR .....	35
TARTIŞMA .....	59
ÖZET .....	63
SUMMARY .....	64
KAYNAKLAR .....	65
ÖZGEÇMİŞ .....	72

Bu çalışmanın gerçekleştirilmesinde büyük yardım ve desteklerini gördüğüm Tez Danışmanım Sayın Doç. Dr. Ahmet SİVAS'a; araştırmalarım sırasında her türlü olanağı sağlayan ve çok değerli zaman ve yardımlarını esirgemeyen Sayın Hocam Prof. Dr. Gülten ERDOĞAN'a; derslerim esnasında engin bilgi, bilimsel görüş ve düşüncelerinden faydalandığım Sayın Hocam Prof. Dr. Türkân ERBENGİ'ye; tezimin yazılması esnasında bilimsel kaynak ve düşüncelerinden yararlandığım Sayın Doç. Dr. Mahmut ÇARİN'e; istatistiklerin değerlendirilmesinde yardımcı olan Fizikçi Günay DAĞTEKİN ve Matematikçi Arif KUBAY'a; çalışmalarım süresince yardımlarını esirgemeyen eşim Laborant Suzan EGELİ, Biolog Ali UÇUR ve Laborant Dilek YILDIZ'a; şekillerin çizilmesinde yardımcı olan Teknisyen Asuman B.COŞKUNER'e teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Ünal EGELİ

## GİRİŞ

Canlıların kalıtsal özelliklerinin kuşaktan kuşağa aktarılmasını sağlayan Deoksiribonükleik asit (DNA) molekülüdür (1,6,7,52,57).

İnsan, hayvan, bitki ve bakteri gibi tüm canlıların DNA molekülünü yapılarında bulundurmaları onun evrensel karakterini belirlemektedir (1,7).

Bakterilerde DNA kromozom ile identiktir (7). Ökaryot canlılarda ise nukleusun içinde kromozomlar üzerinde toplanmıştır ve bazı proteinlere bağlı olarak bulunur (1,7).

DNA molekülü, dört bazdan meydana gelen canlılığın genetik alfabetini üzerinde taşıyan, polinükleotid zincirlerinden meydana gelen en büyük ve en önemli moleküldür (1,7,52,57).

DNA'nın gerek kendi içindeki kararsızlığı dolayısıyla, gerekse fiziksel ve kimyasal etkenlerle zaman zaman yapısında değişiklikler meydana gelmektedir (52,57). Bir kalıtım maddesi olan DNA'da meydana gelen bu tür değişikliklere mutasyon (başkalaşım) adı verilmektedir (1,6,14,52).

Mutasyonlar canlılığın oluşumundan beri ola gelmektedir ve bütün canlılardaki varyasyon'un kaynağıdır (1,7). Canlıların evolusyonu DNA üzerinde meydana gelen mutasyonlar yolu ile gerçekleşmiştir (1).

Günümüzde birçok ilacın kromozomlarda kırılma, delesyon, inversiyon, translokasyon gibi kromozom yapı kusurlarına ve DNA molekülü üzerinde nokta mutasyonlara yol açtığı gösterilmiştir (52). Bu ilaçlar arasında bazı analogları, sitotoksik ilaçlar, alkilleyici

ajanlar ve antibiyotikler bulunmaktadır (1,6,8,52).

Kanser tedavisinde kullanılan ilaçların kromozomlarda kırık şeklinde yapısal kusurlara yol açtığıının gösterilmesinden sonra ilaçların mutajen etkisinin araştırılması daha da önemli hale gelmiştir (45).

DNA molekülü üzerinde mutasyon meydana getiren ilaçların bazıları replikasyon esnasında bir bazın yerine geçerek yanlış baz çiftlerinin oluşmasına neden olur (5-Bromourasil, 2-Aminopurin); bazıları direkt olarak DNA'daki bazların yapısını değiştirir (Nitroz asit, Hydroxlamine); bazıları da bir bazın başka bir baz gibi davranmasına sebep olarak (Nitrojen mustard, Etil metan sülfanat) mutasyon meydana getirirler (1,52). Bunun sonucu olarak protein sentezinin durmasına, anormal ve istenmeyen proteinlerin sentez edilmesine sebep olurlar(14).

İlaçların insan sağlığını etkileyen ikinci mekanizması teratojenik etki yolu ile olmaktadır. Gelişmekte olan embriyoyu intrauterin yaşamda olumsuz yönde etkileyen ve normal gelişimini bozan faktörler teratojenik etmenler olarak tanımlanır (12,32). Teratojenik etmenler arasında ilaçlar önemli bir yer tutmaktadır (32).

Günümüzde sentetik ilaçların her geçen gün arttığını göz önüne alırsak ilaçların teratojen, mutajen ve karsinojen etkisinin araştırılmasının toplum sağlığına olumlu etkileri olacağını düşünmekteyiz.

Bu düşünceden hareketle araştırmamızda, bu güne kadar yapılan araştırmalarla teratojenik özellikleri kanıtlanmış fakat mutajenite yönünden incelenmemiş olan Pyrimethamine (Daraprim) kullanıldı (16, 25,34,35,44,51).

Bir folik asit antagonisti olan Pyrimethamine yüksek dozlarda kullanıldığında folik asit eksikliğinden dolayı megaloblastik anemi, lökopeni, pansitopeni ve trombositopeniye yol açmaktadır (34).

1979 ve 1983 yıllarında Sutherland tarafından folik asit içermeyen kültür ortamlarında frajil bölgelerin açığa çıktığının gösterilmesi (49,50) ve folik asit içeren kültür ortamlarında bu bölgelerin maskelendiğinin belirtilmesinden sonra John A.Reidy ve arkadaşları folik asit içermeyen kültür ortamlarında kromozom kırıklarının folik

asit içeren kültür ortamlarına nazaran anlamlı bir şekilde arttığını göstermişlerdir (41,42).

Araştırmamız Pyrimethamine'in insan kromozamları üzerindeki etkisini incelemek amacıyla iki grup vaka üzerinde gerçekleştirildi.

I. Grup vakalarda Pyrimethamine çeşitli dozlarda periferik kan lenfosit kültürlerine ilave edildi.

II. Grupta ise Tıbbi Genetik Bilim Dalı Polikliniğine müracaat eden; Toxoplasmosis testleri müsbet (+) olarak saptanan hastalara günde 50 mg olmak üzere 14 günlük Pyrimethamine tedavisi uygulanmadan önce ve tedavi uygulandıktan sonra periferik kan lenfosit kültürleri yöntemi ile sitogenetik inceleme yapılarak mitotik indeks, kromozomlardaki sayı ve yapı kusurları incelendi. Ayrıca tedaviden önce ve tedaviden sonra hastaların kan sayımları tekrarlanarak kan tablolarındaki değişiklikler araştırıldı.

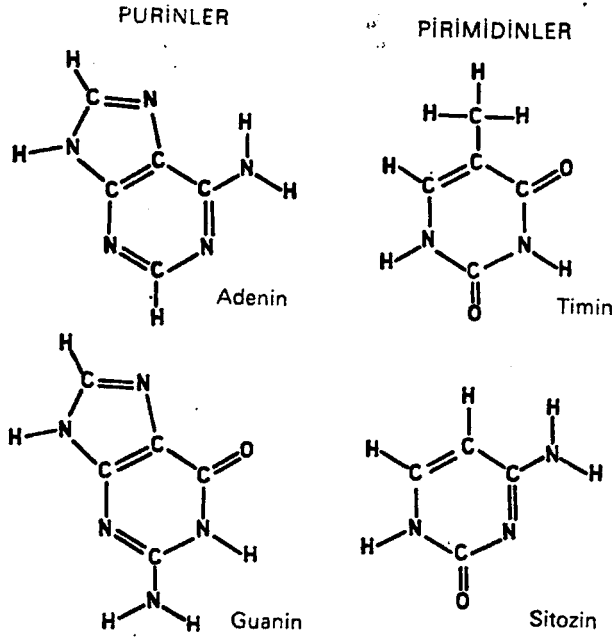
## GENEL BİLGİLER

### DNA'NIN YAPI VE FONKSİYONU :

DNA, nükleotitlerin birbirine bağlanarak uzun zincirler oluşturması ile meydana gelir (1,7,52,57). Her nükleotit üç kısımdan yapılmıştır.

- 1- 5 C'lu Deoksiriboz şekeri.
- 2- Baz (Purin ve Primidin).
- 3- Fosfat.

Baz ile şekerin birleşmesiyle nükleosid, nükleoside bir fosfat grubunun bağlanması ile nükleotidler meydana gelir. Nükleotidler arasındaki farklar bazların farklı olmasından dolayıdır. DNA'da purin olarak sadece Adenin ve Guanin bazları bulunur. Primidin olarak Sitozin ve Timin bazları mevcuttur. Nükleotidlerin birbirine bağlanması bir nükleotidin şekerinin diğer nükleotidin fosfat grubu ile bağlanması ile olur ve iplik böyle devam eder. Bağlanma Pentozun 1' numaralı C atomuna bazlardan birinin tutunması ve 3' ve 5' C atomlarından her birine iki komşu nükleotidin fosfat köklerinden birine bağlanması ile olur (1,7,52) (Şekil 1).



Şekil 1: DNA'nın yapısında bulunan dört azotlu bazın yapısı

DNA'nın özellikleri şu şekilde özetlenebilir.

DNA canlıda iki farklı primer yapıyı ipliğin heliks şeklinde bir araya gelmesiyle oluşur. Buna DNA'nın sekonder yapısı, dubleks yapısı veya çift sarmal yapısı denir. Çift sarmal yapının oluşmasında nükleotitlerin içerdikleri bazların farklı olması rol oynamaktadır (7,57).

Purin ve primidin bazlarının büyüklükleri farklıdır. Purin bazları primidinelere nazaran daha büyüktür. Adenin ile Timin arasında iki, Sitozin ile Guanin arasında üç Hidrojen bağı mevcuttur (1,7).

Çift sarmalın çapı her yerde aynıdır ve yapılan ölçümlere göre  $20^{\circ}\text{A}$  dur (1). İki iplik birbirine Hidrojen bağları ile bağlıdır (52).

DNA iplikleri arasındaki baz eşleşmeleri sadece A-T ve G-C arasında olur. Buna göre  $A/T = 1$  ve  $G/C = 1$  dir. AT/GC oranı organizmadan organizmaya değişir (1,7).



İki iplik birbirinin komplemanıdır. Bu genetik bakımdan DNA'nın en önemli özelliğidir. Bu sayede replikasyon doğru biçimde cereyan eder (1,7,57).

Genetik bilgi DNA üzerinde saklanmıştır. Bu özelliği ile DNA kalıtsal madde ödevi görür (1,6,7,52,57).

#### REPLİKASYON:

DNA molekülünün kendi benzerini meydana getirmesine replikasyon adı verilir (6). Bu şekilde DNA molekülünün kendi kopyasını meydana getirmesi sonucu kalıtım maddesi dölden dölle hiç kaybolmadan geçebilmektedir (1,6,7).

DNA replikasyonunun en önemli özelliklerinden biri semikon-servatif (yarı koruyucu) tipte oluşudur (6,7). Bu kavrama göre replikasyon sonucu meydana gelen yeni DNA molekülleri biri yeni diğeri eski iki iplikten meydana gelen melez moleküllerdir (7).

DNA replikasyonunun başlaması için DNA çift sarmalının çözülmesi gereklidir (6,7). Çözülme olayında çözücü protein adı verilen bazı özel proteinler rol oynamaktadır. Bunlara örnek olarak T<sub>4</sub> fajından elde edilen protein 32 ve gen 5'den elde edilen protein 5 verilebilir (48).

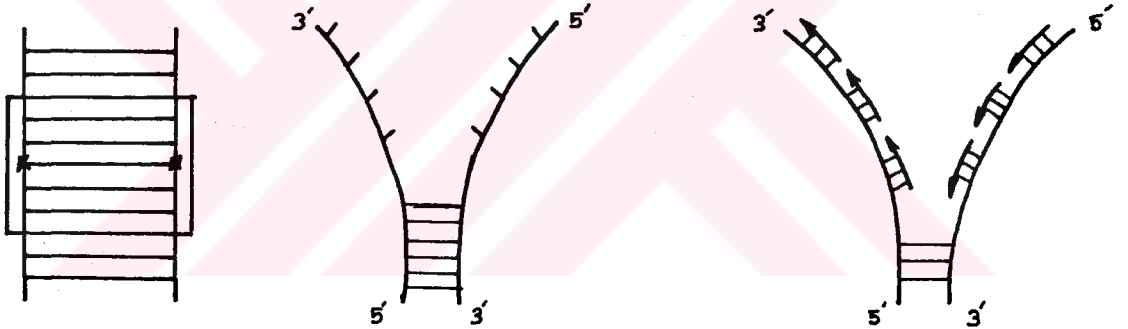
Replikasyon her zaman belli sabit bir noktadan başlar. Bu sabit noktaya orijin veya başlangıç noktası denir (7).

DNA replikasyonunda rol oynayan enzim Kornberg enzimi ya da DNA Polimeraz adı verilen enzimdir (48,52). Bu enzimin varlığında, deoksiniükleozid 5'trifosfatlardan (5'dATP, 5'-dGTP, dTTP ve 5'dCTP) yeni DNA zincirlerinin sentezlenmesi katalizlenmektedir (6). Bu reaksiyonun gerçekleşmesi için bir DNA polimerazın, her dört nükleozit trifosfatın ve magnezyum iyonlarının varlığı gereklidir (1,6,52).

DNA replikasyonunda yeni ipliklerin sentezi 5'→3'yönünde ve aralıklı olarak yapılır. (Küçük parçalar halinde) Sentezin aralıklı biçimde yapılması polimerazın sadece 5'→3'yönünde çalışabilmesinden kaynaklanmaktadır. Bu aralıklar daha sonra ligaz cinsi enzimler tarafından birbirine bağlanır (6,48).

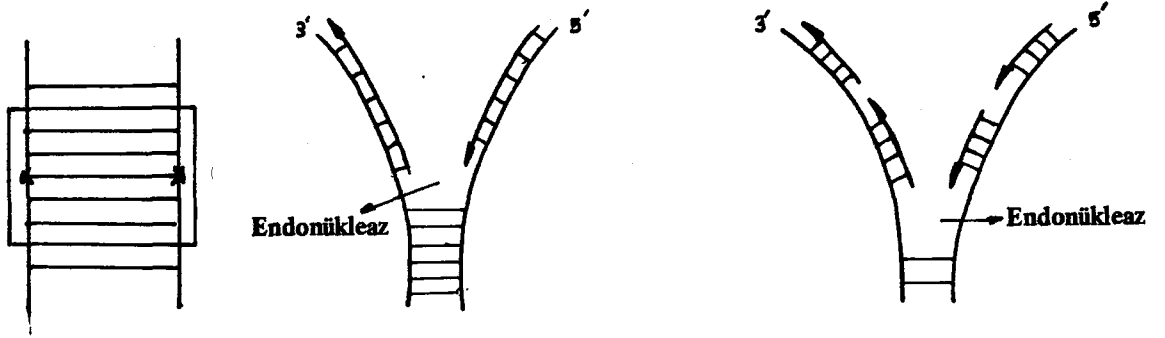
Replikasyon iki iplikte aynı anda meydana gelir. Bu işlemin aynı anda nasıl yapıldığını anlamak için iki model ileri sürülmüştür.

Birinci modele göre DNA ipliğinde çözülmüş olan belli bir noktadan DNA polimeraz enzimi aracılığı ile 5'→3' ipliğinde DNA sentezi başlar. Sentez çözülmeyen bittiği yerde durur. Bir DNA ipliğinde çözülmeye durduktan sonra bunun komplementarı olan ikinci iplik 5'→3' yönünde yeni bir DNA ipliği kataliz eder, Bundan sonra açılma daha da ilerler ve çözülmeye daha çok genişleyince çatallanma bölgesinde önce bir iplikte DNA filamentleri belli bir noktaya kadar gelir. Sonra aynı işlem diğer iplikte olur. Aynı ayrı duran DNA filamentleri birbirine ligaz cinsi enzimler yardımıyla bağlanır. Böylece yeni DNA parçalarının sentezi aynı anda yapılmış olur (6,48) (Şekil 2).



Şekil 2: DNA'nın replikasyonunda I. model

İkinci modele göre de yine başlangıçta çift iplikli sarmal yapıda olan DNA ipliği orijin bölgesinde geçici olarak çözünür ve çözülmüş olan bölgede ipliklerden birinde DNA polimeraz tarafından yeni bir ipliğin sentezi başlatılır. Sentez çatallanma bölgesine gelince diğer iplikte de devam eder. Çatallanma bölgesinde endonükleaz cinsi enzimler devreye girerek iplik koparılır. Sentez bittikten sonra çözülmeye daha da genişler, iplik endonükleaz cinsi enzimler tarafından kırıldığı için açık bir bölge kalır. Aynı işlem sürekli olarak devam eder. Sonra ligaz cinsi enzimlerle DNA parçaları birbirine bağlanır (48) (Şekil 3).

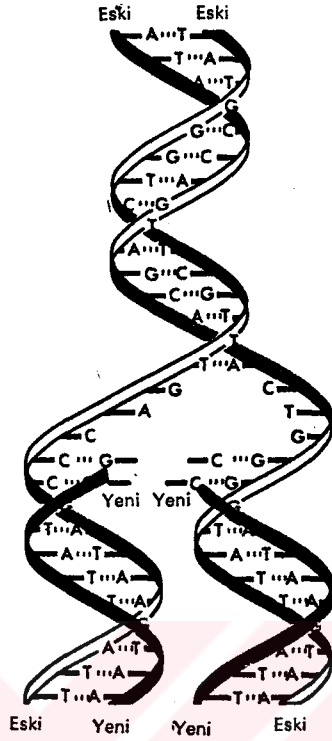


Şekil 3: DNA'nın Replikasyonunda II. Model

DNA'nın replikasyonu çift yönlüdür. Sabit bir başlangıç noktasından başlayarak her iki iplikte ve çift yönde devam eder (6).

DNA replikasyonu son derece doğru bir biçimde gerçekleştirilir. Replikasyonun doğru bir biçimde gerçekleştirilmesinde DNA polimeraz enzimi rol oynar (1,6,7). Replikasyon işlemi sırasında deoksınükleozit trifosfatlar DNA polimeraz üzerindeki aktif noktaya girdiklerinde polimeraz enzimi kalıp iplikteki nükleotidlerin komplemantarı olup olmadığını kontrol eder, gerçekten doğru bir nükleotid o noktaya geçmişse bu nükleotidin bir önceki nükleotide bağlanmasını sağlayacak şekilde onun moleküler yapısını etkiler. Eğer yanlışlıkla başka bir nükleotid yapıya girmişse bu enzim nukleaz gibi davranarak yapıya giren nukleotidi kesip atabilir. Bu yüzden DNA replikasyonu son derece doğru biçimde gerçekleşmektedir (1,6,7).

DNA replikasyonunun doğru biçimde gerçekleştirilmesi bir genin kontrolü altındadır. Bu gende meydana gelen herhangi bir mutasyon sonucu replikasyon olayı doğru biçimde gerçekleşemez. Mikroorganizmalarla yapılan araştırmalar sonucunda mutasyon sonucu DNA polimeraz enzimi kusurlu olan mutand organizmalarda DNA replikasyonunda önemli yanlışlıkların meydana geldiği saptanmıştır (I). Ayrıca organizmaya dışardan verilen kimyasal bazı yabancı maddelerin (5-bromodeoksüridin) DNA Polimeraz tarafından orijinal bazlardan ayırt edilmemesi sonucunda replikasyon esnasında DNA yapısına alınmasında replikasyonda önemli yanlışlıklara sebep olmaktadır (1,6,48) (Şekil 4).



Sekil 4: DNA'nın Replikasyonu

#### MUTASYON (BAŞKALAŞIM):

Mutasyonlar DNA'da meydana gelen kalıtsal nitelikteki yapısal değişikliklerdir (6). Mutasyonlar oluşum biçimleri ve koşulları, meydana geldikleri hücre tipi ya da yol açtıkları durumlara bağlı olarak değişik sınıflandırmalara tabi tutulur (6).

#### Oluşum Koşullarına Göre Mutasyonların Sınıflandırılması:

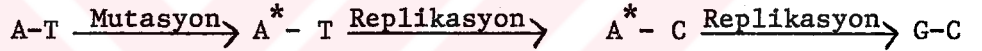
- 1- Doğal (Kendiliğinden meydana gelen) mutasyonlar.
- 2- Deneysel (Yapay) mutasyonlar.

#### 1- Doğal (Kendiliğinden meydana gelen) mutasyonlar:

Doğal mutasyonların oluşum olasılığı  $10^{-5}$  -  $10^{-8}$  arasında değişir (6). Genellikle bir nükleotidin mutasyona uğrama olasılığı  $10^{-7}$  dir (6). Aynı hücrede iki ayrı gende kendiliğinden mutasyon oluşma olasılığı ise sadece  $10^{-14}$  kadardır (1). Kendiliğinden mutasyon oranı sabit değildir ve bir bakteri kültüründe üremeyi sınırlandıran birçok etkenin varlığında değişebilir. Örneğin anerob koşullarda

üretilen kültürlerde aerob koşullarda üretilenlere nazaran kendiliğinden mutasyon oranı daha düşüktür. Yani ortamda oksijenin ( $O_2$ ) mevcudiyeti kendiliğinden mutasyon oranını arttıran bir etkidir (1,37).

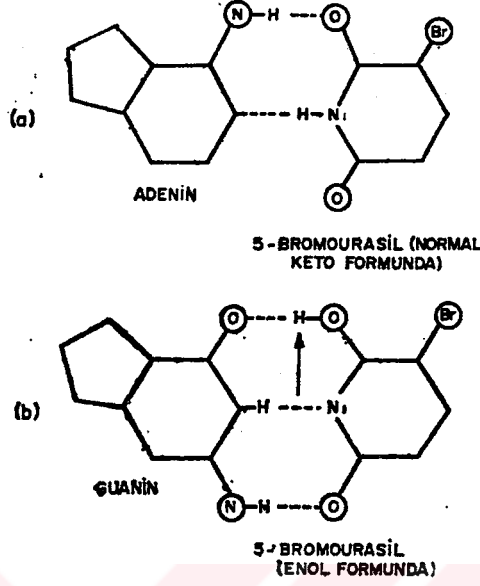
Dış etkenlerin yokluğunda mutasyonlara yol açan mekanizmalara bir örnek olarak adenin (A) ile timin (T) arasındaki ilişki verilebilir. Normal şartlar altında adeninin 6-amino grubu bir hidrojen vericisi, N-I atomu ise bir hidrojen alıcısı özelliğini gösterir. Bu şartlar altında adenin yalnız timin ile hidrojen köprüleri kurulabilir. Nadiren başka bir konformasyona geçmesi sonucu 6-amino grubundan bir 6-imino grubu (hidrojen alıcısı) oluşur ve N-I atomu bir hidrojen vericisi niteliği kazanır. Bu yeni konformasyonda adenin yalnız sitozin ile hidrojen köprüleri kurabildiğinden A-T baz çifti yerini G-C çiftine bırakır (1,6).



## 2- Deneysel (Yapay) Mutasyonlar:

Laboratuvarda deneysel yollardan mutasyonlar oluşturabilmek için en çok kullanılan bir metod, modifiye edilmiş bazlardan (Baz analogları) kurulu nükleotidleri nükleik asit yapı taşları olarak kullanmaktadır (48). Böyle baz analogları arasında en çok kullanılan bir mutajen 5-bromourasildir. Bu mutajen, timin molekülünün 5-metil grubunun yerini bir brom atomuna bırakması sonucu oluşur. Timin ve 5-bromourasil yapılarının benzerliği nedeni ile DNA polimeraz yeni DNA zincirini oluştururken 5-bromourasili substrat olarak kullanır. Böylelikle DNA molekülünde timinin yerini alan 5-bromourasil normal koşullar altında aynen timin gibi hareket eder. Bununla birlikte brom atomunun getirdiği elektro-negatif yük bazın yapısındaki düzeni bozarak, bazın normal keto şeklinin enol şekline dönüşmesine neden olabilir. Hidrojen köprüleri kurma özellikleri değişen 5-bromourasilin eşleme sırasında adenin yerine bir guanin molekülü ile eşleşmesi sonucu T-A baz çifti yerini G-C çiftine bırakır (6, 48).

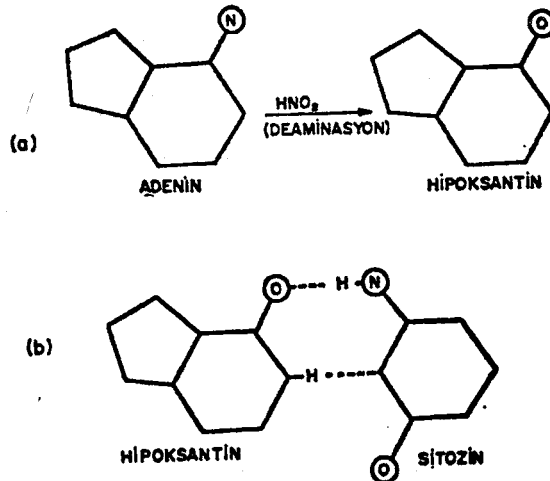
5-bromourasilin keto ve enol şekillerinin hidrojen köprüleri kurma özellikleri Şekil 5'de gösterilmiştir.



Şekil 5: 5-Bromourasilin Hidrojen Köprüleri Kurma Özelliği

5-bromourasilin mutajenik etkisinin görülebilmesi için replikasyon olayının olması şarttır (1,6,48).

Deneyisel mutasyonlar meydana getirmek amacı ile kullanılan bazı kimyasal mutajenler ise DNA'daki bazların yapısını doğrudan değiştirerek mutasyonlara sebep olurlar (1,6). Böyle mutajenik maddelere örnek olarak Nitrous asit ( $\text{HNO}_2$ ) hidroksilamin ( $\text{H}_2\text{NOH}$ ) ve nitroguanidin verilebilir. Bu maddeler özellikle bazların amino gruplarının kaybolmasına sebep olurlar (1,6) (Şekil 6).



Şekil 6: Nitrous asit etkisiyle Adenin'in Hipoksantin'e deamine oluşu ve Hipoksantin'in Sitozinle baz çift-

Kendiliğinden mutasyon meydana getirmek amacı ile Röntgen ışınları, UV ışınlar ya da radyoaktif ışınlar kullanılabilir (37).

Oluşum Mekanizmalarına Göre Mutasyonların Sınıflandırılması:

A-Nokta (Gen) Mutasyonları:

Bir genin kromozom üzerindeki yerini değiştirmeksizin stabil bir halden başka bir stabil hale geçmesine gen veya nokta mutasyonu adı verilir (48). Bu tip mutasyonlarda meydana gelen değişme DNA molekülü üzerinde çok kısıtlı bir bölgeyi etkiler. Nokta mutasyonlar tek bir nükleotidin şeker, fosfat veya bazını etkileyen mutasyonlardır (48). Bu tip mutasyonların meydana gelmesine yol açan değişik mekanizmalar bulunmaktadır.

Nokta mutasyonlarının en önemli özelliği "tautomerizm" adı verilen değişikliklerdir. DNA baz çiftleri arasındaki Hidrojen atomlarının yer değiştirmesine "tautomerizm" adı verilir (1). Bu olay sonucu DNA molekülünde yanlış baz eşleşmeleri meydana gelir ve T-G veya A-C baz çiftleri oluşabilir (1).

Nokta Mutasyonlar Üç Grupta İncelenebilir:

I-Eşanlı Mutasyonlar: Bu tip nokta mutasyonlarda mutasyon sonucu bazın bulunduğu şifre sözcüğünün anlamı değişmez (6).

Örnek: CCC	Prolin
CCA	"
CCG	"
CCU	"

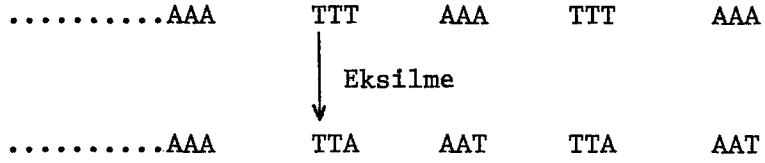
2-Yanlı Anlamli Mutasyonlar: Bu tip nokta mutasyonlarında mutasyon sonucu şifre sözcüğünün anlamı değişir ve başka bir aminoasit şifrelenir.

Örnek: Hemoglobin A'nın mutant tipleri (6,14).

DNA	mRNA	Protein (β globulin)
3'...CAT ...5'	5' ...GUA ...3'	Valin (HbS)
3'...CTT ...5'	5' ...GAA ...3'	Glutamik asit (HbA)
3'...TTT ...5'	5' ...AAA ...3'	Lisin (HbC)

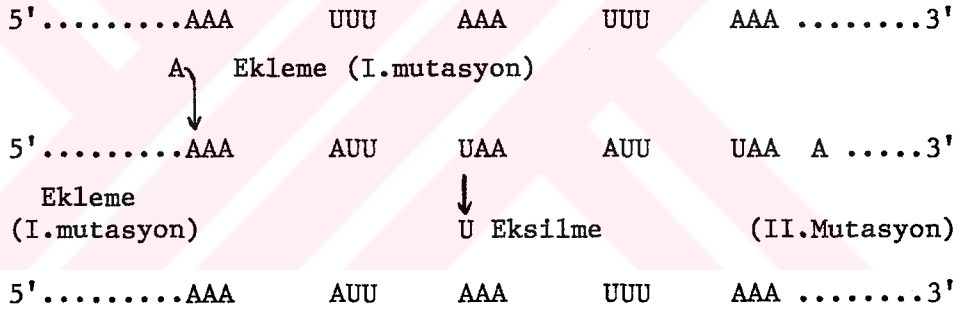






**Baskılama (Supresyon):**

Bir mutasyon etkisi bazen aynı gende ya da başka bir gende meydana gelen ikinci bir mutasyon ile baskılanabilir. Baskılayıcı nitelikte bir mutasyonun etkisiyle aynı gende ilk mutasyonun etkisinin kalkmasına (gen içi supresyon) örnek olarak bir ekleme mutasyonunu izleyen bir eksilme ya da tersi mutasyonu gösterebilir. Bu sayede ilk mutasyon sonucu tüm bir baz dizisinin okunmasında bir kayma önlenmiş olur ve mutasyonun etkisi amino asit dizisindeki bir iki değişiklikle sınırlanır (6,48).



Bunun yanı sıra teorik olarak bir nokta mutasyonun etkisinin onu geriye dönüştüren ikinci bir mutasyonla kalkabileceğide düşünülebilir.



Bir mutasyonun etkisi genler arası supresyon mekanizmasında tRNA moleküllerinin (Supresör tRNA'ların) aracılığı ile de baskılanabilir. Bu mekanizmada supresyona yol açan tRNA molekülünün antikodonunu şifreleyen DNA baz dizisinde ikinci bir mutasyonun olduğu görülür. Antikodonundaki bu değişiklik sayesinde tRNA molekülü birinci mutasyon sonucu ortaya çıkabilecek anlamsız bir kodonu bir amino asitmiş gibi okuyarak sentezin zamansız durmasını önler (48).

Örneğin Tirocini kodlayan UAC kodonu bir mutasyon sonucu anlamsız bir kodon olan UAG'ye dönüşebilir. Tirocine özgü tRNA moleküllerinin birinin anti kodonunun (AUG) ikinci mutasyon sonucu mRNA'daki UAG'yi tanıyan AUC antikodonuna dönüşmesiyle anlamsız mutasyona karşın normalde beklenen proteinin yapılması mümkün olabilir.

Böyle bir supresör tRNA'nın varlığının mutasyonu bastırıcı dolayısıyla yararlı nitelikteki etkisinin yanısıra hücre içi olumsuz sonuçlara yol açabilecek ikinci etkiside düşünülebilir. Az önce verdiğimiz supresör tRNA'nın doğal tirocin sözcüklerini okuyamaması protein sentezinin tirocini kodlayan sözcüklere gelince durmasına yol açabilir veya supresör tRNA tüm AUG kodonlarıyla sentezi doğal terminasyonun ötesinde de sürdürebilir.

Meydana Geldikleri Yere Göre Mutasyonların Sınıflandırılması:

I-Somatik Mutasyonlar:

Somatik mutasyonlar normal vücut hücrelerinde meydana gelen mutasyonlardır. Bu tip mutasyonlar hücre özelleşmesinde rol oynarlar ve ayrıca kanserleşmenin esasını meydana getirirler (6).

2- Genetik Mutasyonlar:

Bu tip mutasyonlar eşem hücrelerinde meydana gelen ve dölden dölle geçebilen mutasyonlardır. Canlılardaki evolüsyonun esasını teşkil ederler (6).

Ayrıca mutasyonlar organizma için doğurdukları sonuçlara göre sessiz, olumsuz etkili ve ölümcül nitelikte olabilirler. Genellikle bir mutasyon evrim süresince oluşur ve bir proteinin özelliklerinin kaybolmasına yol açabilir. Bununla birlikte çok seyrekte olsa bir mutasyon sonucu amino asit dizisindeki değişiklik, proteinin işlevini daha etkin ve daha hızlı yapmasına sebep olabilir.

MUTAJENLER:

Mutajenler mutasyon meydana getiren maddeler ve etmenler olarak tanımlanabilir (1). Bilindiği gibi kendiliğinden (spontan) meydana gelen mutasyonlar çok nadir olarak (1/1000000) oluşmaktadır (1). Fakat bazı mutajenik maddeler kullanmak suretiyle kendiliğinden mutasyon oranı  $10^{-5}$  -  $10^{-10}$  dan %3'e kadar yükseltilebilir (1).

Normalde gerek kendiliğinden gerekse yapay (deneysel) mutasyonlarda her genin mutasyona uğrama şansı birbirine eşittir. Mutajen maddelerde fark gözetmeksizin etki yaparlar (1).

Yapay (Deneyisel) mutasyonlar ilk olarak 1928 yılında Mueller tarafından X ışınları kullanılarak Drosophila'larda gerçekleştirilmiştir (1). Daha sonra 1932 yılında ultraviyole ışınlarında aynı mutasyonları yapabildiği gösterilmiştir (1). Demerec ve Laterjet 1946 yılında UV ve X ışınlarının E.Coli hücrelerinde belirli mutasyonlar yapabileceğini göstermişlerdir (7). İlk kimyasal mutajenler 2. Dünya Savaşı sırasında Almanların I. Dünya savaşında zehirli gaz olarak kullandıkları "nitrogen mustard" gazının drosophila'lar üzerindeki etkilerinin incelenmesi sonunda keşfedilmiştir (Auerbach 1940). Koller bu maddenin mutajenik etkisinin bölünmekte olan hücrelerin kromozomlarında yaptığı bozukluklardan ileri geldiğini kanıtlamıştır. Daha sonraları mutajenik etkisi olan çok sayıda kimyasal madde bulunmuştur. Organik asitler, inorganik asitler, alkaliler, amonyak, peroksitler, maden tuzları, formaldehit, fenoller, boyalar, karsinojenik maddeler, epioksitler, etilaminler, alkileyici etkenler, akridinler, mitomycin C, nitrous asit, azaserine, 2-aminopurine, ilaçlar, 5-fluorourasil, 5-bromourasil örnek olarak verilebilir (1, 6,8,48).

Mutajenler, kromozom yapısı mutasyonlarına (translokasyon, delesyon, inversiyon, duplikasyon v.b) ve gen mutasyonlarına sebep olmaktadır (52).

Mutajenleri başlıca iki grupta toplamak mümkündür.

A- Fiziksel Mutajenler.

B- Kimyasal Mutajenler.

A-Fiziksel Mutajenler:

Düşük pH, nötral pH derecelerinde ısıtma, manyetik ya da elektiriksel alanda tutma, X ışınları, UV ışınları gibi fiziksel etkenler transizyon ve transversiyon tipinde mutasyonlara sebep olurlar (1). Ayrıca  $\alpha$  (alfa) ışınları,  $\gamma$  (gama) ışınları, nötronlarda fiziksel mutajenlere örnek olarak verilebilir (1,37).

$\gamma$  (gama) ışınları ve nötronlar mutajenik aktivitesi çok yüksek olan fiziksel mutajenlerdir (37) Ortamda oksijen mevcudiyeti fiziksel mutajenlerin etkisinin artmasına sebep olmaktadır (37).

B-Kimsayal Mutajenler:

a) Baz Anologları: Bu tip mutajenik ajanların molekül yapıları, purin ve pirimidin bazlarının yapılarına çok benzer. Bu nedenle bu maddelerin mutajenik etkileri DNA'nın replikasyonu esnasında bazlar arasında oluşan yanlışlıkların bir sonucudur. Bu maddeler replikasyon esnasında normal DNA bazları gibi davranarak yeni oluşmakta olan DNA'nın yapısına katılırlar. Ancak hidrojen atomlarının pozisyonlarının değişik olması nedeni ile DNA yapısında yanlış baz çiftlerinin oluşmasına yol açarlar (1,6,48).

Bu maddelere en iyi örnek 5-bromourasil'dir (BU). Bu madde bir timin analogudur. DNA replikasyonu esnasında bir timin gibi davranıp bu bazın yerini alarak yeni oluşan DNA'nın yapısına girer ve bunun sonucu A-T baz çiftinin yerini G-C çifti alır. Böylece DNA'nın nükleotid iplikçikleri üzerinde baz sırası değişir ve transisyon tipinde bir nokta mutasyonu meydana gelir (1,6,48).

Baz analoglarına ikinci örnek 2-aminopurindir. Bu madde amino formunda iken timinle çift oluşturur (AP-T). Aminopurin bir imino formunda da bulunabilir ve bu durumda iken sitozinle çift oluşturabilir ve bunun sonucuda gen üzerinde (A-T) çiftlerinin bulunduğu noktalarda (AP-C) çiftleri meydana gelir. DNA replikasyonundan sonra G-C çiftleri oluşarak orijinal A-T çiftlerinin yerini G-C çiftleri alır. Burada da yine transisyon tipinde bir nokta mutasyon söz konusudur (1,6).

b) DNA'daki Bazları Değiştiren Maddeler: Bu tip mutajenler replikasyon olayı olmadan doğrudan doğruya DNA'daki bazların yapısını değiştirirler. Bunların en önemlisi nitroz asit ( $\text{HNO}_2$ ) dir. Bu madde doğrudan doğruya DNA'daki bazların amino gruplarına giderek baz sırasında değişiklikler meydana getirir. Bu tip etki Adeni'ni Hipoksantine kolayca dönüştürebilir. Bu etki sonunda oluşan hipoksantin ise sitozin ile baz çiftleri oluşturur. DNA'nın bundan sonraki

ilk replikasyonu esnasında sitozin guanin ile baz çifti oluşturarak gende A-T çiftlerinin buldukları noktalarda C-G baz çiftleri meydana gelir. Ancak nitroz asit sitozinide urasile deamine edebilir. Böylece DNA yapısındaki C-G baz çifti yerine A-U baz çifti geçebilir ve kolayca A-T baz çifti ile yer değiştirebilir (1,6).

Nitröz asidin mutajenik etkisi daha çok bu maddenin Adenin ve sitozin üzerine olan etkisinden ileri gelir ve bu etki sonucunda iki yönlü transisyon mutasyonları oluşur (1,6).

Bu gruptaki kimyasal mutajenlere ikinci örnek Hydroxlamine ( $\text{NH}_2\text{OH}$ ) dir. Bu madde sadece sitozini etkiler. Etki sonucunda sitozin değişerek sadece Adenin ile birleşebilmektedir (C-A). Bundan sonraki replikasyon olayında her A bazı T ile hidrojen bağı oluşturacağından G-C baz çiftleri yerine bu bölgelerde A-T çiftleri meydana gelir (6).

c) Alkileyici Maddeler: Kükürt, nitrojen mustard, etil metan sülfanat (EMS) bu gruba girerler (8). Bu maddeler en az iki yolla mutasyon oluşturur.

1-Guanine etil metil grubu ekleyerek guaninin adenin gibi davranmasına sebep olurlar.

2-Alkilleşen guanin bazları kaybolurlar. Bunun sonucu DNA molekülü üzerinde aralıklar oluşur. Bu olaya depurinizasyon denir. Depurinizasyon olayı sonucu okuma kalıbında boşluklar meydana gelir. mRNA oluşamaz ve bu yüzden protein sentezi yapılamaz (8).

d) Akridinler (Proflavine, Akridine Orange): Bu maddeler DNA'nın omurgasına bağlanarak omurgayı gevşetir, sentezi inhibe eder ve iplikçiklerin onarılmasında yanlışlıklara neden olurlar. Akridinler genellikle C-G  $\longrightarrow$  A-T veya A-T  $\longrightarrow$  T-A şeklinde transversiyon tipinde nokta mutasyonlara yol açarlar. Bu tip maddelerin meydana getirdikleri mutasyonlar sonucu mutasyonun meydana geldiği gen fonksiyonunu tamamen kaybeder. Akridinlerin meydana getirdiği mutasyonlar sonucu delesyon (Eksilme) ve insertion (Artma) olayları meydana gelmektedir (1,48).

Bazı kimyasal mutajenlerin baz çiftlerinde oluşturdukları de-ğişiklikler Tablo 1'de gösterilmiştir.

TABLO I: Bazı kimyasal mutajenlerin baz çiftlerinde oluşturduğu nokta mutasyon tipleri.

MUTAJEN ETKEN	BAZ ÇİFTİ DEĞİŞİMİ	DEĞİŞİM TİPİ
5-bromourasil (BU)	A-T $\rightleftharpoons$ G-C	Çift yönlü transisyon
2-aminopurin (AP)	A-T $\rightleftharpoons$ G-C	Çift yönlü transisyon
Nitröz asit (NA)	A-T $\rightleftharpoons$ G-C	Çift yönlü transisyon
Hidroksilamin (HA)	G-C $\longrightarrow$ A-T	Tek yönlü transisyon
Etil etan-sülfanat (EES)	G-C $\longrightarrow$ A-T	Tek yönlü transisyon
	G-C $\longrightarrow$ T-A	Transversiyon
	G-C $\rightleftharpoons$ C-G	İki yönlü transisyon
Akridinler	C-G $\longrightarrow$ A-T	Transversiyon
	A-T $\longrightarrow$ T-A	Transversiyon

Mutajen etkenlerin meydana getirdikleri strüktürel kromozom aberasyonları üç çeşittir.

- Kromozom tipi aberasyonlar.
- Kromatid tipi aberasyonlar.
- Subkromatid tipi aberasyonlar.

Bir mutajenin kromozomlarda hangi tip aberasyon meydana getireceği hücre siklusunun hangi devrinde mutajenik etkene maruz kaldığına bağlıdır.

a- Kromozom Tipi Aberasyonlar:

Eğer mutajenik bir etken kromozomların duplikasyonundan önce (DNA replikasyonundan önce) yani hücre siklusunun S fazından önce meydana gelmişse kromozom tipi aberasyonlar meydana gelir (48). Bu tip aberasyonlarda kırılma kromozomun her iki kromatidinde birlikte meydana gelir ve bu olay sonucu kırılma yeri tekrar yapışmazsa

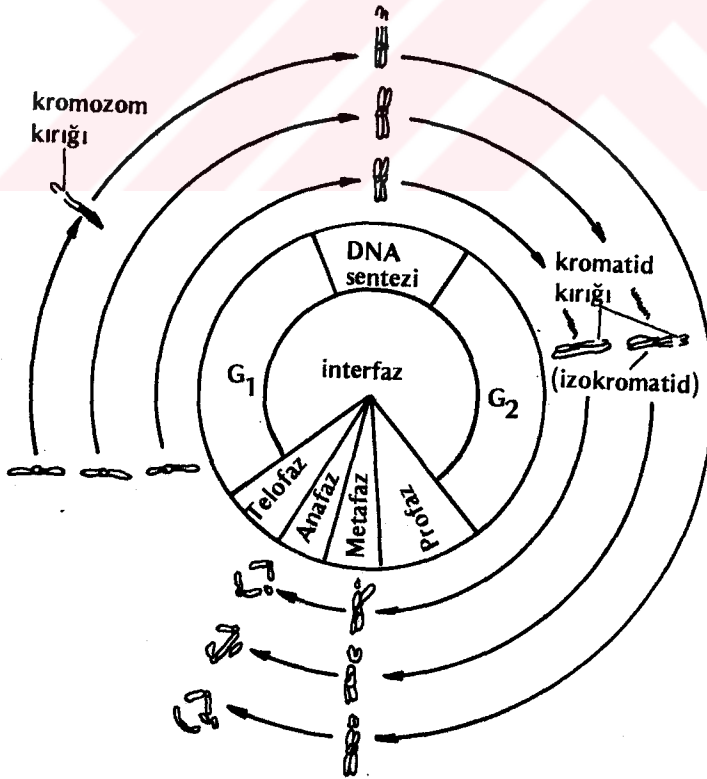
sentromersiz (asentrik) kromozom parçaları, ring kromozomu ve disentrik kromozomlar oluşur (37,48,52).

b- Kromatid Tipi Aberasyonlar:

Mutajenik bir etken kromozomların duplikasyonundan sonra (DNA replikasyonundan sonra) meydana gelirse bu durumda kromatid tipi aberasyonlar oluşur. Bu tip anomalilerde kırıklar kromozomun tek bir ipliğinde meydana gelir. Bu tip kırılmalar sonucu asentrik (sentromersiz) kromozom parçaları meydana gelebilir (7,37,48,52).

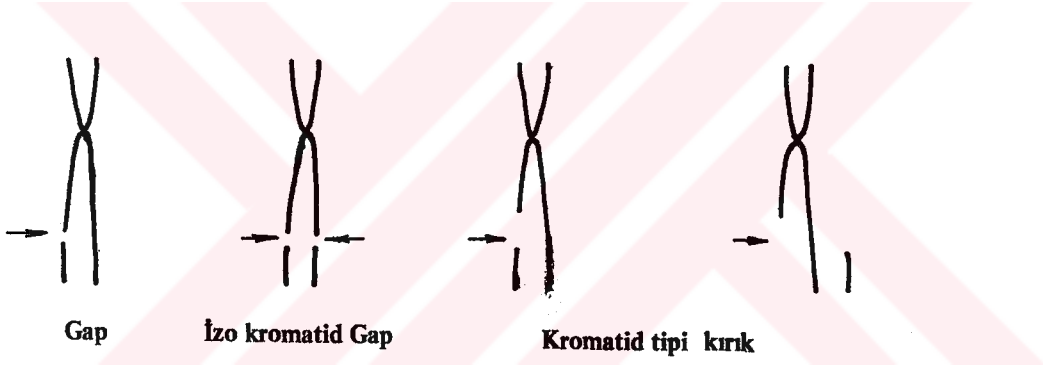
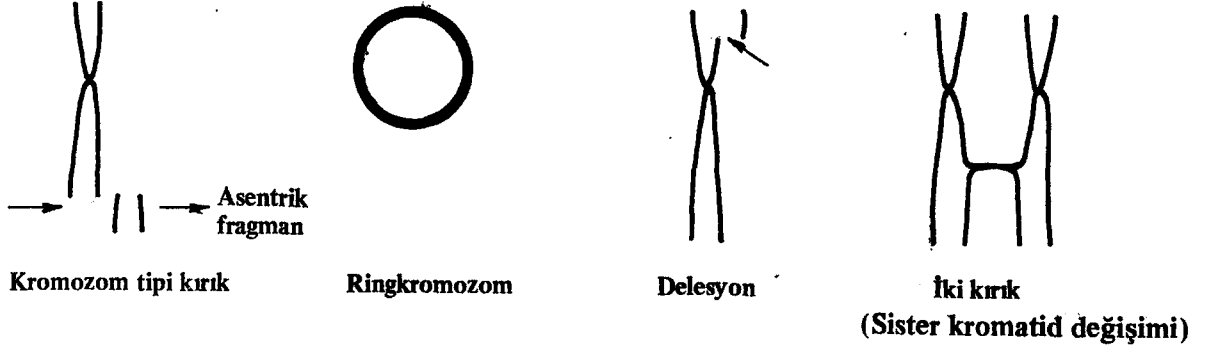
c- Subkromatid Tipi Aberasyonlar:

Subkromatid tipi aberasyonlar tek bir kromatidden de küçük kromozom üniteleri arasındaki parça değişimi olayıdır. Bu tip aberasyonlar mitoz bölünmenin, profazında veya I.meios bölünme esnasında etki eden mutajenik etkenler ile meydana gelirler (52)(Şekil 7).



Şekil 7: Hücre Siklusunda Meydana Gelen Kırık Tipleri

Çeşitli mutajenik etkenler etkisiyle kromozomlarda kırıklar, delesyon, asentrik kromozom parçaları, disentrik kromozomlar ve ring (halka) kromozomlar ortaya çıkarlar (1,7,48,52). (Şekil 8).



Şekil 8: Mutajenik Etkenler Etkisiyle Meydana Gelen Kırık Tipleri.

#### DNA ONARIM MEKANİZMALARI:

Hücreler fiziksel ve kimyasal mutajenler etkisiyle DNA'larında meydana gelen yapısal kusurları DNA molekülünün kendini yenileme kabiliyeti sayesinde onarabilmektedirler. Bu onarım mekanizması üç yolla gerçekleştirilir.

#### Aydınlıkta Onarım (Fotoreaktivasyon):

Bu onarım mekanizmasında fotoreaktiv enzim adı verilen bir enzim rol oynar. UV ışık etkisiyle DNA molekülünde timin dimerinin meydana gelmesinden sonra dalga boyu 300-400 nm olan görülebilir ışığın varlığında fotoreaktiv enzim dimere bağlanarak monomerlerine



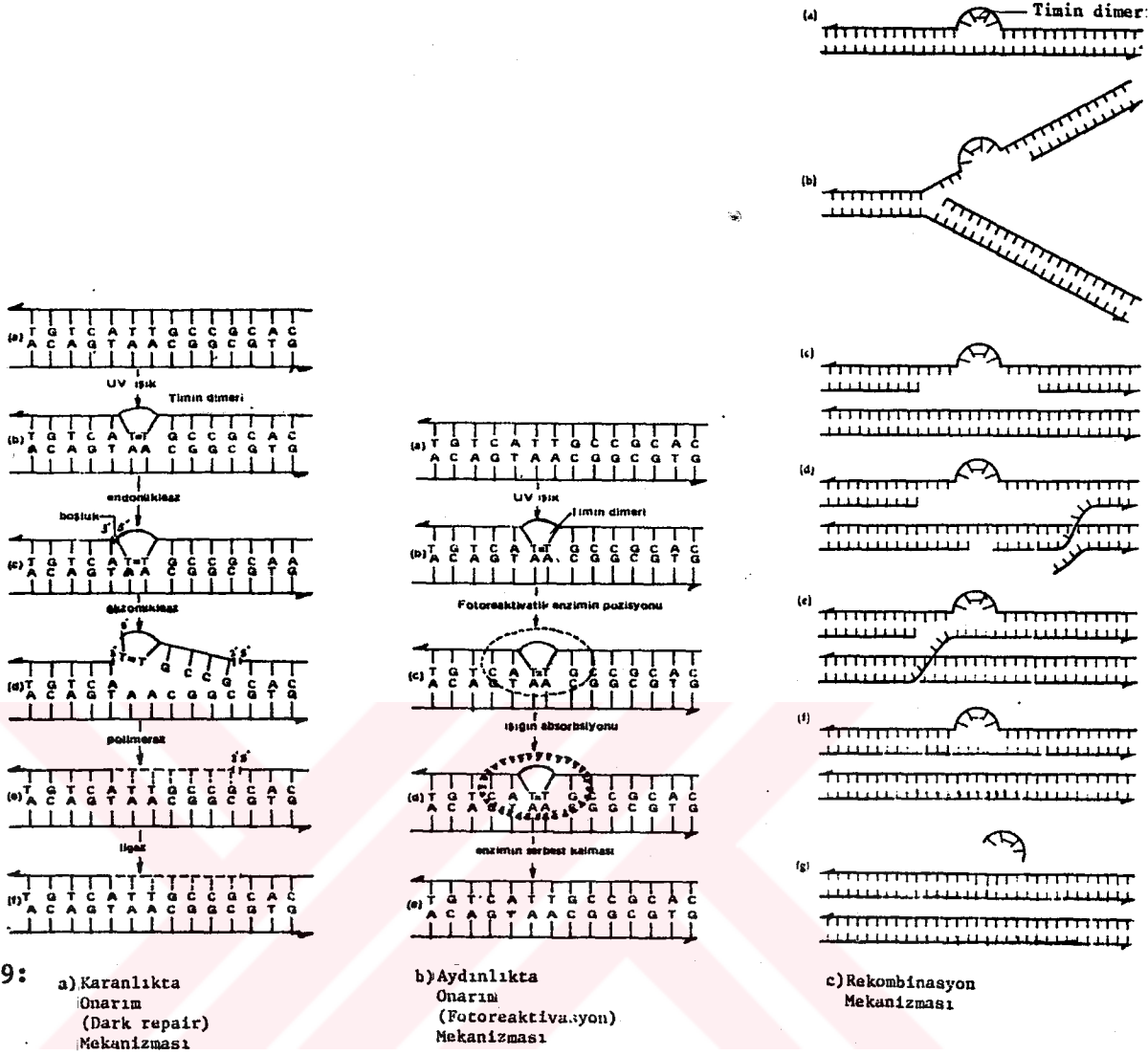
ayırır. Monomerlerine ayrılan timinler DNA'dan atılmadığı için bu olayda bir materyal kaybı meydana gelmez. Tamir işleminden sonra fotoreaktiv enzim serbest hale geçer (1,48).

#### Karanlıkta Onarım (Dark Repair):

Karanlıkta onarım mekanizması timin dimerlerinin kesilmesi ve tekrar yerine konması mekanizmasıdır. Bu mekanizmada UV ışık etkisiyle DNA'nın bir ipliğinde timin dimeri oluşunca endonükleaz enzimi tarafından iplik timin dimerinin yanından kırılır. Oluşan boşluk endonükleaz tarafından genişletilerek timin dimerinin olduğu kısım çıkarılarak atılır. Çıkartılan kısmın karşısındaki komplementar DNA ipliği kalıp olarak kullanılarak yeni bir iplik sentez edilir. Bu iplik parçasının ligazlar tarafından orijinal ipliğe bağlanması sonucunda timin dimeri onarılmış olur (48).

#### Rekombinasyon Mekanizması:

Timin dimerlerini taşıyan ipliklerin yeni oluşacak bir DNA molekülü tarafından onarılmasını sağlayan bir mekanizmadır. DNA molekülünün bir ipliği üzerinde timin dimeri oluşunca iki iplik bu bölgeden itibaren birbirinden ayrılmaya başlar. Orijinal iplikler kalıp olarak kullanılarak iki yeni DNA ipliği sentez edilir ve yeni bir DNA molekülü meydana gelir. Böylece iki DNA molekülü oluşur. Yeni DNA molekülünün bir ipliği iki yerinden endonükleaz tarafından kırılarak serbest kalan uçlar arasında parça değişimi olayı meydana gelir. Timin dimerinin karşısındaki boşluk yeni oluşan iplik kalıp olarak kullanılıp yeni bir iplik sentez edilerek doldurulur. Sonuçta içerdiği genler bakımından farklı iki yeni rekombinant DNA molekülü meydana gelir (48) (Şekil 9).



Şekil 9:

a) Karanlıkta Onarım (Dark repair) Mekanizması

b) Aydınlıkta Onarım (Fotoreaktivasyon) Mekanizması

c) Rekombinasyon Mekanizması

### DNA OLUŞUM BOZUKLUĞUNA BAĞLI OLARAK OLUŞAN HASTALIKLAR:

#### Ataxia Telangiectasia:

Ataxia Telangiectasia otosomal resesif kalıtım özelliği gösteren immün yetmezliğine bağlı bir hastalıktır. Hastalıklarda konjunktiva ve deride telangiectazi, nörolojik bozukluklar, anormal immuniteden dolayı gelişen pulmoner infeksiyonlar ve yüksek oranda lenforetüküler malignite gelişebilir (23). Gerek lenfositler, gerekse fibroblastlarla yapılan kültürlerde kromozom ve kromatid tipi kırıklar olduğu gözlenmiştir. Hastalığa yakalanma insidansları oldukça yüksektir.

Ataxia Telangiectais'lı hastalar X ışınlarına duyarlıdır. İonizan radyasyon lenfositlerde kromozom ve kromatid aberasyonlarını arttırır. Enteresan bir özellik lenfosit kültürlerine uygulanan ionizan radyasyonun sadece  $G_1$  fazındaki değil aynı zamanda  $G_0$  fazındaki kromatitlerde de kırıklar ve kromatid değişimleri meydana getirmesidir (23). Kromatid değişiklikleri genellikle triradialdır. İonizan radyasyonla birlikte methyl methansulfanat, mitomicin C ve actinomycin D'de kromozom ve kromatid kırıklarını arttırırlar. Bu duyarlılıktaki artış DNA'daki tek ve çift ipliklerin birleşememe kapasitesinin azlığından değil modifiye olan bazların kesilip atılmamasından dolayıdır (23).

#### Xeroderma Pigmentosum:

Xeroderma pigmentosumlu hastalar güneş ışığına maruz kaldıklarında deri kanserleri ortaya çıkar. Hastalarda mental retardasyon ve nörolojik bozukluklar mevcuttur. Deride kanser oluşumunun nedeni DNA hasarlarının replikasyon yolu ile tamir edilememesinden kaynaklanmaktadır. Ultraviyole ışınları etkisiyle DNA'nın polinükleotid zinciri üzerinde iki timin bazı arasında Timin dimerleri oluşur. Hastalarda endonükleaz enzimi eksikliğinden dolayı bu dimerler DNA molekülü tarafından tamir edilemez (23).

#### Fanconi Anemisi:

Fanconi anemisi otosomal resesif kalıtım özelliği gösteren bir hastalıktır. Bu tip hastalarda aplastik anemi, somatik anomaliler (özellikle radius ve baş parmakta), büyüme geriliği, deride hiperpigmentasyon mevcuttur ve hastalar kansere özellikle lösemiye eğilimlidir. Somatik hücrelerde kromozom anomalilerine sıklıkla rastlanır. Gerek lenfosit, gerekse fibroblastlarda kromatid kırıkları, gap ve exchange figürleri mevcuttur. Fanconi anemili hastaların kromozomları mitomicin C'ya çok hassastır ve bu ilaç etkisiyle lenfosit kromozomlarında çok sayıda kırık meydana gelir. Kırık oranının en fazla arttığı safha hücre siklusunun  $G_1$  fazıdır. Mitomicin C etkisiyle bu tip hastalarda kromatid kırıkları ve sister kromatid değişiklikleri oluşur. Ultraviyole ışınları ile bu tip hastalarda timin dimerleri meydana gelir. Fanconi anemili hastalarda endonükleaz, DNA polimeraz

ve ligaz enzimleri defektif değildir. Yapılan araştırmalar sonucu exonükleaz enzimi aktivitesinin eksikliği sonucu bu hastalarda DNA replikasyonunun bozukluğu dolayısıyla timin dimerlerinin orarılama-đı sonucuna varılmıştır (23).

#### Bloom Sendromu:

Bloom sendromu otosomal resesif bir hastalıktır. Bu tip hastalarda gelişme geriliği, güneş ışınlarına aşırı duyarlılık, fasiyal telangiectazik erytema, infeksiyonlara aşırı duyarlılık mevcuttur ve hastalar lösemi ve diğer kanser türlerine eğimlidir. Gerek lenfosit, gerekse fibroblastlarda kromozomal aberasyonlar görülür ve bu aberasyonlar genellikle quadriradial exchange figür şeklindedir. Kromozomlarda gap ve kırıklar mevcuttur.

Bloom sendromlu hastaların güneş ışınlarına duyarlılığının mekanizması bilinmemektedir. Fakat fibroblastlarda DNA zinciri gelişiminin düşük bir düzeyde olduğu bazı araştırmacılar tarafından gösterilmiştir (23).

Bloom sendromunda DNA hasarlarının tamir edilemediğine dair bir bulgu olmamasına rağmen bu en kuvvetli ihtimaldir.

#### TOXOPLASMOSİS (TOXOPLAZMOZ):

Toxoplasmosis dünyanın her tarafından rastlanan bir protozon olan Toxoplasma gondii tarafından meydana getirilen bir hastalıktır (3,13,54,56).

Toxoplasmosis'in etekeni olan Toxoplasma gondii boyu 4-6 mikron, eni boyunun yarısı kadar olan, takizoit veya trofozoit şeklinde çok defa hücre içinde tek tek veya gruplar halinde bulunan bir hücre içi parazitidir (54). Giemsa boyası ile stoplazma mavi, nükleus pembe veya kırmızı boyanır. Yalnız canlı hücrelerin stoplazmasında çoğalabilen Toxoplasma gondii hareketlidir ve bütün memelileri ve kuşları infekte edebilir (56).

Toxoplasma gondii retikuloendotelial sistem hücrelerinde, dalak, karaciğer, akciğer, göz, beyin ve diğer organların parankim

dokusunda yerleşerek uterus içinde bulunan fetustan başlayarak her yaştaki kişiyi infekte eder ve organlarda iltihabi ve nekrozlu lezyonlara yol açar (3,26,54). İnfekte hücrelerin parçalanması ile serbest kalan parazitler yakındaki hücreleri infekte eder veya kan ile uzak organlara taşınır (13).

Bazı araştırmacılar tarafından *Toxoplasma gondii*'nin kırık şeklinde kromozom yapı kusurlarına yol açtığı ileri sürülmüştür (33, 56).

*Toxoplasmosis* konjenital ve sonradan kazanılan *Toxoplasmosis* olarak ikiye ayrılır. Konjenital *Toxoplasmosis* gebe kadında genellikle belirtisiz seyreden bir infeksiyon sonucu oluşur ve düşüğe, ölü doğuma, erken doğuma veya *Toxoplasmosis*'li bir çocuğun doğumuna neden olabilir (9,13,26,43,54).

Sonradan kazanılan *Toxoplasmosis*'in kuluçka dönemi bilinmemekle birlikte infeksiyon bazı kimselerde belirtisiz, bazı kimselerde akut, subakut veya kronik olarak seyreder (13,56,61).

Tanı etkenin görülmesi, izole edilmesi veya meydana gelen antikorların saptanması ile konur. Kan, beyin, omurilik sıvısı, kemik iliği, dalak, karaciğer, lenf bezi ponksiyon sıvılarından hazırlanan preparatlar giemsa boyası ile boyanarak *Toxoplasma gondii* aranır (9). Serolojik tanıda Sabin Feldman boya inhibisyon deneyi, indirekt fluoressan antikor deneyi (IFA), indirekt hemaglutinasyon (IHA), kompleman birleşmesi deneyleri ve son yıllarda Elisa tekniği kullanılır (9,13,54,56).

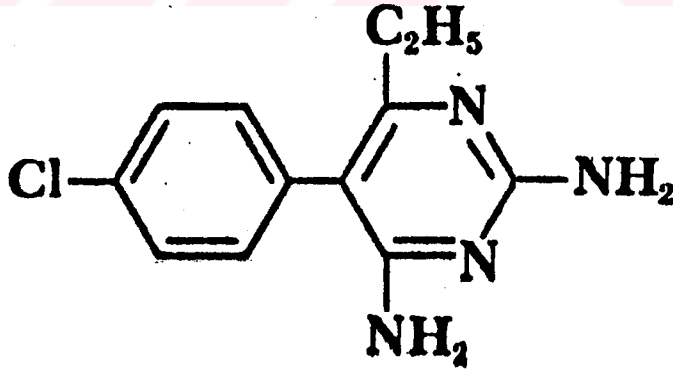
Tedavi Pyrimethamine ile birlikte sülfanamid kullanılarak yapılır. Değişik literatürlerde tedavide kullanılan Pyrimethamine dozajı ve tedavi süresi farklıdır (10,11,13,31,36). Ayrıca Spiramycin, Clindomycin ve Trimethoprim-sulfametoksazol'de kullanılır (9,54).

### PYRIMETHAMINE (DARAPRİM) :

1945 yılında İngiltere'de Rose, Curd ve Davey adlı araştırmacılar tarafından uzun süren araştırmalar sonucu antimalarial etkisi olan Chloroguanide'in bulunmasından sonra 1948 yılında bir 2,4 - diamino-pyrimidin olan Guanidine keşfedildi (10,31). Aynı yıl yapılan çalışmalar sonucu bir folik asit antagonisti olan Pyrimethamine bulundu (10).

Pyrimethamine 1951 yılında insanda plasmodium infeksiyonunun tedavisinde kullanıldı (10). Daha sonra 1968 ve 1969 yıllarında ilk defa Toxoplasmosis tedavisinde sülfonamidlerle birlikte kullanıldı (10).

Pyrimethamine bir 2,4-diamino-pyrimidindir (10,11,15). Açık formülü 2,4-diamino-5-p-chlorophenyl-6-ethylpyrimidin şeklindedir (31). Pyrimethamine aynı zamanda Chloridin, Darapram, Daraprim, Erbaprelina ve Malocide olarak da bilinir (31). (Şekil 10).



Pyrimethamine

Şekil 10: Pyrimethamine'in Yapısı

Pyrimethamine 25 mg'lık tabletler halindedir ve tedavi esnasında oral yolla alınır. Değişik literatürlerde Toxoplasmosis tedavisinde kullanılan Pyrimethamine dozu 25-75 mg arasında değişmesine

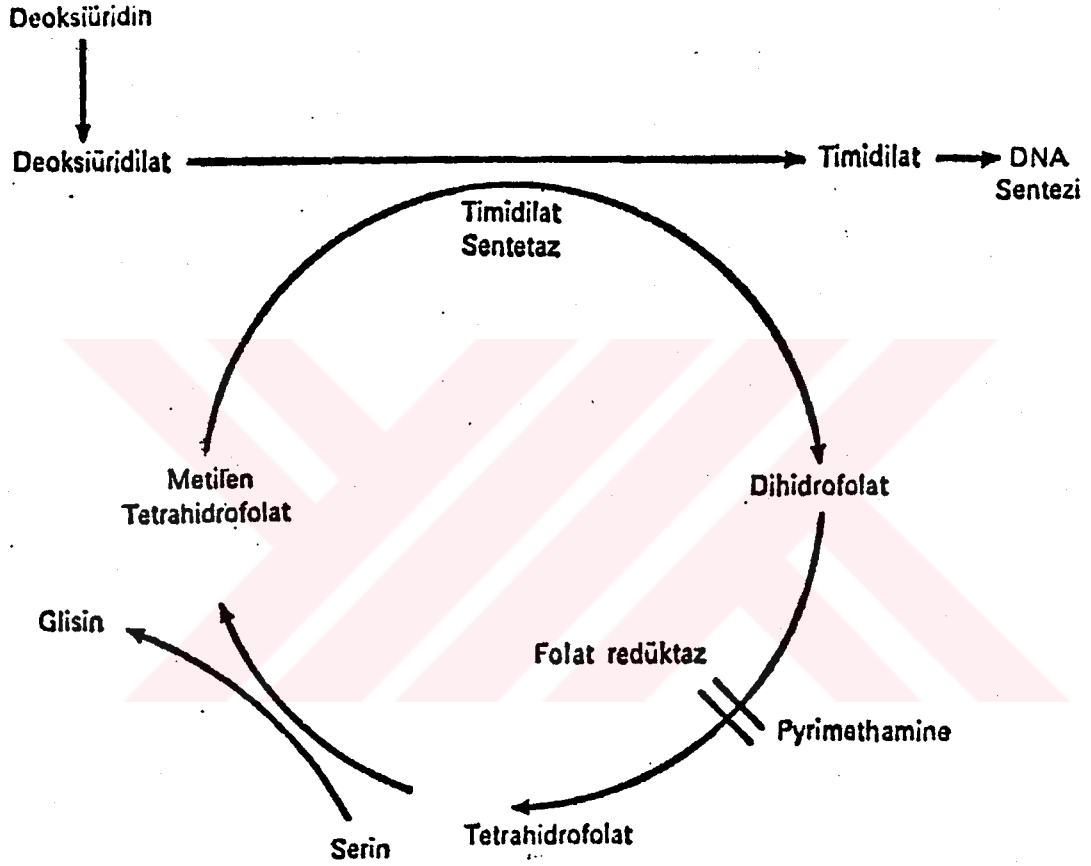
rağmen en uygun tedavi dozu olarak vücut ağırlığının kilogramı başına 1 miligram doz önerilmiştir ve tedavi süresi 2-8 hafta arasında değişmektedir (10,11,31,36). Tedavi esnasında Pyrimethamine'in sülfanamidlerle birlikte kullanılması başarıyı arttırmaktadır (10, 11, 13,31,36). Sülfanamidler günde 1-4 mg arasında kullanılabilir (36). Ayrıca hastanın kan değerlerinin düşmesini önlemek için 3-9 mg folik asit verilebilir (36).

Tedavi esnasında oral yolla alınan Pyrimethamine 3-7 saat sonra plazmada maksimum düzeye ulaşır ve kanda 4, dokularda ise 9 gün kadar kalabilir (31). Böbrekten atılımı çok yavaştır (11).

Pyrimethamine, Chloroguanide ve Trimethoprim gibi Diaminopirimidinler bakterilerde folik asit sentezini inhibe ederek etkili olurlar (15).

Pyrimethamine'in tedavi esnasında yüksek dozlarda uzun süre kullanılması sonucu kusma, iştahsızlık, halsizlik, lökopeni, trombositopeni, pansitopeni ve megaloblastik anemi gibi yan etkiler görülebilir (31,36).

Toxoplasmosis ve malarya tedavisinde kullanılan Pyrimethamine bir folik asit antagonisti olup folat redüktaz enzimini inhibe ederek, dehidrofolattan tetrahidrofolat oluşumunu engeller (34,58,59). Tetrahidrofolat yeterli miktarda sentez edilemediği için methilentetrahidrofolat oluşamaz ve dolayısıyla methilentetrahidrofolat'ın dehidrofolada çevrilmesi esnasında oluşacak timidilat'ın sentez edilememesi sonucunda DNA oluşumu bozulur (10,11,31,34,36,58,59). Bunun sonucu aynı zamanda aminoasit sentezide engellenir (27). (Şekil 11).



Şekil 11: Pyrimethamine'in Folik Asit Sentezindeki Etki Mekanizması.



## GEREÇ ve YÖNTEM

Bu araştırma İstanbul Tıp Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim dalı Tıbbi Genetik Bilim Dalı'na müracaat eden hastalar üzerinde yapılmıştır.

Çalışmamız iki grup hasta üzerinde gerçekleştirilmiştir. I. Gruptaki vakalarımızdan biri hariç tümü sterilite, spontan düşük, ölü doğum veya konjenital anomalili doğum nedeniyle Bilim Dalı'mıza Genetik Danışmanlık amacı ile müracaat eden hastalardır. Bir vakamızda ise Diastrofik cücelik mevcuttur.

II. Grup vakalarımız ise Bilim Dalı'mıza spontan düşük, ölü doğum, konjenital anomalili doğum, boyunda beze şikayetleri ile müracaat eden ve Toxoplasmosis testleri müsbet çıkmış hastalarımızdır.

I. Grup vakalarımız seçilirken en az iki, üç ay öncesine kadar röntgen filmi çektirmemelerine, ilaç kullanmamalarına ve virütik bir infeksiyon geçirmemiş olmalarına dikkat edilmiştir. Çünkü bu tip etmenlerin kromozom kırıklarına yol açtıkları bilinmektedir. Ayrıca otoimmün bir hastalığı olup olmadığına dikkat edilmiştir. Çünkü bu tip hastalarda doğuştan kromozom kırıkları mevcuttur (23).

II. Gruptaki vakalarımız ise, yine I. Gruptaki vakalardaki etkenlere maruz kalmamalarına dikkat etmiş olmakla birlikte, özellikle Pyrimethamine, Sülfüdiazin ve Folbiol dışında ilaç kullanmalarına özen gösterilmiştir.

I. Grup vakalar üzerinde yaptığımız invitro deneyler biri kontrol grubu olmak üzere 7 değişik kültür ortamında gerçekleştirildi. Toxoplasmosis testleri müsbet (+) çıkmış, hastaların tedavisinde kullandığımız günlük 50 mg'lık invivo Pyrimethamine dozajının kanda ki konsantrasyonu normal doz kabul edilerek diğer dozlar birbirinin iki katı şeklinde kültüre ilave edildi (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 ve 1.6 mg/ml). Fakat 1.6 mg/ml'lik dozda vakalarımızın hiç birinde üreme sağlanamadı.

II. Grup Toxoplasmosis testleri müsbet (+) olarak saptanan hastalar üzerinde yaptığımız deneylerde ise Pyrimethamine tedavisinden önce lenfosit kültürü yapıldı, ayrıca bu hastalarımızın kan sayımı yapılarak kan değerleri saptandı.

İkinci aşamada ise 14 günlük Pyrimethamine tedavisinden sonra aynı şekilde lenfosit kültürü yapıldı ve kan sayımı tekrarlanarak tedaviden önce ve sonra kan tablosundaki değişiklikler araştırıldı.

#### KROMOZOM KÜLTÜRLERİNİN YAPILMASI:

Araştırmamızda kültür ortamı olarak hazır kromozom kit'ler (Gibco) ve kit yöntemi kullanıldı.

#### a.I. Grup Vakalarda:

Her vakadan biri kontrol grubu olmak üzere 5'er cc lik toplam 7 kültür yapıldı. Heparinli steril bir enjektöre aldığımız 1cc lik kandan her kültüre 8'er damla kan ilave edildi. Kontrol grubu kültür dışındaki kültürlere sırasıyla 0.05 mg/ml (normal invivo doz), 0.1 mg/ml , 0.2 mg/ml, 0.4 mg /ml, 0.8 mg/ml ve 1.6 mg/ml olmak üzere altı farklı dozda Pyrimethamine ilave edildi. Kültürler 72 saat 37°C'lik etüvde bekletildi.

#### HARVEST EVRESİ:

72 saat sonra kültürlere 0.04 mg/ml cholcicine ilave edilir ve 37°C lik etüvde 4 saat bekletilir.

4 saat sonra kültürler etüvden çıkarılarak 1500 devirde 5 dakika santrüfjü edilir. Süpernatant atılır ve dipte kalan lenfositler

üzerine yaklaşık 10 cc% I'lik sodyum sitrat ilave edilir ve kültürler 37°C etüvde 40 dakika bekletilir.

Sodyum sitrat evresinden sonra kültürler etüvden çıkarılarak yine 5 dakika 1500 devirde santrüfj edilir. Süpernatant atılır. Dipte kalan hücreler üzerine pasteur pipetiyle çok yavaş bir şekilde takriben 10 cc 1/3 oranında taze hazırlanmış asetik asit metanol solüsyonu (Fiksatif) ilave edilir. 30 dakika oda ısısında bekletilir.

Bu süre sonunda 5 dakika 1500 devirde santrüfj edilir. Süpernatant atılarak dipte kalan hücreler üzerine 1.5 cc fiksatif ilave edilir. Daha önceden hazırlanmış ve asetondan geçirilmiş temiz lamalar üzerine üfleme yolu ile hücreler yayılır, alevden geçirilerek kurutulur ve preparatlar boyamaya hazır hale getirilir.

#### Cholcicine Hazırlanması:

4 mg cholcicine tartılır 1 cc steril o distile su ile sulandırılır. Bu solüsyondan 0.04 cc alınarak kültüre ilave edilir.

#### Sodyum Sitrat Hazırlanması:

5 gr sodyum sitrat tartılır. 500 cc steril o distilede eritilir.

#### Giemsa Boyasının Hazırlanması:

6 cc Giemsa boyası alınarak üzerine 4 cc pH'ı 6.8 olan buffer solüsyonu ilave edilir ve o distile su ile 100 cc ye tamamlanır.

Preparatlar bu solüsyon içinde 30 dakika boyanarak bu süre sonunda o distile su ile yıkanır ve ışık mikroskobunda incelenir.

#### Preparatların Değerlendirilmesi:

Her vakadan üç kromozom preparatı hazırlandı. Esasen tüm vakalarda incelemeye elverişli 50 metafaz figürü değerlendirilmek istenmişse de I. Grup vakalarda 0.4 mg/ml lik Pyrimethamine dozajından sonra mitotik indeks'in bir hayli düşmesi sebebiyle bazı vakalarımızda bu sayıya ulaşılamadı.

Araştırmamızda incelemeye elverişli bulduğumuz, I. Grup vakalarımızda 5079 metafaz figüründe, II. Grup vakalarımızda 1000

metafaz figüründe olmak üzere toplam 6079 metafaz figüründe kromozom sayı ve yapı (gap, kırık, asentrik fragman, disentrik kromozom vs gibi) kusurları değerlendirildi.

Ayrıca her kültürden 1000 hücre sayılıp I.Grup vakalarımızdan toplam 126000 hücre sayılarak farklı dozda Pyrimethamine içeren kültürlerde mitotik indeks değerleri birbiriyle ve normal kültür mitotik indeks değerleri ile karşılaştırıldı. Böylece Pyrimethamine dozundaki artışın mitotik indeksi ne şekilde etkilediği araştırıldı.

II.Grup vakalarımızda da yine her kültürden 1000 hücre sayılarak toplam 20000 hücre incelendi. Bu vakalarımızda Pyrimethamine tedavisinden önce ve Pyrimethamine tedavisinden sonraki mitotik indeks değerleri karşılaştırıldı.

#### İSTATİSTİK DEĞERLENDİRME:

Araştırmamızda mitotik indeks, kırık, gap ve asentrik fragman oranlarını karşılaştırmak için  $\chi^2$  testi, tedaviden önceki ve sonraki kan sayım değerlerini karşılaştırmak içinse değerlerin oran olarak verilmemesinden ve vaka sayısının azlığından dolayı t testi kullanıldı. Her iki testte anlamlılık derecesi  $p < 0.05$  olarak alındı.



Resim 1: Metafazların ışık mikroskopunda görünüşü



Resim 2: Metafazların ışık mikroskopunda immersiyonda görünüşü

## BULGULAR

Araştırmamızın sonuçları iki grup halinde Tablo 2,3,4,5,6,7, 8,9,10 ve 11'de sunulmuş ve bulgular kısaca aşağıdaki şekilde özetlenmiştir. Bulgulara ait örnek resimler sayfa 54,55,56,57 ve 58'de resim 3,4,5,6,7,8,9,10,11,12'de gösterilmiştir.

A:I.Grup : Polikliniğimize gelişme geriliği, sterilite, konjenital anomalili doğum, düşük ve ölü doğum gibi şikayetleri nedeniyle müracaat eden hasta grubu.

### KONTROL GRUBU:

Kontrol grubunda (Tablo 2) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 21000 hücrede 2842 metafaza rastlanılmış ve mitotik indeks %13.5 olarak saptanmıştır.

Ayrıca 21 vakada incelemeye elverişli toplam 999 metafaz figüründe 31 kırık, 39 gap, 2 asentrik fragman saptanmış olup genel kırık oranı %3.1, gap oranı %3.9 ve asentrik fragman oranında %0.2 olarak saptanmıştır.

### 0.05 mg/ml PYRIMETHAMINE İÇEREN GRUP:

0,05 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta (Tablo 3) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 21000 hücrede 1434 metafaza rastlanılmış ve mitotik indeks % 6.8 olarak saptanmıştır.

Ayrıca 21 vakada incelemeye elverişli toplam 979 metafaz figüründe 95 kırık, 143 gap ve 27 asentrik fragman saptanmış olup genel kırık oranı %9.7, genel gap oranı %14.6 ve asentrik fragman oranında %2.7 olarak saptanmıştır.

0.1 mg/ml PYRIMETHAMINE İÇEREN GRUP:

0.1 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta (Tablo 4) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 21000 hücrede 1116 metafaza rastlanılmış ve mitotik indeks %5.3 olarak saptanmıştır.

Aynı zamanda 21 vakada incelemeye elverişli toplam 969 metafaz figüründe 144 kırık, 169 gap ve 25 asentrik fragman saptanmış olup genel kırık oranı %14.8, gap oranı %17.4 asentrik fragman oranı ise %2.5 olarak saptanmıştır.

0.2 mg/ml PYRIMETHAMINE İÇEREN GRUP:

0.2 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta (Tablo 5) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 21000 hücrede 1048 metafaza rastlanılmış ve mitotik indeks % 4.9 olarak saptanmıştır.

Aynı zamanda 21 vakada incelemeye elverişli toplam 927 metafaz figüründe 145 kırık, 197 gap ve 20 asentrik fragman saptanmış olup, genel kırık oranı %15.6, gap oranı %21.2 ve asentrik fragman oranı da %2.1 olarak saptanmıştır.

0.4 mg/ml PYRIMETHAMINE İÇEREN GRUP:

0.4 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta (Tablo 6) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 21000 hücrede 690 metafaza rastlanılmış olup mitotik indeks % 3.2 olarak saptanmıştır.

Ayrıca 21 vakada incelemeye elverişli toplam 878 metafaz figüründe 114 kırık, 170 gap ve 26 asentrik fragman saptanmış olup genel kırık oranı %12.9, genel gap oranı %19.3 ve asentrik fragman oranı da %2.9 olarak saptanmıştır.

0.8 mg/ml PYRIMETHAMINE İÇEREN GRUP:

0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta (Tablo 7) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 21000 hücrede 251 metafaza rastlanılmış olup, mitotik indeks %1.1 olarak saptanmıştır.

Aynı zamanda 21 vakada incelemeye elverişli toplam 328 metafaz figüründe 69 kırık 98 gap, 4 asentrik fragman ve I Exchange figür

saptanmış olup, genel kırık oranı %21, gap oranı %29.8 asentrik fragman oranı %1.2 ve Exchange figür oranıda %0.3 olarak bulunmuştur.

B:II.GRUP: Toxoplasmosis testleri müsbet (+) çıkmış hastalar.

#### TEDAVIDEN ÖNCE:

Tedaviden önceki grupta (Tablo 8) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 10000 hücrede 1043 metafaza rastlanılmış ve mitotik indeks %10.4 olarak saptanmıştır.

Aynı zamanda 10 vakada incelemeye elverişli 500 metafaz figüründe 14 kırık, 18 gap, 1 asentrik fragman saptanmış olup genel kırık oranı %2.8 gap oranı %3.6 ve asentrik fragman oranı da %0.2 olarak saptanmıştır.

#### TEDAVIDEN SONRA:

14 günlük Pyrimethamine tedavisinden sonra (Tablo 9) her vakadan 1000 hücre sayılarak toplam 10000 hücrede 849 metafaza rastlanmıştır olup mitotik indeks %8.4 olarak saptanmıştır.

Aynı zamanda 10 vakada incelemeye elverişli toplam 500 metafaz figüründe 29 kırık, 30 gap ve 5 asentrik fragman saptanmış olup, genel kırık oranı %5.8, gap oranı %6 ve asentrik fragman oranıda %1 olarak bulunmuştur.



A: I.Grup: Polikliniğimize gelişme geriliği, sterilite, konjenital anomalili doğum, düşük ve ölü doğum gibi şikayetleri nedeni ile müracaat eden hasta grubu.

Tablo 2: Kontrol Grubunda Mitotik İndeks, Kromozom Kırıkları, Gap ve Asentrik Fragman sayıları ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks %	Kırık Sayısı	Kırık Oranı %	Gap Sayısı	Gap Oranı %	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı %
1	A.A	4	E* 46XY	50	12.4	8	16	2	4	0	0
2	N.Ü.	15	K** 45XO/46XX	50	13.8	4	8	2	4	0	0
3	M.K.	28	E 46XY	50	12.0	2	4	2	4	0	0
4	H.K.	23	K 46XX	36	9.6	1	2.7	1	2.7	0	0
5	G.A.	14	K 46XX	50	13.4	2	4	4	8	0	0
6	H.Ç.	32	K 46XX	50	14.0	0	0	2	4	0	0
7	M.Ç.	38	E 46XY	50	11.1	4	8	4	8	0	0
8	D.S.	41	E 46XY	34	9.0	0	0	1	2.9	0	0
9	H.O.	26	K 46XX	50	9.8	0	0	2	4	0	0
10	H.Ç.	33	E 46XY	50	13.5	0	0	2	4	0	0
11	M.T.	35	E 46XY	50	16.5	2	4	6	12	0	0
12	N.A.	29	K 46XX	50	14.1	0	0	0	0	0	0
13	C.C.	23	K 46XX	50	21.5	0	0	0	0	0	0
14	N.Y.	25	K 46XX	44	13.8	1	2.2	1	2.2	0	0
15	M.E.	34	K 46XX	50	13.2	2	4	0	0	0	0
16	N.Ü.	30	E 46XY	50	22.2	0	0	2	4	0	0
17	İ.Ş.	29	K 46XX	50	15.9	0	0	2	4	0	0
18	S.Ç.	19	K 46XX	50	8.0	4	8	2	4	0	0
19	E.K.	32	E 46XY	50	16.6	0	0	0	0	0	0
20	G.A.	27	E 46XY	50	16.2	0	0	2	4	2	4
21	H.D.İ.	4	E 46XY	35	7.6	1	1.4	2	2.8	0	0

E\* : Diastrofik Cücelik

K\*\* : Turner Sendromu

Sayılan toplam hücre sayısı: 21000

Bulunan metafaz sayısı : 2842

Mitotik indeks (%) : 13.5

İncelenen metafaz sayısı : 999

Kırık sayısı : 31

Genel kırık oranı (%) : 3.1

Gap sayısı : 39

Genel gap oranı (%) : 3.9

Asentrik fragman sayısı : 2

Genel asentrik fragman oranı (%) : 0.2

Tablo 3: 0.05 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta Mitotik İndeks, Kromozom Kırıkları, Gap ve Asentrik Fragman sayıları ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins	Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks %	Kırık Sayısı	Kırık Oranı %	Gap Sayısı	Gap Oranı %	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı %
1	A.A	4	E*	46XY	50	3	14	28	6	12	2	4
2	N.Ü.	15	K**	45X0/46XX	50	10.4	4	8	6	12	2	4
3	M.K.	28	E	46XY	50	8.4	8	16	2	4	2	4
4	H.K.	23	K	46XX	30	5.6	1	3.3	3	10	1	3.3
5	G.A.	14	K	46XX	50	8.0	8	16	8	16	6	12
6	H.Ç.	32	K	46XX	50	10.4	6	12	10	20	0	0
7	M.Ç.	38	E	46XY	50	7.3	8	16	10	20	0	0
8	D.S.	41	E	46XY	27	4.7	5	18.5	6	22.2	0	0
9	H.O.	26	K	46XX	50	4.9	0	0	10	20	0	0
10	H.Ç.	33	E	46XY	50	4.8	0	0	8	16	4	8
11	M.T.	35	E	46XY	50	6.4	4	8	8	16	2	4
12	N.A.	29	K	46XX	50	5.3	4	8	12	24	0	0
13	C.C.	23	K	46XX	50	7.4	2	4	0	0	0	0
14	N.Y.	25	K	46XX	35	8.6	6	17.1	6	17.1	1	2.8
15	M.E.	34	K	46XX	50	8.2	0	0	8	16	0	0
16	N.Ü.	30	E	46XY	50	8.4	2	4	8	16	0	0
17	İ.Ş.	29	K	46XX	50	5.4	0	0	6	12	0	0
18	S.Ç.	19	K	46XX	50	5.0	8	16	8	16	0	0
19	E.K.	32	E	46XY	50	5.2	2	4	8	16	2	4
20	G.A.	27	E	46XY	50	9.0	8	16	4	8	4	8
21	H.D.İ.	4	E	46XY	37	7.0	5	13.5	6	16.2	1	2.7

E\* : Diastrofik Cücelik

K\*\* : Turner Sendromu

Sayılan toplam hücre sayısı: 21000

Bulunan metafaz sayısı : 1434

Mitotik indeks (%) : 6.8

İncelenen metafaz sayısı : 979

Kırık sayısı : 95

Genel kırık oranı (%) : 9.7

Gap sayısı : 143

Genel gap oranı (%) : 14.6

Asentrik fragman sayısı : 27

Genel asentrik fragman oranı (%) : 2.7

Tablo 4: 0.1 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta Mitotik İndeks, Kromozom Kırıkları, Gap ve Asentrik Fragman sayıları ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins	Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks %	Kırık Sayısı	Kırık Oranı %	Gap Sayısı	Gap Oranı %	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı %
1	A.A	4	E*	46XY	50	2.9	16	32	0	0	4	8
2	N.Ü.	15	K**	45X0/46XX	50	8.4	6	12	2	4	4	8
3	M.K.	28	E	46XY	50	5.2	6	12	4	8	6	12
4	H.K.	23	K	46XX	30	4.4	4	13.3	5	16.6	2	6.6
5	G.A.	14	K	46XX	50	7.2	20	40	8	16	0	0
6	H.Ç.	32	K	46XX	50	9.0	3	6	10	20	1	2
7	M.Ç.	38	E	46XY	50	6.4	9	18	8	16	0	0
8	D.S.	41	E	46XY	29	3.2	3	10.3	7	24.1	0	0
9	H.O.	26	K	46XX	50	3.4	4	8	12	24	0	0
10	H.Ç.	33	E	46XY	50	4.2	6	12	12	24	0	0
11	M.T.	35	E	46XY	50	4.4	4	8	14	28	0	0
12	N.A.	29	K	46XX	50	4.6	4	8	12	24	0	0
13	C.C.	23	K	46XX	50	6.1	4	8	4	8	2	4
14	N.Y.	25	K	46XX	25	4.0	5	20	4	16	0	0
15	M.E.	34	K	46XX	50	5.8	8	16	12	24	2	4
16	N.Ü.	30	E	46XY	50	5.4	8	16	16	32	0	0
17	İ.Ş.	29	K	46XX	50	6.8	8	16	8	16	0	0
18	S.Ç.	19	K	46XX	50	3.4	6	12	10	20	2	4
19	E.K.	32	E	46XY	50	4.4	6	12	8	16	0	0
20	G.A.	27	E	46XY	50	7.2	10	20	10	20	0	0
21	H.D.İ.	4	E	46XY	35	5.2	4	11.4	3	8.5	2	5.7

E\* : Diastrofik Cücelik

K\*\* : Turner Sendromu

Sayılan toplam hücre sayısı: 21000

Bulunan metafaz sayısı : 1116

Mitotik indeks (%) : 5.3

İncelenen metafaz sayısı : 969

Kırık sayısı : 144

Genel kırık oranı (%) : 14.8

Gap sayısı : 169

Genel gap oranı (%) : 17.1

Asentrik fragman sayısı : 25

Genel asentrik fragman oranı (%) : 2.5

Tablo 5: 0.2 mg/ml Pyrimethamine içeren Grupta Mitotik İndeks,  
Kromozom Kırıkları, Gap ve Asentrik Fragman sayıları  
ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins	Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks Z	Kırık Sayısı	Kırık Oranı Z	Gap Sayısı	Gap Oranı Z	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı Z
1	A.A	4	E*	46XY	50	3.8	20	40	6	12	4	8
2	N.U.	15	K**	45XO/46XX	50	10.0	6	12	2	4	2	4
3	M.K.	28	E	46XY	50	3.6	10	20	3	6	0	0
4	H.K.	23	K	46XX	22	3.9	3	13.6	4	18.1	0	0
5	G.A.	14	K	46XX	50	7.6	16	32	16	32	0	0
6	H.Ç.	32	K	46XX	50	6.5	6	12	10	20	4	8
7	M.Ç.	38	E	46XY	50	5.2	8	16	4	8	0	0
8	D.S.	41	E	46XY	20	2.6	4	20	6	30	0	0
9	H.O.	26	K	46XX	50	4.1	2	4	16	32	2	4
10	H.Ç.	33	E	46XY	50	4.1	10	20	12	24	0	0
11	M.T.	35	E	46XY	50	4.3	8	16	18	36	2	4
12	N.A.	29	K	46XX	50	4.9	6	12	14	28	2	4
13	C.C.	23	K	46XX	50	7.4	2	4	6	12	0	0
14	N.Y.	25	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0
15	M.E.	34	K	46XX	50	5.6	6	12	14	28	0	0
16	N.U.	30	E	46XY	50	6.8	8	16	14	28	0	0
17	İ.Ş.	29	K	46XX	50	3.4	6	12	6	12	0	0
18	S.Ç.	19	K	46XX	50	4.4	2	4	12	24	0	0
19	E.K.	32	E	46XY	50	5.8	4	8	10	20	0	0
20	G.A.	27	E	46XY	50	5.6	14	28	14	28	4	8
21	H.D.İ.	4	E	46XY	34	5.2	4	11.7	10	29.4	0	0

E\* : Diastrofik Cücelik

K\*\* : Turner Sendromu

Sayılan toplam hücre sayısı: 21000  
Bulunan metafaz sayısı : 1048  
Mitotik indeks (Z) : 4.9  
İncelenen metafaz sayısı : 926  
Kırık sayısı : 145  
Genel kırık oranı (Z) : 15.6  
Gap sayısı : 197  
Genel gap oranı (Z) : 21.2  
Asentrik fragman sayısı : 20  
Genel asentrik fragman oranı (Z) : 2.1

Tablo 6: 0.4 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta Mitotik İndeks, Kromozom Kırıkları, Gap ve Asentrik Fragman sayıları ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins	Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks %	Kırık Sayısı	Kırık Oranı %	Gap Sayısı	Gap Oranı %	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı %
1	A.A	4	E*	46XY	50	2.0	6	12	10	20	8	16
2	N.Ü.	15	K**	45XO/46XX	50	5.6	4	8	4	8	2	4
3	M.K.	28	E	46XY	50	2.4	6	12	8	16	2	4
4	H.K.	23	K	46XX	12	3.6	2	16.6	3	25	0	0
5	G.A.	14	K	46XX	50	3.4	6	12	8	16	2	4
6	H.Ç.	32	K	46XX	50	4.2	4	8	8	16	2	4
7	M.Ç.	38	E	46XY	50	1.8	12	24	4	8	0	0
8	D.S.	41	E	46XY	50	5.0	2	4	8	16	0	0
9	H.O.	26	K	46XX	50	2.4	2	4	16	32	0	0
10	H.Ç.	33	E	46XY	25	1.9	4	16	5	20	0	0
11	M.T.	35	E	46XY	50	3.7	2	4	4	8	4	8
12	N.A.	29	K	46XX	50	2.4	6	12	10	20	0	0
13	C.C.	23	K	46XX	40	4.4	0	0	6	15	2	5
14	N.Y.	25	K	46XX	16	3.6	3	18.7	4	25	3	18.7
15	M.E.	34	K	46XX	50	2.9	8	16	10	20	0	0
16	N.Ü.	30	E	46XY	50	4.8	4	8	12	24	0	0
17	İ.Ş.	29	K	46XX	10	0.1	2	20	4	40	0	0
18	S.Ç.	19	K	46XX	50	3.4	8	16	14	28	0	0
19	E.K.	32	E	46XY	50	3.0	10	20	14	28	0	0
20	G.A.	27	E	46XY	50	5.2	18	36	12	24	0	0
21	H.D.İ.	4	E	46XY	25	3.2	5	20	6	24	1	4

E\* : Diastrofik Cücelik

K\*\* : Turner Sendromu

Sayılan toplam hücre sayısı: 21000  
Bulunan metafaz sayısı : 690  
Mitotik indeks (%) : 3.2  
İncelenen metafaz sayısı : 8.78  
Kırık sayısı : 114  
Genel kırık oranı (%) : 12.9  
Gap sayısı : 170  
Genel gap oranı (%) : 19.3  
Asentrik fragman sayısı : 26  
Genel asentrik fragman oranı (%) : 2.9

Tablo 7: 0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren grupta Mitotik İndeks, Kromozom Kırıkları, Gap, Asentrik Fragman ve Kromatid Değişimi sayıları ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins	Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks %	Kırık Sayısı	Kırık Oranı %	Gap Sayısı	Gap Oranı %	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı %	Kromatid Değişimi Sayısı	Kromatid Değişimi Oranı
1	A.A	4	E*	46XY	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
2	N.Ü.	15	K**	45X0/46XX	50	4.2	11	22	8	16	0	0	0	0
3	M.K.	28	E	46XY	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
4	H.K.	23	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
5	G.A.	14	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	H.Ç.	32	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
7	M.Ç.	38	E	46XY	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
8	D.S.	41	E	46XY	16	2.2	4	25	6	37.5	0	0	0	0
9	H.O.	26	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
10	H.Ç.	33	E	46XY	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
11	M.T.	35	E	46XY	50	2.8	8	16	14	28	4	8	0	0
12	N.A.	29	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
13	C.C.	23	K	46XX	30	2.5	2	6.6	4	13.3	0	0	0	0
14	N.Y.	25	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
15	M.E.	34	K	46XX	20	1.8	4	20	10	50	0	0	0	0
16	N.Ü.	30	E	46XY	22	2.8	4	18.1	10	45.4	0	0	0	0
17	İ.Ş.	29	K	46XX	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
18	S.Ç.	19	K	46XX	50	2.8	12	24	18	36	0	0	0	0
19	E.K.	32	E	46XY	40	2.0	12	30	12	30	0	0	0	0
20	G.A.	27	E	46XY	50	4.0	12	24	16	32	0	0	1	2
21	H.D.İ	4	E	46XY	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

E\* : Diastrofik Çöçelik

K\*\* : Turner Sendromu

Sayılan toplam hücre sayısı: 21000

Bulunan metafaz sayısı : 251

Mitotik indeks (%) : 1.1

İncelenen metafaz sayısı : 328

Kırık sayısı : 69

Genel kırık oranı (%) : 21

Gap sayısı : 98

Genel gap oranı (%) : 29.8

Asentrik fragman sayısı : 4

Genel asentrik fragman oranı (%) : 1.2

Kromatid değişimi sayısı : 1

Genel Kromatid değişimi oranı (%) : 0.3

B: II GRUB: Toxoplasmosis testleri müsbet (+) çıkmış hasta grubu

Tablo 8: Toxoplazmosis testleri müsbet (+) çıkmış hastaların tedaviden önce Mitotik İndeks, Kromozom Kırıkları Gap ve Asentrik Fragman sayıları ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins	Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks %	Kırık Sayısı	Kırık Oranı %	Gap Sayısı	Gap Oranı %	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı %
1	E.E.	35	K	46XX	50	5.9	2	4	0	0	0	0
2	A.G.	36	K	46XX	50	12.8	4	8	0	0	0	0
3	M.Y.	30	K	46XX	50	15.8	0	0	4	8	0	0
4	K.K.	23	K	46XX	50	14.2	0	0	2	4	0	0
5	M.G.	15	E	46XY	50	13.0	0	0	2	4	0	0
6	G.T.	24	E	46XY	50	9.4	2	4	2	4	0	0
7	Z.C.	28	K	46XX	50	13.4	0	0	2	4	1	2
8	M.A.	29	E	46XY	50	10.0	0	0	2	4	0	0
9	F.Ç.	34	K	46XX	50	4.1	4	8	4	8	0	0
10	C.G.	41	E	46XY	50	5.7	2	4	0	0	0	0

Sayılan toplam mitoz sayısı: 10000  
Bulunan metafaz sayısı : 1043  
Mitotik indeks (%) : 10.4  
İncelenen metafaz sayısı : 500  
Kırık sayısı : 14  
Genel kırık oranı (%) : 2.8  
Gap sayısı : 18  
Genel gap oranı (%) : 3.6  
Asentrik fragman sayısı : 1  
Genel asentrik fragman oranı (%) : 0.2

Tablo 9: Toxoplasmosis testleri müsbet (+) çıkmış hastaların Pyrimethamine ile tedavi edilmesinden sonra Mitotik İndeks, Kromozom Kırıkları, Gap ve Asentrik Fragman sayıları ve yüzde oranları

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (yıl)	Cins	Karyotip	İncelenen Metafaz Sayısı	Mitotik İndeks %	Kırık Sayısı	Kırık Oranı %	Gap Sayısı	Gap Oranı %	Asentrik Fragman Sayısı	Asentrik Fragman Oranı %
1	E.E.	35	K	46XX	50	4.1	10	20	2	4	0	0
2	A.G.	36	K	46XX	50	21.5	4	8	4	8	0	0
3	M.Y.	30	K	46XX	50	5.3	8	16	3	6	3	6
4	K.K.	23	K	46XX	50	5.6	2	4	4	8	0	0
5	M.G.	15	E	46XY	50	10.3	0	0	4	8	0	0
6	G.T.	24	E	46XY	50	10.9	2	4	2	4	0	0
7	Z.C.	28	K	46XX	50	5.6	2	4	3	6	2	4
8	M.A.	29	E	46XY	50	6.7	0	0	2	4	0	0
9	F.Ç.	34	K	46XX	50	9.9	0	0	6	12	0	0
10	C.G.	41	E	46XY	50	5.0	1	2	0	0	0	0

Sayılan toplam mitoz sayısı: 10000  
Bulunan metafaz sayısı : 849  
Mitotik indeks (Z) : 8.4  
İncelenen metafaz sayısı : 500  
Kırık sayısı : 29  
Genel kırık oranı (Z) : 5.8  
Gap sayısı : 30  
Genel gap oranı (Z) : 6  
Asentrik fragman sayısı : 5  
Genel asentrik fragman oranı (Z) : 1



TABLO 10: Toxoplasmosis testleri müsbet (+) ıkmiş hastaların tedaviden önceki kan sayımı değerleri.

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (Yıl)	Cins	Lökosit Sayısı	Hemoglobin %	Hematokrit %
1	E.E.	35	K	8.26x10 <sup>3</sup>	12.6	39.3
2	A.G.	36	K	8.50x10 <sup>3</sup>	12.8	41.5
3	M.Y.	30	K	8.40x10 <sup>3</sup>	13.7	41.9
4	K.K.	23	K	4.10x10 <sup>3</sup>	12.0	37.3
5	M.G.	15	E	6.50x10 <sup>3</sup>	14.1	43.0
6	G.T.	24	E	6.87x10 <sup>3</sup>	15.1	50.5
7	Z.C.	28	K	6.62x10 <sup>3</sup>	12.9	41.1
8	M.A.	29	E	7.54x10 <sup>3</sup>	15.7	42.2
9	F..	34	K	9.90x10 <sup>3</sup>	12.3	41.0
10	C.G.	41	E	10.80x10 <sup>3</sup>	15.3	46.4

Genel lökosit ortalaması ( $\bar{x}$ ) : 7749

Genel hemoglobin ortalaması ( $\bar{x}$ ) : %13.65

Genel Hematokrit ortalaması ( $\bar{x}$ ) : %42.42

TABLO 11: Toxoplasmosis testleri müsbet (+) çıkmış hastaların tedeviden sonraki kan sayımı değerleri

Vaka No.	Adı Soyadı	Yaş (Yıl)	Cins	Lökosit Sayısı	Hemoglobin (g/dl) (%)	Hematokrit (%)
1	E.E.	35	K	$7.72 \times 10^3$	11.8	38.0
2	A.G.	36	K	$9.03 \times 10^3$	13.5	40.8
3	M.Y.	30	K	$7.04 \times 10^3$	12.3	42.5
4	K.K.	23	K	$4.56 \times 10^3$	11.3	38.3
5	M.G.	15	E	$6.72 \times 10^3$	14.8	46.8
6	G.T.	24	E	$6.69 \times 10^3$	17.2	54.4
7	Z.C.	28	K	$6.50 \times 10^3$	12.4	40.2
8	M.A.	29	E	$7.42 \times 10^3$	15.2	47.1
9	F.Ç	34	K	$6.77 \times 10^3$	14.4	42.6
10	C.G.	41	E	$9.83 \times 10^3$	15.0	46.2

Genel lökosit ortalaması ( $\bar{x}$ ) : 7228

Genel hemoglobin ortalaması ( $\bar{x}$ ) : %13.79

Genel hematokrit ortalaması ( $\bar{x}$ ) : %43.69

### BULGULARIN İSTATİSTİK DEĞERLENDİRMESİ:

Tablo 12,13,14,15,16,17,18,19 ve 20'de görüldüğü gibi vakalarımızı istatistiki olarak değerlendirdiğimizde I.Grup vakalarımızda Pyrimethamine dozu artışına paralel olarak mitotik indeksin düştüğü, kırık (karşılaştırılan üç grup hariç) ve gap (karşılaştırılan iki grup hariç) oranlarının arttığı saptandı. Asentrik fragman oranlarında ise kontrol grubuna göre Pyrimethamine içeren gruplarda anlamlı bir artış kaydedilmesine rağmen, bu gruplar kendi aralarında karşılaştırıldığında düzenli bir artış kaydedilemedi.

II.Grup vakalarımızda ise tedaviden önce ve sonraki gruplar karşılaştırıldığında tedaviden sonraki grupta kırık ve gap oranında anlamlı bir artış saptandı. Asentrik fragman oranı ise tedaviden sonraki grupta daha düşük olarak bulundu.

I.Gruptaki kontrol grubu ile II.Gruptaki tedaviden önceki gruplar birbirleriyle karşılaştırıldığında kırık, gap ve asentrik fragman oranlarında anlamlı bir farklılık saptanamadı.

Ayrıca I.Gruptaki 0.05 mg/ml Pyrimethamine içeren grupla II.Gruptaki tedaviden sonraki grup karşılaştırıldığında kırık, gap ve asentrik fragman oranlarında anlamlı bir artış saptandı.

II.Grupta Pyrimethamine tedavisinden önce ve sonraki kan sayımı değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık kaydedilemedi.

TABLO 12: Mitotik indeks bakımından 0.05 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml ve 0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren grupların kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılması.

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	Ç DEĞERİ	SONUÇ
Kontrol grubu - 0.05 mg/ml	20	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.1 mg/ml	26.66	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.2 mg/ml	26.66	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.4 mg/ml	38.46	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.8 mg/ml	50	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0,1 mg/ml	10	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.2 mg/ml	10	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.4 mg/ml	20	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.8 mg/ml	30	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.2 mg/ml	2	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.4 mg/ml	10	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.8 mg/ml	20	Anlamlı
0.2 mg/ml - 0.4 mg/ml	10	Anlamlı
0.2 mg/ml - 0.8 mg/ml	20	Anlamlı
0.4 mg/ml - 0.8 mg/ml	15.38	Anlamlı

$p < 0.05$

TABLO 13: Mitotik indeks bakımından tedaviden önce ve sonraki grupların ve I.Gruptaki kontrol grubunun tedaviden sonraki grupla karşılaştırılması

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	Ç DEĞERİ	SONUÇ
Tedaviden önce - Tedaviden sonra	5	Anlamlı
0.05 mg/ml- Tedaviden sonra	3.33	Anlamlı (azalma)

$p < 0.05$

TABLO 14: Kırık bakımından 0.05 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml ve 0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren grupların kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılması

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	Ç DEĞERİ	SONUÇ
Kontrol grubu - 0.05 mg/ml	7	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.1 mg/ml	9.23	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.2 mg/ml	10	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.4 mg/ml	8.3	Anlamlı
Kontrol Grubu 0.8 mg/ml	3.8	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.1 mg/ml	6	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.2 mg/ml	3	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.4 mg/ml	5.5	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.8 mg/ml	0.625	Anlamsız
0.1 mg/ml - 0.2 mg/ml	1.5	Anlamsız
0.1 mg/ml - 0.4 mg/ml	3	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.8 mg/ml	1.5	Anlamsız
0.2 mg/ml - 0.4 mg/ml	2.8	Anlamlı
0.2 mg/ml - 0.8 mg/ml	4	Anlamlı
0.4 mg/ml - 0.8 mg/ml		

P < 0.05

TABLO 15: Kırık bakımından tedaviden önceki ve sonraki grupların I.Gruptaki kontrol grubu ile II.Gruptaki tedaviden önceki grubun ve I.Gruptaki 0.05 mg/ml Pyrimethamine içeren grubun II.Gruptaki tedaviden sonraki grupla karşılaştırılması

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	Ç DEĞERİ	SONUÇ
Tedaviden önce - Tedaviden sonra	2.31	Anlamlı
Kontrol Grubu - Tedaviden önce	0.33	Anlamsız
0.05 mg/ml - Tedaviden sonra	4	Anlamlı

P < 0.05

TABLO 16: Gap bakımından 0.05 mg/ml, 0.1 mg/ml, 0.2 mg/ml, 0.4 mg/ml ve 0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren grupların kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılması

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	ξ DEĞERİ	SONUÇ
Kontrol grubu - 0.05 mg/ml	9.1	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.1 mg/ml	10	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.2 mg/ml	12.4	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.4 mg/ml	10.7	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.8 mg/ml	26	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.1 mg/ml	1.65	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.2 mg/ml	3.5	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.4 mg/ml	2.35	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.8 mg/ml	6.25	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.2 mg/ml	2.2	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.4 mg/ml	1.1	Anlamsız
0.1 mg/ml - 0.8 mg/ml	6.5	Anlamlı
0.2 mg/ml - 0.4 mg/ml	1	Anlamsız
0.2 mg/ml - 0.8 mg/ml	3.46	Anlamlı
0.4 mg/ml - 0.8 mg/ml	3.66	Anlamlı

$\bar{p} < 0.05$

TABLO 17: Gap bakımından tedaviden önceki ve sonraki grupların I.Gruptaki kontrol grubu ile, II.Gruptaki tedaviden önceki grubun ve I.Gruptaki 0.05 mg/ml Pyrimethamine içeren grubun II.Gruptaki tedaviden sonraki grupla karşılaştırılması

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	ξ DEĞERİ	SONUÇ
Tedaviden önce - Tedaviden sonra	2	Anlamlı
Kontrol grubu - tedaviden önce	0.2	Anlamsız
0.05mg/ml - tedaviden sonra	2.2	Anlamlı

$p < 0.05$

TABLO 18: Asentrik Fragman bakımından 0.05mg/ml, 0.1mg/ml, 0.2mg/ml, 0.4mg/ml ve 0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren grupların kontrol grubu ve kendi aralarında karşılaştırılması.

KARŞILAŞTIRILAN GRUPLAR	Ç DEĞERİ	SONUÇ
Kontrol grubu - 0.05 mg/ml	16.4	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.1 mg/ml	16.4	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.2 mg/ml	4	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.4 mg/ml	5	Anlamlı
Kontrol grubu - 0.8 mg/ml	2	Anlamlı
0.05 mg/ml - 0.1 mg/ml	0.28	Anlamsız
0.05 mg/ml - 0.2 mg/ml	0.1	Anlamsız
0.05 mg/ml - 0.4 mg/ml	0.83	Anlamsız
0.05 mg/ml - 0.8 mg/ml	5	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.2 mg/ml	2	Anlamlı
0.1 mg/ml - 0.4 mg/ml	0.5	Anlamsız
0.1 mg/ml - 0.8 mg/ml	1.44	Anlamsız
0.2 mg/ml - 0.4 mg/ml	1.37	Anlamsız
0.2 mg/ml - 0.8 mg/ml	1.11	Anlamsız
0.4 mg/ml - 0.8 mg/ml	2.3	Anlamlı (Azalma)

P < 0.05

TABLO 19: Asentrik Fragman bakımından tedaviden önce ve sonraki grupların kendi aralarında ve I.gruptaki kontrol grubu ve 0.05 mg/ml Pyrimethamine içeren grup ile karşılaştırılması.

KARŞILAŞTIRILAN GRUP	Ç DEĞERİ	SONUÇ
Tedaviden önce - Tedaviden sonra	2	Anlamlı (Azalma)
Kontrol grubu - Tedaviden sonra	0	Anlamsız
0.05 mg/ml - Tedaviden sonra	7.08	Anlamlı

p < 0.05

TABLO 20: Toxoplasmosis testleri müsbet (+) ckm hastaların tedavi-  
den önce ve tedaviden sonraki kan sayımı değerlerinin kar-  
ılatırılması.

KARILATIRILAN GRUPLAR	ORTALAMA	SD	t DEğERİ	SONUÇ
Tedaviden nceki lökosit sayısı	7749	597.68	-0.69	Anlamsız
Tedaviden sonraki lökosit sayısı	7228	456.27		
Tedaviden nceki Hgb değeri	13.65	1.34	0.19	Anlamsız
Tedaviden sonraki Hgb değeri	13.79	1.85		
Tedaviden nceki Hct değeri	42.42	3.69	0.64	Anlamsız
Tedaviden sonraki Hct değeri	43.69	5.02		

P < 0.05





Resim 3: 0.05 mg/ml Pyrimethamine içeren kültürde 1.vakaya (A.A.) ait örnek resimde Kromatid tipi kırık.



Resim 4: 0.1 mg/ml Pyrimethamine içeren kültürde 4.vakaya (H.K.) ait örnek resimde Kromazom tipi kırık ve Asentrik Fragman.



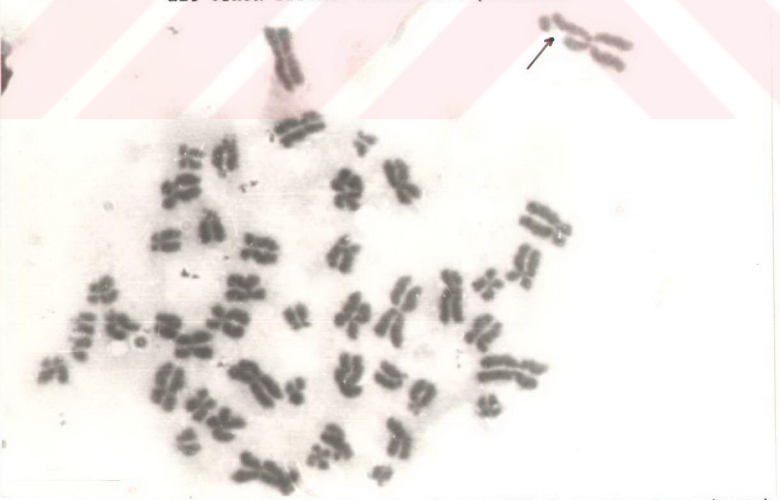
Resim 5: 0.1 cc Pyrimethamine içeren kültürde I.vakaya (A.A.) ait örnek resimde Kromatid tipi kırık.



Resim 6: 0.2 cc Pyrimethamine içeren kültürde II.vakaya (M.T.) ait örnek resimde Kromozom tipi kırık.



Resim 7: 0.2 mg/ml Pyrimethamine içeren kültürde 11.vakaya (M.T.) ait örnek resimde Kromozom tipi kırık.



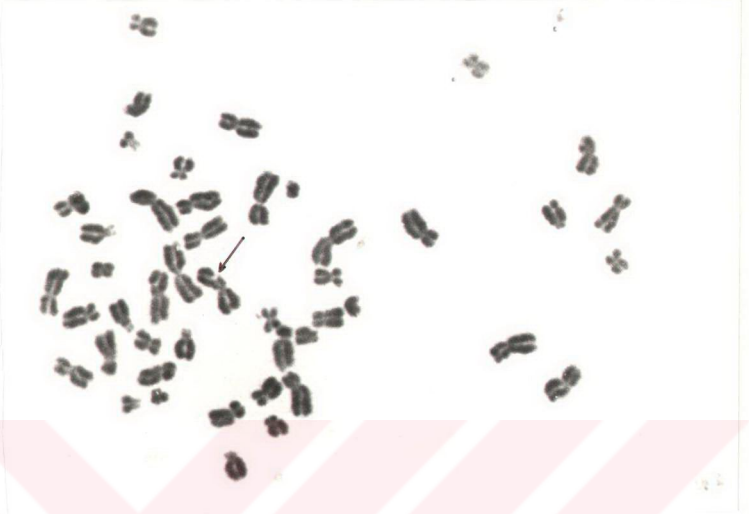
Resim 8: 0.4 mg/ml Pyrimethamine içeren kültürde 19.vakaya (E.K.) ait örnek resimde Kromatid tipi kırık.



Resim 9: 0.4 mg/ml Pyrimethamine içeren kültürde 20.vakaya (G.A.) ait örnek resimde Kromatid tipi kırık, Kromozom tipi kırık ve Gap.



Resim 10: 0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren kültürde 20.vakaya ait örnek resimde (G.A.) Kromatid tipi kırık, Gap ve Kromatid değişimi (Exchange figür).



Resim 11: Tedaviden önceki grupta 6.vakaya (G.T.) ait örnek resimde Kromatid tipi kırık.



Resim 12: Tedaviden sonraki grupta 2.vakaya (A.G.) ait örnek resimde Kromatid tipi kırık.

## TARTIŞMA

DNA molekülünün en ilkel ve en yüksek tüm canlıların bütün hücrelerinde bulunduğu ve o hücrenin kalıtsal özelliğini oluşturduğu bilinmektedir (7).

DNA heliks şeklinde birbirine sarılmış iki komplementer iplikten oluşan çok spesifik bir yapıdır (1). Bu spesifik yapı herhangi bir etken olmadığı müddetçe dölden döle bozulmadan aktarılır (1).

Bazı hallerde mutajen etmen adı verilen fiziksel ve kimyasal etkenlerle DNA'nın yapısında kalıtsal bir takım değişiklikler meydana getirilir (1,6,14,52). Mutajen etmenler arasında ilaçlarda önemli bir yer tutmaktadır (8). Günümüzde sentetik ilaçların her geçen gün biraz daha arttığını göz önüne aldığımızda toplum sağlığını korumak açısından ilaçların teratojen, mutajen ve karsinojen etkisinin araştırılması gerektiğini düşünmekteyiz.

Bu düşünceden hareketle araştırmamızda teratojen etkisi birçok araştırmacı tarafından kanıtlanmış, (16,25,34,35,44,51) fakat mutajenik etki yönünden araştırılmamış olan Pyrimethamine kullanıldı.

Pyrimethamine bir folik asit antagonistidir (16,34). Folat redüktaz enzimini inhibe ederek dehidrofolattan tetrahidrofolat oluşumunu engeller; tetrahidrofolat yeterli miktarda sentez edilemediği için methilentetrahidrofolat oluşamaz ve dolayısıyla methilentetrahidrofolatın dehidrofolata çevrilmesi sırasında oluşacak timidilat'ın sentez edilememesi sonucunda DNA oluşumu bozulur (25,34,38,47,58,60).

1979 ve 1983 yıllarında Sutherland tarafından folik asit içermeyen kültür ortamlarında frajil bölgelerin açığa çıktığının gösterilmesi (49,50) ve folik asit içeren kültür ortamlarında bu bölgelerin maskelendiğinin belirtilmesinden sonra 1983 ve 1984 yıllarında John A.Reidy ve arkadaşları folik asit içermeyen kültür ortamlarında kromozom kırıklarının folik asit içeren kültür ortamlarına nazaran anlamlı bir şekilde arttığını göstermişlerdir (41,42).

Gerek frajil bölgelerin gerekse kromozom kırıklarının meydana geliş mekanizması aynı yolla olmaktadır (41).

Araştırmamız bu araştırmaların ışığında Pyrimethamine'in bir folik asit antagonisti olduğu düşüncesinden hareketle, iki grup vaka üzerinde gerçekleştirilmiştir. I.Grup vakalarımızda direkt olarak kültür ortamına ilave edilen Pyrimethamine dozlarının artışına paralel olarak kontrol grubuna göre mitotik indeks değerlerinin anlamlı bir şekilde düştüğü, II.Grup vakalarımızda da tedaviden önceki ve tedaviden sonraki mitotik indeks değerleri karşılaştırıldığında tedaviden sonra mitotik indeks değerlerinin anlamlı bir şekilde azaldığı saptanmıştır.

Ayrıca direkt olarak kültüre ilave edilen normal (0.05 mg/ml) Pyrimethamine dozu grubu, tedaviden sonraki hasta grubu karşılaştırıldığında mitotik indeks değerlerinin anlamlı bir şekilde düştüğü gözlenmiştir.

Kırık açısından değerlendirdiğimiz I.Grup vakalarımızda kontrol grubuna göre diğer grupların hepsinde kırık oranında anlamlı bir artış belirlenmiştir. Grupları birbiriyle karşılaştırdığımızda ise karşılaştırılan üç grubun dışında diğer gruplarda doz artışına paralel olarak kırık oranının da anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi. II.Grup vakalarımızda ise tedaviden sonraki kırık oranının anlamlı bir şekilde arttığı, fakat bu artışın tedavi esnasında folbiol kullanmamış iki hastadan kaynaklandığı dikkatimizi çekti.

I. Gruptaki kontrol grubu ile, II.Gruptaki tedaviden önceki hasta grubu karşılaştırıldığında kırık oranında anlamlı bir değişiklik saptanamadı.

Ayrıca direkt olarak kültüre ilave edilen normal (0,05 mg/ml) tedavi dozu grubu tedaviden sonraki hasta grubu ile karşılaştırıldığında kırık oranında anlamlı bir artış olduğu gözlemlendi.

Gap açısından değerlendirdiğimiz I. Grup vakalarımız kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hepsinde kontrol grubuna göre anlamlı bir artışın olduğu görüldü. Grupları birbiriyle karşılaştırdığımızda ise doz artışına paralel olarak karşılaştırılan iki grup hariç anlamlı bir artış kaydedildi. Bu sonuçların kırık sonuçları ile paralellik gösterdiği dikkatimizi çekti.

II.Grup vakalarımızda ise tedaviden sonraki gap oranının tedaviden önceki gap oranına nazaran anlamlı bir şekilde arttığı gözlemlendi. Yine kırık oranındaki anlamlılıkta olduğu gibi buradaki anlamlılığında tedavi esnasında folbiol kullanmamış iki hastadan kaynaklandığı dikkatimizi çekti.

Ayrıca II.Grup vakalarımızın tedaviden önceki gap oranları I.Grup vakalarımızdaki kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanamadı.

Asentrik fragman açısından değerlendirdiğimiz I.Grup vakalarımızda kontrol grubuna göre diğer gruplarda anlamlı bir artış saptanmasına rağmen grupları kendi aralarında karşılaştırdığımızda düzenli bir anlamlılık saptanamadı.

II.Grup vakalarımızı tedaviden önce ve tedaviden sonra karşılaştırdığımızda tedaviden önceki durumda asentrik fragman oranı daha yüksek bir oranda bulundu.

II.Gruptaki tedaviden önceki grubu I.Gruptaki kontrol grubu ile karşılaştırdığımızda asentrik fragman oranında anlamlı bir farklılık saptanamadı.

II.Gruptaki toxoplasmosis tedavisi gören vakalarımızda tedaviden önceki ve tedaviden sonraki kan sayımı değerleri karşılaştırıldığında anlamlı bir farklılık saptanamadı.



I. Grupta 21, II. Grupta 10 olmak üzere, toplam 31 vakada gerçekleştirdiğimiz araştırmamızda I.Gruptaki vakalarımızda kontrol grubuna göre 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 ve 0.8 mg/ml Pyrimethamine dozlarında kırık ve gap oranlarında anlamlı bir artış saptandı. Bu grupları kendi aralarında karşılaştırdığımızda doz artışına paralel olarak kırık (karşılaştırılan üç grup hariç) ve gap (karşılaştırılan iki grup hariç) sayısında anlamlı bir artış kaydedildi.

Asentrik fragman açısından değerlendirdiğimiz vakalarda ise kontrol grubuna göre 0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 mg/ml Pyrimethamine içeren kültürlerde anlamlı bir artış saptanmasına rağmen bu grupları kendi aralarında karşılaştırdığımızda doz artışına paralel olarak düzenli bir artış sağlanamadı.

I.Gruptaki kontrol grubu ve II.Gruptaki Toxoplasmosis tedavisinden önceki gruplar karşılaştırıldığında iki grup arasında anlamlı bir farklılık saptanamadı. Buradan da 33 ve 56. literatürlerde belirtildiğinin aksine Toxoplasmosis saptanan hastalarda kırık, gap ve asentrik fragman sayısında anlamlı bir artış olmadığı gözlenmiştir.

Bu araştırmada Pyrimethamine'in insan kromozomları üzerinde mutajen etkisinin olduğu, kırık ve gap şeklinde yapısal kromozom kusurlarına yol açtığı kanıtlanmıştır.

## ÖZET

Bu çalışmada Toxoplasmosis tedavisinde kullanılan ve bir folik asit antagonisti olan Pyrimethamine'in (Daraprim) insan kromozomları üzerine mutajenik etkisi araştırılmıştır.

Bu amaçla I.Grupta 21, II.Grupta 10 vaka olmak üzere toplam 31 vaka incelenmiştir. I.Grup vakalarımızda Pyrimethamine direkt olarak altı ayrı dozda (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 ve 1.6 mg/ml) periferik kan lenfosit kültürlerine ilave edilmiş, fakat 1.6 mg/ml'lik dozda üreme sağlanamamıştır. Bu farklı dozların kontrol gruplarıyla ve kendi aralarında karşılaştırılması sonucu doz artışına paralel olarak mitotik indeks değerlerinin düştüğü, kırık ve gap oranının ise anlamlı derecede arttığı saptanmıştır. Asentrik fragman oranında ise düzenli bir artış kaydedilememiştir.

II.Grupta Toxoplasmosis testleri müsbet çıkmış hastalarımızın Pyrimethamine ile tedavi edilmeden önce ve tedavi edildikten sonraki gap ve kırık oranları karşılaştırılmış, tedaviden sonraki gap ve kırık oranlarının anlamlı bir şekilde arttığı gözlenmiştir. Fakat bu anlamlılığın tedavi esnasında Folbiol kullanmayan iki hastadan kaynaklandığı dikkati çekmiştir.

Özet olarak bu araştırmada Pyrimethamine'in insan kromozomları üzerine mutajenik etkisinin olduğu, kırık ve gap şeklinde yapısal kromozom kusurları oluşturduğu belirlenmiştir.

## SUMMARY

In this study the mutagenic effect of Pyrimethamine (Daraprim) which is used in the treatment of Toxoplasmosis and is a folic acid antagonist on human chromosomes has been investigated.

For this purpose 21 cases in group I, and 10 cases in group II, totaly 31 cases have been examined. In group I Pyrimethamine was added in six different doses (0.05, 0.1, 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 mg/ml) directly to the lymphocyte culture but with a dose of 1.6 mg/ml no proliferation could be achieved. When these different doses were compared with the control groups and with each other, it was observed that the mitotic index values decreased in parallel to the increase in dose, and that the break and gap ratio increased significantly. No orderly increase in acentric fragment ratio could be detected.

In the II group the break and gap ratios before and after the Pyrimethamine treatment of patients who had been found to be positive for Toxoplasmosis were observed. It was detected that the gap and break ratios after the treatment increased significantly. But it attracted attention that this significance was caused by two patients who had received Folbiol during the treatment.

To summarize in this study it was detected that Pyrimethamine has a mutagenic effect on human chromosomes leading to chromosomal defects in form of breaks and gaps.

## KAYNAKLAR

- 1- AKMAN, M.: Bakteri Genetiđi. Cumhuriyet Üniversitesi Tıp Fakóltesi Yayinevi, Sivas 2. Baskı (1983).
- 2- ANDERSON, S.: Toxoplasma gondii, "Principles and Practice of Infectious Diseases. Editors: G.L. Mandell, R.G. Douglas and J.E.Bennett, A Wiley Medical Publication. Newyork, ss 2127-2136 (1979)" kitabından.
- 3- ANIL, B.: İnfeksiyon Hastalıkları. Ankara Üniversitesi Basımevi, Ankara 6. Baskı (1980).
- 4- BAŞARAN, N.: Tıbbi Genetik. Bilim ve Teknik Yayınevi, Eskişehir 4. Baskı (1986).
- 5- BENJAMİN, F., BASSEN, A.F. and MEYER, M.L.: Serum levels of folic acid, vitamin B<sub>12</sub>, and iron in anemia of pregnancy. Am.J.Obstet. Gynecol., 96: 310-313 (1966).
- 6- BERMEK, E.: Molekölssel düzeyde kalıtım, "Biyoloji Ders Notları. Editör: T. Erbenđi, Beta Basım Yayın Dağıtım A.Ş. İstanbul, 3. Baskı ss 259-273 (1986)" kitabından.
- 7- BİLGE, E.: Genetik. Fen Fakóltesi Basımevi, İstanbul 3. Baskı (1977).
- 8- CONNORS, A.T.: Alkylating agents, nitrosoureas and alkyltriazenes. "Cancer Chemotherapy 8, Editor: H.M. Pinedo, and B.A. Chabner, Elsevier Science Publishers. B.V. Amsterdam, ss 28-51 (1986)" kitabından.

- 9- ÇETİN, T.E., ANÇ, Ö. ve TÖRECİ, K.: Tıbbi Parazitoloji. Sanal Matbaacılık, İstanbul 3. Baskı (1983).
- 10- DIPALMA, J.: Chemotherapy of protozoon infections I: Malaria. "Drill's Pharmacology in Medicine, Editör: J. Dipalma, McGraw-Hill Book Company. New York, 4. Baskı ss 1770-1789 (1971)" kitabından.
- 11- DYKE, V.K.: Antimalarial drugs. "Modern Pharmacology, Editors: C.R. Craig and R.E. Stitzel, Little, Brawn and Company. Boston, ss 703-714 (1982)" kitabından.
- 12- ERDOĞAN, G.: Teratojenik Etmenler, "Pediatriye Genetik 8. Pediatri Günleri, Editörler: H.Günöz ve F.Darendeliler, Kervan Kitapçılık Basım Sanayii ve Tic. A.Ş. İstanbul, ss 48-50 (1987).
- 13- FELDMAN, A.H.: Toxoplasmosis. Pediatrics., 559-571 (1958).
- 14- GIBLETT, R.E.: Genetic Marker in Human Blood. Blackwell Scientific Publications, Oxford (1969).
- 15- GOTH, A.: Medical Pharmacology. The C.V Mosby Company, Saint Louis 9. Baskı (1978).
- 16- HAMILTON, L., PHILIPS, F.S., CLARKE, D.A., STERNBERG, S.S. and HITCHINS, G.H.: Hematological effects of folic acid. Fed. Proc., 11: 225 (1952).
- 17- HANSEN, A.H. and WEMFELD, A.: Metabolic effects and diagnostic value of small doses of folic acid and B<sub>12</sub> in Megaloblastic anemias. Act.Med.Scand., 172: 427-443 (1962).
- 18- HERBERT, V.: Palatable diet for producing experimental folate deficiency in man. Am.J.Clin.Nutr., 12: 17-20 (1963).
- 19- HERBERT, V.: Studies of folate deficiency in man. Proc.R.Soc. Med., 57: 377-390 (1964).
- 20- IYER, N.V. and SZYBALSKI, W.: Mitomycin and perfiromycin, chemical mechanism of activation and cross-linking of DNA. Science., 145: 55-58 (1964).

- 21- KANO, Y. and LITTLE, B.J.: Persistence of X-ray induced chromosomal rearrangements in long term cultures of human diploid fibroblast. *Cancer Res.*, 44: 3706-3711 (1985).
- 22- KAUF; H.T. and GEISLER, P.H.: The hematological toxicity of Pyrimethamine (Daraprim) in man. *Arch. Ophtal. N.Y.*, 64: 140 (1960).
- 23- KNUDSON, G.A.: Genetics and etiology of human cancer, "Advances in Human Genetics." Editors: H.Harris and K.Hirschorn, Plenum Press. Newyork, ss 11-22 (1977).
- 24- KRAUGMAN, S., KATZ, L.S., GERSHON and WILFRET, C.: Infectious Diseases of Children. The C.V. Mosby Company, St. Louis, 8. Baskı (1985).
- 25- KRISHASWAMY, K. and TEOH, P.C.: Diseases of tropical environment, "Drug Treatment Principles and Practice of Clinical Pharmacology and Therapeutics. Editor: G.S. Avery, Adis Press Australasia Pty Limited, London, 2. Baskı s 1204 (1980)" kitabından.
- 26- LANGER, H.: Repeated congenital infection with toxoplasma gondii. *Obstet Gynecol.*, 21: 318-329 (1963).
- 27- LAURENCE, D.R. and BENETT, P.N.: Clinical Pharmacology. Churcill Livingstone Medical Division of Longman Group UK Ltd, London, 5. Baskı (1980).
- 28- LECHNER, F.J., TOKIWA, T., LAVECK, M., BENEDICT, F.W., SCHLEGAL, B.S., YEAGER, H., BENERJEE, A.J.R. and HARRIS, C.C.: Asbestos-associated chromosomal changes in human mesothelial cells. *Proc. Natl.Acad.Sci.*, 82: 3884-3888 (1985).
- 29- LEVINE, H.P. and HANSTRA, D.R.: Megaloblastic anemia of pregnancy simulating acute Leukemia. *Ann. Intern. Med.*, 71: 1141-1147 (1969).
- 30- LWIN, T.T.W.K. and WIN, K.T.Y.: Combinations of mefloquine with sulfadoxine pyrimethamine combinations in malaria chemoprophylaxis. *Lancet.*, 28: ss 694-695 (1985).

- 31- MEYERS, H.F., JAWETZ, E. and GOLDFIEN, A.: Review of Medical Pharmacology: Los Altos, California, 4. Baskı (1974).
- 32- MILLER, R.J. and YASUDA, M.: Environmental factors in the aetiology of congenital malformations in man, "Modern Trends in Human Genetics 2. Editör: E.H.Emery, Butter Worths, London, ss 308-336 (1975)" kitabından.
- 33- MILLET, R.G., ABT, W. and GALLAGOS, D.: Chromosome abnormalities in toxoplasmosis. Lancet, 1: 1305-1306 (1976).
- 34- MÜFTÜOĞLU, PAKER, Ş. ve ARIOĞLU, S.: Gebelik esnasında Pyrimethamine (Daraprim) kullanılmasına bağlı bir megaloblastik anemi vakası. Hacettepe Tıp Cerrahi Bülteni., 4: 334-339 (1977).
- 35- MYATT, A.M., HERNANDEZ, T. and COATNEY, G.R.: The toxicity of Pyrimethamine (Daraprim) in man. Am.J.Trop.Med., 2: 788 (1953).
- 36- OSOL, A. and PRATT, R.: The United States Dispensatory. J.B. Lipincott Company, Philadelphia, 27. Baskı (1973).
- 37- ÜZALPAN, A.: Radyobiyojji. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul (1980).
- 38- PETTER, C. and BOURBON, J.: Foetal red cell macrocytosis induced by pyrimethamine, its teratogenic role. Experientia., 31: 369-370 (1974).
- 39- PETERS, W.: Pyrimethamine combinations in pregnancy . Lancet., 1: 1005-1007 (1983).
- 40- PRITCHARD, A.J., SCOTT; E.D. and WHALLEY, J.P.: Folic acid requirements in pregnancy induced megaloblastic anemia. JAMA., 208: 1163-1167 (1969).
- 41- REIDY, A.J., ZHOU, X. and CHEN, L.T.A.: Folic acid and chromosome breakage. I. Implications for genototoxicity studies. Mutat. Res., 122: 217-221 (1983).

- 42- REIDY, A.J. and CHEN, L.T.A.: Folic acid and chromosome breakage. II. A methionine effect simial to that in fragile X expression. Hum. Genet., 68: 189-190 (1984).
- 43- REMINGTON, S.J., JACOBS, L. and KAUFMAN, E.H.: Toxoplasmosis in the adult. N. Engl.J.Med., 262: 180-186 (1960).
- 44- ROLLA, M.I.: Drugs used in the chemotherapy of malaria. "The Pharmacological Basis of Therapeutics. Editors: Goodman, S.L., Gilman, A. and Koelle, B.Č.: Macmillan Publishing Co., Inc. Newyork, 5. Baskı. ss 1055-1058 (1975)" kitabından.
- 45- SCHMID, W., ARAKAKI, T.D., BRESLAU, A.N. and CULBERTSON, C.J.: The Chinese hamster bone marrow as an in vivo test system. Hum. Genet., 11: 103-118 (1971).
- 46- SELBY, D.C., LADUSANS, J.E. and SMITH, G.P.: Fatal multisystemic toxicity associated withe prophylaxis withe pyrimethamine and sulfadoxine (fansidar). Br.Med.J., 290: 113-114 (1985).
- 47- SIXSMITH, G.D., WATKINS, M.W., CHULAY, D.J. and SPENCER, C.H.: Invitro antimalarial aktivitiy of tetrahydrofolate dehydrogenase inhibitors. Am.J.Trop.Med.Hyg., 33: 772-776 (1984).
- 48- STRICKBERGER, S.W.M.: Genetics. Macmillan Publishing Co., Inc, Newyork, 2. Baskı (1976).
- 49- SUTHERLAND, G.R.: Heritable fragile sites in human chromosome breakage, I.Factors affecting expression in lymphocyte culture. Am.J.Hum.Genet., 31: ss 125-135 (1979).
- 50- SUTHERLAND, G.R.: The fragile X chromosome. Int.Rev.Cytol., 81: 107-143 (1983).
- 51- TANGAPREGASSOM, M.A., TANGAPREGASSOM, J.M., HORVATH, C., TRECUL, M., EHRENSBERGER, B.M. and PETTER, C.: Vascular anomalies and pyrimethamine-induced malformations in the rat. Teratogenesis. Carcinog. Mutagen., 5: 55-62 (1985).



- 52- TAYŞI, K. ve SAY, B.: Tıbbi Genetik. Hacettepe Üniversitesi Basımevi, Ankara (1975).
- 53- TSUTSUI, T., SUZIKI, N. and OHMARI, M.: Sodium fluorid-induced morphological and neoplastik transformation, and unscheduled DNA synthesis in cultured hamster embriyo cells. Cancer Res., 44: 938-941 (1984).
- 54- TÖRECİ, K.: Toxoplasmoz, "İnfeksiyon Hastalıkları, Editör: E.T. Çetin, Çeliker Matbaacılık Koll. Şti, İstanbul, 3. Baskı ss 245-249 (1979)" kitabından.
- 55- TÜMAY, B.S., CENANİ, A., BİLGER, M. ve ONAT, T.: Petiatrik Genetik. Sermet Matbaası, İstanbul (1976).
- 56- UNAT, K.E.: Tıp Parazitolojisi, Fatih Gençlik Vakfı Matbaası, 3. Baskı (1982).
- 57- WATSON, J.D. and CRICK, F.H.C.: Molecular structure of nucleic acids. A. structure for desoxyribose nucleic acid. Nature, 171: 737-738 (1953).
- 58- WAXMAN, S. and HERBERT, V.: Mechanism of pyrimethamine-induced megoloplastosis in human bone marrow. N.Eng.J.Med., 280: 1316-1319 (1969).
- 59- WAXMAN, S., METZ, and HERBERT, V.: Defective DNA synthesis in human megoloblastic bone marrow. Effects of homocystcine and methionine. J.Clin.Invest., 48: 284-289 (1969).
- 60- WEBSTER, T.L.: Drugs used in the chemotherapy of protozoal infections, "The pharmacological Basis of Therapeutics. Editors: A.G. Gilman, L.S. Goodman, T.W. Rall and F. Murad, Macmillan Publishing company. Newyork, 7. Baskı, ss 1035-1037 (1985)" kitabından.
- 61- WEINMAN, D.M.D.: Toxoplasma and abortion. A field for further investigation. Fertil. Steril., 11: 525-530 (1960).

- 62- WEKEMANS, M., POPOVICH, B., RESENBLATT, and MONROE, P.:  
Chromosomal breakage in normal and fragile X subjects using folate  
culture conditions. J. Med.Genet.,20: 404-407 (1983).
63. WILLEUGHBY, M.L.N., PATH, M.C. and JEWELL, F.J.: Investigation of  
folic acid requirements in pregnancy. Br. Med.J.,2: 1568-1571  
(1966).
64. YENSON, M.: İnsan Biyokimyası. Çeliker Matbaacılık. İstanbul.  
4.Baskı (1981).



## ÖZGEÇMİŞ

1960 yılında Manisa'nın Akhisar ilçesinde doğdum. İlk, orta ve lise öğrenimimi Akhisar'da tamamladıktan sonra 1977 yılında İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümünü kazandım. Aynı bölümden 1981 Ekim döneminde mezun oldum. 1982 yılında İstanbul Tıp Fakültesi İç Hastalıkları Tıbbi Genetik Bilim Dalında Biyolog olarak göreve başladım ve bu Bilim Dalında yüksek lisansımı tamamladım. Halen aynı Bilim Dalında Biyolog olarak görev yapmaktayım. Evli ve bir çocuk babasıyım.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ