

T.C.  
SÜLEYMAN DEMİREL ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ÖKSE OTU (*Viscum album L.*)'NUN KARDEŞ KROMATİD  
DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİSİ**

**Esin SAKALLI ÇETİN**

**TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN**

**Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK**

**Bu Tez Süleyman Demirel Üniversitesi Araştırma Fonu tarafından  
761 nolu Proje ile desteklenmiştir.**

**Tez No: 30**

**2005-İSPARTA**



## TEŞEKKÜR

Çalışmalarım sırasında değerli yardımları ve eleştirileri ile büyük katkıda bulunan tez danışmanım sayın Prof. Dr. Nurten ÖZÇELİK'e,

Vaka seçimi ve takibinde çok büyük yardımları olan Büyük Kabaca Kasabası Sağlık Ocağı doktoru sayın Dr. Eray AKGÜNLÜ'ye ve eşi Eczacı Nurcan AKGÜNLÜ'ye,

Araştırmalarımnda kullandığım yöntemleri öğrenmem için laboratuvar imkanlarından yararlanmamı sağlayan Ankara Dr. Zekai Tahir Burak Kadın Sağlığı Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genetik Merkezi doktorları sayın Dr. Serdar CEYLANER'e, eşi Dr. Gülay CEYLANER'e ve uzman biyolog İpek KESKİN'e,

Anketi hazırlamamda ve verilerimin istatistiksel değerlendirilmesinde yardımlarını esirgemeyen Halk Sağlığı Öğretim Üyelerinden Yrd. Doç. Dr. Ersin USKUN'a,

Laboratuvar çalışmam ve tezimi yazmam sırasında yardımlarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik A.D. Öğretim Üyeleri Yrd. Doç. Dr. Efkân UZ'a, Yrd. Doç. Dr. H. Ramazan YILMAZ'a, Yrd. Doç. Dr. Nilüfer CALAPOĞLU'na, asistan arkadaşlarım Arş. Gör. Mustafa SOYÖZ'e, Arş. Gör. Pınar KOŞAR'a, Arş. Gör. Ayşe ALTUNBAŞAK'a ve yüksek lisans öğrencisi Barış YAŞAR'a ,

Çalışmamın ilk aşamasından itibaren her zaman desteklerini esirgemeyen değerli eşim Berkut Bülent ÇETİN'e, sevgili anne ve babama teşekkürü bir borç bilirim.

## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER .....	iv
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	v
1. GİRİŞ .....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. <i>Viscum album</i> L. Hakkında Genel Bilgiler .....	3
2.1.1. <i>Viscum album</i> L.'un Sistematigi .....	3
2.1.2 <i>Viscum album</i> L.'un Genel Özellikleri.....	4
2.1.3 <i>Viscum album</i> L. Genusunun Bileşikleri.....	5
2.1.3.1 Alkaloitler .....	5
2.1.3.2 Lektinler .....	5
2.1.3.3 Viskotoksinler .....	6
2.1.3.4 Fenilpropan ve Lignanlar .....	7
2.1.3.5 Flavonoitler .....	7
2.1.3.6 Fenolik Asitler.....	8
2.1.3.7 Poliholozitler .....	8
2.1.3.8 Oz ve Türevleri .....	9
2.2 Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange=SCE) .....	12
2.2.1 Kardeş Kromatid Değişimi Mekanizmaları .....	15
2.2.2 KKD Yöntemini Etkileyen Faktörler .....	23
2.3 Pestisitler .....	27
3. MATERYAL VE METOD .....	28
3.1 Materyal .....	28
3.2 Metod .....	28
3.2.1 Kültürlerin Kurulması .....	28
3.2.2 Kromozom Eldesi .....	30
3.3.3 Kardeş Kromatid Değişimi Boyama Tekniği.....	31
3.3.4 Kardeş Kromatid Değişiminin Değerlendirilmesi .....	32
3.3.5 İstatistik Yöntem .....	32
3.3.6 Fotoğrafik İşlemler.....	32
4. BULGULAR.....	33
5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR .....	43
ÖZET .....	51
SUMARRY .....	52
KAYNAKLAR .....	53

## SİMGELER VE KISALTMALAR

KKD	: Kardeş Kromatid Değişimi
SCE	: Sister Chromatid Exchange
KA	: Kromozom Anomalileri
ML-I	: Lektin-I, Viskumin, Omelotoksin
ML-II	: Lektin-II
ML-III	: Lektin-III
cAMP	: Siklik Adenozin Monofosfat
PDE	: Fosfodiesteraz Enzimi
MMC	: Mitomisin C
3 HdTh	: 3H-deoksi-Timidin, Radyoaktif Timidin
BrdU	: 5-Bromo-2 deoxyuridine
FPG	: Floresans ve Giemsa Yöntemi
HR	: Homolog Rekombinasyon
NHEJ	: Non-Homolog Rekombinasyon

## 1. GİRİŞ

Yüzyıllardır bitkilerin insan sağlığına verdiği hizmetten dolayı, günümüzde, bitkiler ve bitkilerden hazırlanan ilaçlar pek çok hastalığın tedavisinde tercih edilmektedir. Halk arasında, çeşitli hastalıkların tedavisinde kullanılan bitkilerden tıbbi olanlarının tesbiti ve bu bitkilerin insan sağlığı açısından bilimsel olarak değerlendirilmesi, farmakognozi araştırmalarının temelini teşkil etmektedir (1).

Tıbbi bitkilerden biri de, *Loranthaceae* familyasına ait *Viscum album* L. (ökse otu) cinsidir(2). Tropikal ve ılıman bölgelerde, ormanlık alanlarda çeşitli ağaçların ve çalıların üzerinde yarıparazit olarak gelişen bu cins yeryüzünde altmışsekiz tür ile ülkemizde ise, bir tür ve bu türe ait üç alt tür ile temsil edilmektedir (3).

Ökse otu, burç, çekem, gevele, gökçe, gövelek, çampir, biriç, fitri, gelimkara, pura olarak bilinen *Viscum album* L., köknar, çam, ladin gibi iğne yapraklı; ahlat, alıç, armut, ayva, badem, elma, erik, kayısı, kiraz, üvez, vişne, zerdali gibi meyve ağaçlarının; akasya, çitlembik, dişbudak, gürgen, ıhlamur, karaağaç, kavak kestane, kızılağaç, meşe, söğüt gibi kışın yapraklarını döken ağaçların veya çalıların üzerinde yetişen yarı parazit bir bitkidir (4, 5).

*Viscum album* L.'un çeşitli farmakolojik etkileri vardır. Çeşitli ekstraktları, vazodilatör, sedatif, diüretik etkilere sahiptir ayrıca şiddetli baş ağrısı, baş dönmesi, sinir bozukluğu, damar tıkanıklığı, romatizma ağrıları, çıban ve eklem iltihabı gibi bazı iltihabi hastalıklar için kullanılır (6, 7).

Ülkemizde *Viscum album* L.'un meyvelerinin yakı sakızı ile ezilmesi sonucu elde edilen karışım, Güneydoğu Anadolu Bölgesinde (Gaziantep, Urfa, Van) yakı halinde romatizma ağrılarının giderilmesinde kullanılır. Ayrıca ezilmiş meyveler çıban üzerine konarak çıbanın tedavisinde de yararlanır (6).

*Viscum album* L. Avrupa'da 1926'dan günümüze kadar kanser terapilerine yardımcı olarak kullanılmaktadır ve bu konuda birçok çalışma yapılmıştır. Fakat şu ana kadar antitümör mekanizmasının özellikleri açıkça ortaya konulamamıştır (8). Ökse otu ekstraktlarının, doğal öldürücü hücreler ve nötrofillerin sayısını ve aktivitesini artırarak

fagositozu aktive ettiği ve immün sistemi uyardığı belirlenmiş, tedaviyle tekrar yapılanmış immün sistemin hasta için ciddi yarar sağladığı bildirilmiştir (8).

**Kardeş Kromatid Değişimi (KKD)=Sister Chromatid Exchange (SCE)**, çeşitli mutajen ve karsinojenlerin hem in vivo, hem de in vitro koşullar altında neden olduğu DNA hasarını saptamayı sağlayan sitogenetik yöntemlerden birisidir. KDD, DNA'daki çok küçük harabiyetlerin bile hassas göstergesi olarak kabul edilir. DNA hasarının ve indüklenmiş DNA tamirinin gösterilmesinde en basit, duyarlı ve kısa zamanda sonuç veren bir yöntemdir. Bazı kanser vakalarının erken teşhisi ve evre tespitinde destekleyici faktör olarak düşünölmekte ve sıkça kullanılmaktadır (9, 10, 11).

KKD, DNA replikasyonu sırasında kromozomun her iki kromatidinin homolog bölgelerinde DNA'da kırık oluşması ve kırılan bölgelerin yer değiştirip yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır (8, 12, 13, 14).

KKD, çoğalmakta olan hücrelerde spontan olarak meydana gelir, özellikle kromozom hasarı, instabilitesi ve DNA tamir bozukluğu sendromlarında duyarlı bir parametre olarak kullanılmaktadır (10).

Mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip olduğu bilinen pestisitlerin akut toksik etkileri çeşitli deneylerle araştırılmış ve genotoksik etkiler gösterdikleri bildirilmiştir (15). Tarım ile uğraşan ve pestisite maruz kalan insanlarla bu bileşiklere maruz kalmayan bireyler arasında yapılan çalışmalar, pestisite maruz kalan insanlarda yapısal ve sayısal kromozom anomalileri (KA) ile KKD'nin yüksek oranlarda tekrarlandığını göstermektedir (16).

Bu çalışmada amacımız, sulu tarımla aktif olarak uğraşan ve pestisit uygulayan bireylerin ve aynı yörede yaşayan, aynı sosyo-ekonomik duruma sahip sağlıklı bireylerin kan örneklerinde KKD sıklığını araştırmak ve *Viscum album* L.ekstraktının KKD sıklığı üzerine etkisini saptamaktır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1 *Viscum album* L. Hakkında Genel Bilgiler

*Viscum album* L., 300-2000 m yüksekliklerdeki çeşitli ağaçların ve çalıların üzerinde yarı parazit olarak yaşayan odunsu bir bitkidir (2). Dallar üzerinde kümeler oluşturur ve her mevsim yeşildir. Meyveleri ağustos-kasım aylarında gelişir, yaklaşık 1 cm çapında, küre veya armut şeklinde, etli, beyazımsı, şeffaf ve tek tohumludur. Bitki mart-haziran aylarında çiçeklenir, sarımsı-yeşil renkli sapsız çiçekler üçlü veya altılı gruplar halinde, aksillar veya terminaldir (17, 18).

Meyvelerinin yapışkan ve kaygan özelliği ile beyaz renkli olmasından dolayı Latince'de *Viscum album* olarak adlandırılmıştır. Bitkiye Türkçe olarak 'Ökse otu' adının verilmesi ise, kuşları yakalamak amacıyla *Viscum album*'un meyvelerinde bulunan 'vissin' adlı yapışkan maddenin çubuklar üzerine sürülerek ökse yapımında kullanılmasındandır (6, 15). Ökse otu meyvelerinin etli ve yumuşak olması, kuşlar tarafından beğenilerek yenmesine neden olur (19). Bu meyveleri yiyen kuşların dışkılarıyla birlikte ağaç dalları üzerine düşen tohumlar dallara yapışır ve ortamdaki ürik asit sayesinde çimlenip, gelişir (20).

Bitki haustoryumları (emeç veya sömürme kökü) ile konakçı bitkinin dallarındaki ksilemine kadar ulaşır. Konakçıdan su ve minareleri alırken, fotosentez yaparak kendi karbonhidratlarını üretir (1, 20).

#### 2.1.1 *Viscum album* L.'un Sistematığı

Divisio	: Spermatophyta
Subdivisio	: Angiospermae
Clasis	: Dicotyledoneae
Subclasis	: Rosidae
Ordo	: Santalales
Form	: Loranthaceae
Genus	: <i>Viscum album</i> L. (21).





**Şekil 1:** *Viscum album L.*'nin Genel Görünümü.

### 2.1.2 *Viscum album L.*'un Genel Özellikleri

*Viscum* cinsi, ülkemizde bir tür ve bu türe ait 3 alt tür ile temsil edilmektedir.

1. ***Viscum album ssp. album*:** Çoğunlukla yaprak döken diotik ağaçlar üzerinde yaşar. Tohumlar genellikle üç köşeli, meyve çoğunlukla küresel, yaprak boyu, eninin dört katından daha kısa. Yaprakları 1-3.7 cm boyunda, oblong, tam kenarlı, paralel damarlı, derimsi, sarı-yeşil renktedir. Meyve genellikle küre şeklinde etli, beyaz renkli, tek tohumlu.

Edirne, Tekirdağ, Ankara, Çorum, Eskişehir ve Isparta'da yetişir (1, 21).

2. ***Viscum album ssp. abietis*:** *Abies* türleri üzerinde yaşar. Tohumlar oblong, bombeli kenarlı, meyve çoğunlukla armut şeklinde, yaprak boyu, eninin dört katından biraz uzun veya kısa. Meyve sarı, yaprak boyu eninin dört katından daha uzun. Yapraklar 2.2-4.9 cm boyunda, oblong tam kenarlı 4-5 paralel damarlı, derimsi, sarımsı- yeşil renktedir. Meyve ve tohum *Viscum album L. ssp. austriacum*'a benzer şekildedir. Bolu'da yetişir (1, 21).

3. ***Viscum album ssp. austriacum*:** Çoğunlukla *Pinus* türleri üzerinde yaşar. Tohumlar oblong, bombeli kenarlı, meyve çoğunlukla armut şeklinde, yaprak boyu, eninin dört katından biraz uzun veya kısa. Meyve beyaz, yaprak boyu, eninin dört katından daha kısa. Yaprakları 0.7-3.8 cm boyunda, oblong, tam kenarlı, 4-5 paralel damarlı, derimsi, yeşil

renktedir. Meyve armutsu, etli, sarımsı renkli, tohum tek, oblong, bombeli kenarlıdır. Ankara'da yetişir (1, 21).

Yurdumuzda yaygın olan ve daha çok ılıman bölgelerde, ormanlık alanlarda çeşitli ağaçların ve çalılıkların üzerinde yarı parazit olarak gelişen, 300-2000 m yüksekliklerde rastlanılan bitki, Akdeniz Bölgesinde Isparta'da; Gelendost-Eğridir arası, Eğridir Yukarı Gökdere Köyü-Sarı belen, Eğridir-Isparta yolu, Eğridir Yaka Köyü Kapızderesi üstü kayalık yer civarında bol miktarda bulunmaktadır (1, 21).

### **2.1.3 *Viscum album* L. Genusunun Bileşikleri**

#### **2.1.3.1 Alkaloitler**

Çeşitli farmakolojik aktivitelere sahip bu bileşiklerin, bitkide antiparaziter görevlerinin olduğu düşünülmektedir. 1944 yılında *Viscum album* L.'dan feniletilamin izole edilmiştir (15). Ayrıca *Viscum album* L.'dan yetiştiği konakçı bitkiye göre değişen çeşitli alkaloitler izole edilmiştir. Örneğin, Solanaceae familyası bitkileri üzerindeki ökse otlarında, nikotin, anabazin, hyosin, izopelletierin alkaloitleri, *Coffea* türleri (Rubiaceae) üzerindeki örnekte de kafeinin bulunduğu tespit edilmiştir (15).

Yapılan antitümör aktivitelerinde çeşitli tümörler üzerinde Avrupa ökse otu (*Viscum album*), Kalifornia ökse otu (*Phoradendron villosum*) ve Kore ökse otlarından (*Viscum coloratum*) elde edilen alkaloit fraksiyonları denenmiş ve en aktif alkaloit fraksiyonunun, Kore ökse otuna ait fraksiyon II olduğu tesbit edilmiştir (15).

#### **2.1.3.2 Lektinler**

*Viscum album*'dan bugüne kadar Lektin-I (ML-I, Viskumin, Omelotoksin), Lektin-II (ML-II) ve Lektin-III (ML-III) isimleri ile üç adet lektin izole edilmiştir (15). İzole edilen bu lektin formları *Viscum album* L. ekstraktındaki asıl toksik maddelerdir. Lektinler A- ve B-zincirleri olarak bilinen iki farklı tipteki glikoprotein zincirinden meydana gelmiştir. Bu iki zincir birbirleriyle disülfid bağlarıyla bağlanmıştır. İki altbirimden oluşurlar; B zinciri hücre yüzeyine bağlanır, A zinciri N-glikozidazdır, 28 S rRNA'nın N- glikozidik bağlarını yıkarak ribozomu inaktif hale getirir. A zincirinin protein sentezini engellemesi ile hücre apoptozise gider (22, 23).

Lektinler, bağışıklık sistemi kaynaklı olmayan, enzim ve antikorlardan farklı olarak karbonhidrat bağlayıcı proteinlerdir. Hücreleri aglutine ederler, kompleks karbonhidratları

çöktürürler. Aglütinasyon aktiviteleri, D-galaktoz, L-fruktoz, N-asetil-D-galaktozamin ve N-asetil D-glukozamin gibi holozitler, diholozitler, triholozitler ve poliholozitlerle inhibe edilmektedir (24).

Kore mistletoe lektin II'nin karaciğer kanser hücreleri üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada ve mekanizma tam olarak bilinmemekle birlikte P-53'den bağımsız bir mekanizma ile lektin II'nin telomeraz aktivitesini düşürdüğü ve hücreyi apoptoze götürdüğü gözlenmiştir (23).

Karbonhidratlar, lektinlerin B-zincirine bağlanarak onların toksik etkilerini inhibe ederler. Hücreleri ML I'in sitotoksik etkisinden korumak için digalaktozitlerden Gal beta 1,3Gal beta allyl 30 kez, Gal beta 1,2Gal beta allyl ise 60 kez D-galaktozdan daha etkilidir. N-asetil-D-galaktozamin ve rho-nitrofenil N-asetil galaktozamin özellikle ML II ve ML III'ün toksik etkilerinden korurlar. Serum glikoproteinlerinden özellikle haptoglobulin,  $\alpha$ -1-asit glikoprotein ve transferrin lektinlerin sitotoksitesini önemli ölçüde inhibe etmektedirler. Bu etki lektinlerin, glikoproteinlerin şeker kısımlarına bağlanması ile gerçekleşmektedir. Frantz ve arkadaşlarının kanser hücreleri olan Molt-4 hücreleri ile yaptığı çalışmada, glikolizasyon yapıları bozulmuş haptoglobulinlerin, Molt-4 hücrelerinde lektinlere karşı koruyucu aktiviteye sahip olmadıkları tespit edilmiştir. Lektinlerin sitotoksitesini serum glikoproteinleri tarafından inhibe edildiği için lektin içeren *V. album* ekstraktları kanserli hastalara zarar vermeden uygulanabilmektedir (25).

Lektinler, glusitlerle reaksiyona girme özelliklerinden dolayı hücre membranındaki glukoprotein, glukolipit gibi glukokonjugatlara bağlanabilmektedir. Bu bağlanma, eritrosit aglütinasyonu, lenfositlerin mitojenik stimülasyonu, tümör hücre büyümesinin inhibe edilmesine kadar çeşitli değişikliklere neden olabilmektedir (26).

### 2.1.3.3 Viskotoksinler

Viskotoksinler, *Viscum album*'un sitotoksik proteinlerini tanımlayan madde gruplarından bir tanesidir. Viskotoksinlerin hücre öldürücü etkileri de bulunmaktadır. Viskotoksinlerin tümör hücrelerindeki sitolitik etkileri disülfür gruplarıyla hücre membran fosfolipitlerinin etkileşiminden kaynaklanmaktadır (15).

Viskotoksinler, üç disülfür köprüsü ile 46 amino asitten oluşan tek polipeptit zincirine sahip bileşiklerdir. Bugüne kadar altı adet viskotoksin tanımlanmış ve izole

edilmiştir. Bunlar. Viskotoksin A1, Viskotoksin A2, Viskotoksin A3, Viskotoksin B, Viskotoksin 1-Ps ve Viskotoksin U-Ps'dir (15).

Toksik proteinler olan viskotoksinler,  $\alpha$  ve  $\beta$ -thionin'lerle ilişkilidirler. Viskotoksinlerin, insan granülosit ve lenfosit hücreleri üzerine etkisinin araştırıldığı deneylerde, zarın geçirgenliğinin arttığı, sitoplazma ve kromatidin azaldığı, kristaların kaybedilmesi ile mitokondrilerin şiştiği, reaktif oksijen radikallerinin arttığı ve bu olayların devamında ikincil apoptosis olaylarının başlaması ile hücre ölümü gözlenmiştir (27).

### 2.1.3.4 Fenilpropan ve Lignanlar

**Tablo 1:** *Viscum album*'da Bulunan Fenilpropan ve Lignanlar (15).

Fenilpropanlar	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Koniferil alkol-4'-[apiozil(1→2)] glukozit</li> <li>• Siringin</li> <li>• Sringenin-4-O-apiozilglukozit</li> </ul>
Lignanlar	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Elötrozit E</li> <li>• Siringarezinol</li> <li>• Siringarezinol-mono-O-glukozit</li> </ul>

Deliorman ve arkadaşlarının çalışmasında, fenilpropan ve lignanın siklik adenozin monofosfat (cAMP)-fosfodiesteraz (PDE) enzimini inaktive ettiği in vivo ve in vitro olarak tespit edilmiştir (28).

### 2.1.3.5 Flavonoitler

*Viscum album*'dan günümüze kadar izole edilen flavonoit yapısında bileşikler ve formülleri ait oldukları gruplar dahilinde Tablo 2'de gösterilmektedir (15).

**Tablo 2:** *Viscum album*'da Bulunan Flavonoitler

Flavonoit Grubu	Flavonoitler
Flavon	Flavoyadorinin Ave B
Flavanol	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ İzoramnetin -3-O-[apiozil(1→6)] glukozil-7-O-ramnozit</li> <li>➤ İzoramnetin -3-O-rutinozit</li> <li>➤ Kemferol</li> <li>➤ Kersetin</li> <li>➤ Kersetin-3-OCH<sub>3</sub></li> <li>➤ Kersetin-3,7OCH<sub>3</sub></li> <li>➤ Kersetin-3,3'-OCH<sub>3</sub></li> <li>➤ Kersetin-3,7,3'-OCH<sub>3</sub></li> <li>➤ Ramnazin</li> <li>➤ Ramnetin</li> </ul>
Flavanon	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ (2R)-5, 7-dimetoksi-flavanon-4'-O-glukozit</li> <li>➤ (2S)- 5, 7,3-trimetoksi-flavanon-4'-O-glukozit</li> <li>➤ (2S)-homoeriyodiktiyol-7-O-glukozit</li> <li>➤ Sakuranetin</li> </ul>
Kalkon	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ 2'-hidroksi-4', 6'-dimetoksikalkon-4-O-glukozit</li> <li>➤ 2'-hidroksi-3,4', 6'-trimetoksikalkon-4-O-glukozit</li> <li>➤ 2'-hidroksi-4', 6'-dimetoksikalkon-4-O-[apiozil(1→2)]glukozit</li> </ul>

### 2.1.3.6 Fenolik Asitler

Ahlat, elma, kavak, huş ağacı ve söğüt üzerinde yetişen *Viscum album*'un gövde ve yapraklarından hazırlanan etanollü eksterelerin, klorojenik asit, ferulik asit ve kafeik asit gibi fenolik asitler izole edilmiştir.

*Viscum album*'dan hazırlanan etanollü ekstreden ayrılan etil asetatlı fraksiyonunda galik asit tespit edilmiştir (15).

### 2.1.3.7 Poliholozitler

*Viscum album*'un içerdiği lektin ve viskotoksin grubu etken maddelerden başka poliholozitlerinde kansere karşı etkili olduğu bilinmektedir.

*Viscum album* meyvelerinin sulu ekstresinden asidik arabinogalaktan yapısında visik asit izole edilmiş ve bu poliholozitin gösterdiği antitümör aktivite üç immünolojik test çalışmasıyla incelenmiştir. Arabinogalaktan, in vitro insan granülosit testinde, fagositoz

aktiviteyi artırırken, in vivo fare karbonklerans testinde, klerans oranında bir artış meydana getirmektedir.

Bitkinin yaprakları % 0.8, sapları % 0.4 ve meyveleri % 2.1 oranında poliholozit içermektedir. Elma, kavak, armut, söğüt ve akçaağaç üstünde yetişen *Viscum album*'un yapraklı dallarında % 4.29-4.52 oranında suda çözünen poliholozit bulunduğu saptanmıştır. Bu poliholozit fraksiyonu, glikozamin miktarı en zengin olan fraksiyondur (15).

### 2.1.3.8 Oz ve Türevleri

*Viscum album*'un yaprak ve ince dallarında yapılan çalışmalar sonucu glukoz, galaktoz, arabinoz, ramnoz, ksiloz, fruktoz, sakkaroz, rafinoz, stakioz, galaturonik asit, glukozamin, mannitol, sorbitol, hemiselüloz ve pektinin varlığı ortaya konmuştur. Ayrıca yaprak ve meyvede inozitol saptanmıştır (15).

*Viscum album*'da bulunan siklik polialkol yapısına sahip ozlar, kiro-inozitol hariç, şubat ve mart ayında maksimum seviyeye ulaşmakta, temmuz ayında ise minimuma inmektedir. Buna karşılık, kiro-inozitol konsantrasyonu ocakta en yüksek, haziranda en düşük değere ulaşmaktadır. Kısacası siklik polialkollerin oranı, soğuk mevsimlerde yaz aylarına oranla 2.9 kat daha fazladır. Bu da, *Viscum album* yapraklarındaki osmatik basınca yardımcı olarak, bitkinin soğuğa karşı korunmasını sağlamaktadır (15).

Ökse otu bitkisinden hazırlanan çeşitli özütler tedavi amacıyla kullanılmak üzere Almanya, Avusturya ve İsviçre'deki çeşitli firmalar tarafından tüm dünyaya satılmaktadır. Bu ticari ürünler pek çok araştırmaya konu olmuş ve aktiviteleri bilim çevrelerince de desteklenmiştir (Tablo 3.). Özütün hazırlanma şekli ve bitkinin üzerinde yaşadığı konakçı ağacın türüne göre bu özütlerin kimyasal içerik açısından farklılık gösterdiği vurgulanmaktadır (29).

**Tablo 3.** Uluslararası patentli ticari ökse otu (*Viscum album*) özütleri ve sahip oldukları aktiviteler.

Özüt	Aktivitesi	Kaynaklar
Iscador®	Antikanserojen	30,31,32,33,34,35
	Doğal öldürücü hücreleri indükleyici	36,37,38
	Kemoterapi ve radyasyonun etkisini azaltıcı	34,39
	İmmünmodülatör (immün sistemi düzenleyici)	30,31,32
	Sitotoksik	35,40
	İmmünoştimülan	38,41
	Anti-HIV	30,42
	Antineoplastik	43
Helixor ®	Antikanserojen	44
	Doğal öldürücü hücreleri indükleyici	39,45
	Sitotoksik	46
	İmmünoştimülan	47,48
	İmmünmodülatör	47,48,49
Plenosol®	İmmünmodülatör	48
Iserol®	Antikanserojen	50
	İmmünmodülatör	50
Vysorel®	İmmünmodülatör	48,51
Eurixor®	İmmünmodülatör	48,52

Bugüne kadar bitkinin biyolojik aktiviteleri ve aktif bileşenleri konusunda yapılmış çalışmalar Tablo 4.de özetlenmiştir.

**Tablo 4.** *Viscum album* bitkisinin aktiviteleri ve bu aktiviteden sorumlu bileşenleri

Aktivite	Aktiviteden sorumlu bileşen/özüt	Kaynaklar
Antikanserojen	Iscador®	30,31,32,33,34,35
	Isorel	50
	Sulu özüt	53
	Alkaloit	32
	Lektin ve viskotoksin	54
	Lektinler	55
Antibakteriyel	Butanol, etanol, eter ve petrol eteri özütleri	56
Antiviral	Ham özüt (EtOH özütü)	57
Apoptozis indükleyici	Iscador ®	58
	Helixor ®	47
	Lektin	59
İmmün sistemi destekleyici (İmmün modülatör)	Iscador ®	60
	Isorel ®	61
	Sulu özüt	62
	Viskotoksin	63
	Polisakkaritler	64
	Lektin ve viskotoksin	54
İltihap giderici (inflamator)	Sulu özüt	65
İnsülin salgılatıcı	Sulu özüt	66
Doğal öldürücü hücreleri indükleyici	Iscador ®	67
	Helixor ®	68
	Polisakkarit	56, 67
Sitotoksik	Lektinler ve Helixor ®	46
	Lektinler, sulu özütler	69

\* ® işaretli olanlar ticari özütleridir.

Bazı çalışmalar bitkinin gerek kimyasal içeriğinin gerekse biyolojik aktivitesinin, üzerinde yaşadığı konakçı ağaç ile ilişkili olabileceğini göstermektedir. Farklı kanser tiplerinin tedavisinde, değişik ağaçlar üzerinde yaşayan ökse otu özütlerinin etkili olabileceği öne sürülmektedir (59).



## 2.2 Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange=SCE)

İnsanlar günlük yaşamlarında veya çalışma ortamlarında genotoksik ajanların mutajenik ve karsinojenik etkisi ile karşılaşmaktadırlar. Gelişen teknoloji ile birlikte üretilen yeni kimyasallar, ilaçlar, gıda katkı maddeleri, tarım ilaçları ve çevreye verilen atıklar canlıların genetik yapısında mutasyon oluşturma ihtimalini arttırmaktadır. Bu nedenle mutajenik, karsinojenik ve antimutajenik, antikarsinojenik maddelerin etkilerinin araştırılması önem kazanmıştır (70).

Genotoksik ajanların DNA da oluşturduğu hasarı kromozom düzeyinde tespit etmemizi sağlayan doğrudan metodlardan birisi kardeş kromatid değişimi (KKD) analizidir. KKD, kromozomun her iki kromatidinin homolog bölgelerinde DNA da kırık oluşması ve kırılan bölgelerin yer değiştirip yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır (71).

KKD, DNA'daki çok küçük harabiyetlerin bile hassas göstergesi olarak kabul edilir. DNA hasarının ve indüklenmiş DNA tamirinin gösterilmesinde en basit, duyarlı ve kısa zamanda sonuç veren bir yöntem olarak kullanılmaktadır (72, 73).

KKD çoğalmakta olan hücrelerde spontan olarak meydana gelir. Çeşitli fiziksel ve kimyasal etkenlerle kromozom DNA'sında meydana gelen, replikasyon esnasında onarılmayan hatalar KKD'lerinin ortaya çıkmasını ya da artmasını sağlar. Yani DNA hasarına neden olan pekçok ajanın KKD sıklığını arttırdığı bilinmektedir. Bu nedenle pek çok mutajenik ya da karsinojenik etkileri göstermede duyarlı bir parametre olarak kabul edilir (8). KKD, mutasyon oranı, doku tipi, ajanların doz oranı ya da diğer faktörlerle farklılık gösteren hızlı, duyarlı ve kantitatif bir ölçüm metodudur (9).

KKD'de, kardeş kromatidler arasında gözlenen değişim noktalarının, replikasyon çatalının olduğu düşünülmektedir. Çünkü replikasyon çatalında homolog çift sarmallar birbirine çok yakındır ve homolog birleşmeler çok kolaylıkla meydana gelebilir (74). Yakın zamanda Sonoda tarafından da KKD'nin homolog birleşme olduğu açıkça kanıtlanmıştır (75). Diğer bazı çalışmalar, bu noktaların aktif olarak transkribe olan genlerle ilişkisi olduğunu göstermektedir (28).

KKD'nin moleküler mekanizması ve biyolojik anlamı tam olarak bilinmemektedir (23). Çünkü KKD'nin oluşumundaki enzimatik basamakların ayrıntısı bilinmemektedir (22).

Ancak ana hatları hakkında bilgiler vardır (23). Bilinen, her DNA hasarının KKD'ne neden olmadığıdır. S fazını etkileyen mitomicin C ve UV ışınları gibi ajanlar, KKD'nin en etkili uyarıcılarıdır. Genellikle kabul edilen, KKD'nin, hasarlı DNA'nın replikasyonunun gerçekleştiği hücre döngüsünün S fazında meydana geldiğidir (76).

KKD'ni artıran etkenler çoğunlukla DNA ile kovalent bağlantılar yapan veya DNA tamir mekanizmalarını etkileyen maddelerdir (77). Bu maddeler çoğunlukla DNA'ya kovalent bağlarla bağlanırlar veya DNA replikasyonunu dolaylı ve doğrudan etkilerler. Restriksiyon endonükleazlar ve topoizomerazlar dışında, doğrudan DNA'da çift dal kırığına neden olan ajanlar G<sub>1</sub> fazında KKD'nde zayıf bir artışa neden olurken (76), S fazında daha etkilidirler. KKD çoğunlukla bu ajanlar tarafından oluşturulan nokta mutasyonu ve sitotoksikite ile korelasyon gösterir (22). KKD, genotoksik olduğu bilinen veya tahmin edilen kimyasal ajanların çalışmasında etkili bir yöntemdir. Bu yöntem hem laboratuvar hayvanlarında hem de insan populasyonlarında çalışılabilir (78).

KKD analizi, kültürde replikasyon yapabilen, filogenetik spektrumu Drosofiladan insana kadar uzanan her hücre hattında yapılabilir. Çin hamster fibroblast hatları, HeLa gibi insan hücre hatları, deri veya akciğerden alınmış insan hücreleri, fare, sıçan ve tavşan gibi laboratuvar hayvanlarının ve insanların lenfosit kültürleri yaygın olarak çalışılmaktadır. Bitki, böcek, balık ve memelilere kadar in vivo KKD indüklemesi hem fiziksel hem de kimyasal ajanların değerlendirilmesinde kullanılmaktadır. Bunun yanında insan ve fare amniyotik sıvısında da çalışılmaktadır (78).

İlk olarak Chaganti, otozomal resesif olarak kalıtılan, kromozom kırıkları içeren ve DNA tamir mekanizması bozuk Bloom sendromlu hastaların KKD seviyesini, kontrollerle karşılaştırdığında, KKD seviyesinin 10-13 kat arttığını göstermiştir. Kalıtsal kromozom kararsızlığı gözlenen bazı hastalıkların KKD görülme sıklığını etkilediği bildirilmiştir. Ataksi telanjektazi, Werner sendromu, Nijmegen kırık sendromu, ICF sendromu, Kseroderma pigmentosum, Fanconi anemisi ve Cockayne sendromunda KKD değerleri araştırılmış ve yüksek bulunmuştur. Down sendromlu hastaların KKD sıklığı, normal bireylerin KKD sıklıkları ile karşılaştırıldığında anlamlı fark saptanmıştır. Kırık oluşumu Mitomisin C (MMC) ile indüklendiğinde Down sendromlu hastalarda KKD sıklığının, normal bireylerin MMC ile indüklenen KKD değerlerinden daha fazla arttığı saptanmıştır (79).

Akut lenfoblastik lösemili, kronik myeloid lösemili, Hodgkin ve non-Hodgkin lenfomalı hastalarda KKD sıklığı kontrollere göre daha yüksektir (79, 80). Bazı virüslerin

neden olduğu viral enfeksiyonda hastaların lenfosit kültürlerinde KKD değerlerinin arttığı, bazı viral enfeksiyonlarda ise değişmediği bildirilmiştir (71, 80).

Sitogenetik etkileri olarak KKD'nin saptandığı Bloom sendromu, Ataksi telanjektazi, Fankoni anemisi ve Kseroderma pigmentosum'un kalıtımı, klinik özellikleri ve sitogenetik etkileri Tablo 5'te verilmiştir (81).

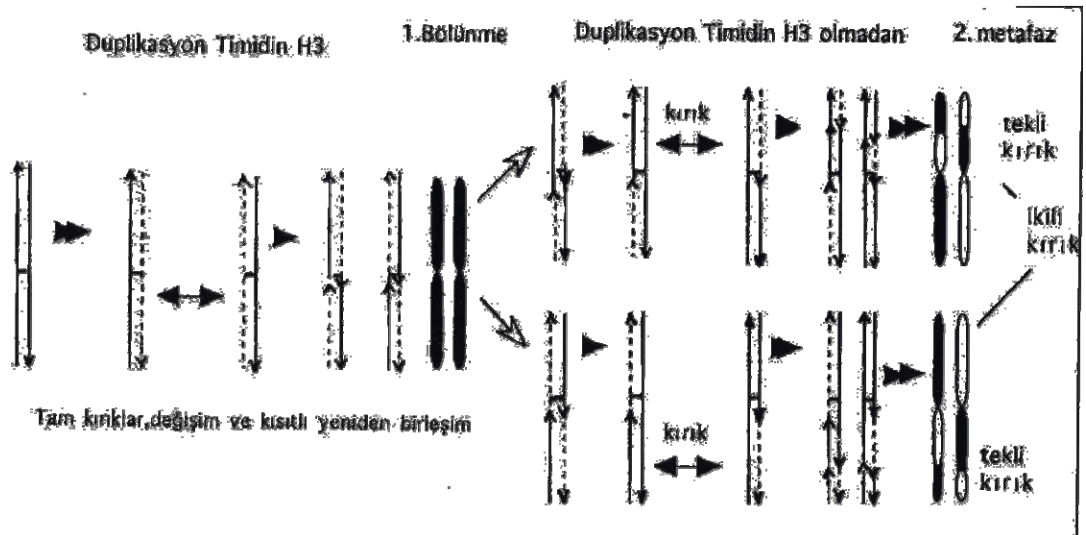
**Tablo 5.** Bloom sendromu, Ataksi telanjektazi, Fankoni anemisi ve Kseroderma pigmentosum'un kalıtımı, klinik özellikleri ve sitogenetik etkileri (81).

Hastalık	Kalıtım	Klinik Özellikler	Sitogenetik Etkileri
Bloom sendromu	Otozomal Resesif	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Düşük doğum ağırlığı, cücelik,</li> <li>➤ Genellikle yanaklarda, göz kapaklarında, ağız, kulaklar ve el sırtında güneş ışığı ile uyarılan kızarıklıklar gelişir,</li> <li>➤ Malign hastalıklara eğilim,</li> <li>➤ Akut lösemi, lenfoma, adenokarsinom ve diğer tümörlere yatkınlık,</li> <li>➤ İmmün bozukluklar.</li> </ul>	Yüksek kardeş kromatid değişimi sıklığı.
Ataksi telanjektazi	Otozomal Resesif	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Serabeller ataksi,</li> <li>➤ Konjunktivanın telanjektazisi (ince damar lez.),</li> <li>➤ Büyüme geriliği,</li> <li>➤ İmmün yetmezlik,</li> <li>➤ Tümörlere yatkınlık (lenfoma, lösemi),</li> <li>➤ Radyasyona karşı aşırı duyarlılık.</li> </ul>	DNA onarım bozuklukları, Kromatid hasarı.
Fankoni anemisi	Otozomal Resesif	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Doğum öncesi ve sonrası büyüme geriliği,</li> <li>➤ Aplastik anemi, trombositopeni ve lökopeni,</li> <li>➤ Hipoplastik veya hiç gelişmemiş başparmaklar,</li> <li>➤ Kısa veya hiç gelişmemiş ön kol,</li> <li>➤ Kemik iliği yetmezliği,</li> <li>➤ İskelet ve böbrek malformasyonu,</li> <li>➤ Lokalize pigment değişiklikleri.</li> </ul>	Kromozom kırıkları, Homolog olmayan kısımlar arasında değişim.
Kseroderma pigmentozum	Otozomal Resesif	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Güneş ışığına duyarlılık,</li> <li>➤ Deri değişiklikleri,</li> <li>➤ Malign hastalıklara eğilim.</li> </ul>	Eksizyon onarım bozuklukları, UV ışıkla veya kimyasal karsinojenlerle artmış KKD hızı.

### 2.2.1 Kardeş Kromatid Değişimi Mekanizmaları

Farklı etkenlerin hücre DNA'sında meydana getirdiği değişiklikler sonucu gözlenen KKD'lerinin nasıl oluştuğu sorusu henüz kesinlik kazanmamıştır. Ancak çeşitli araştırmacılar olayın mekanizmasını açıklayan modeller öne sürmüştür (82).

İlk olarak Taylor, 1957 yılında, bitki mitotik kromozomlarında (*Vicia faba* ve *Bellenalia romana*) yaptığı otoradyografik çalışmada KKD'ni gözlemeyi başarmıştır. Kromozomların radyoaktif timidin ( $3\text{HdTh} = 3\text{H-deoksi-Timidin}$ ) varlığında birinci mitozda replikasyonuna izin verilmiş, ikinci replikasyon izotopsuz ortamda gerçekleştirilmiştir. DNA'nın semikonservatif replikasyonuna bağlı olarak otoradyografik yöntemle her kromozomun bir kromatidi işaretlenerek, kromozomların uzunlukları boyunca radyoaktif işaretlerin yer değiştirdikleri gözlenmiş ve Taylor bunları 'kardeş kromatid değişimi' olarak adlandırmıştır (83) (Şekil 2.).



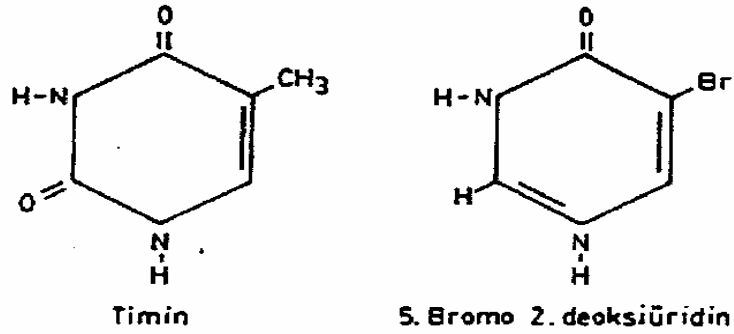
Şekil 2. KKD oluşum mekanizması (83).

Otoradyografinin kullanımıyla çeşitli kimyasal ve fiziksel ajanların KKD görülme sıklığını arttırabileceği gözlenmiştir. Fakat bu yöntem, duyarlılığın az olması ve otoradyografinin zaman alan bir işlem olması nedeniyle KKD oluşumunu etkileyen ajanları belirlemede ilgi görmemiştir (82).

Daha sonra 1972 yılında Zakharov ve Egolina isimli araştırmacılar, Çin Hamster hücrelerinde, timidin analogu olan 5-Bromo-2 deoxyuridine (BrdU) kullanmışlar ve replike olan kromozomların yapısını incelemişlerdir (84). BrdU'nin yeni sentez edilen DNA'ya

girmesi, uygulanışını takip eden ilk S fazı sırasında olmaktadır. Replikasyon sırasında timin yerine BrdU'ni alan zincir, diğer DNA sentezi sırasında replike olur (82).

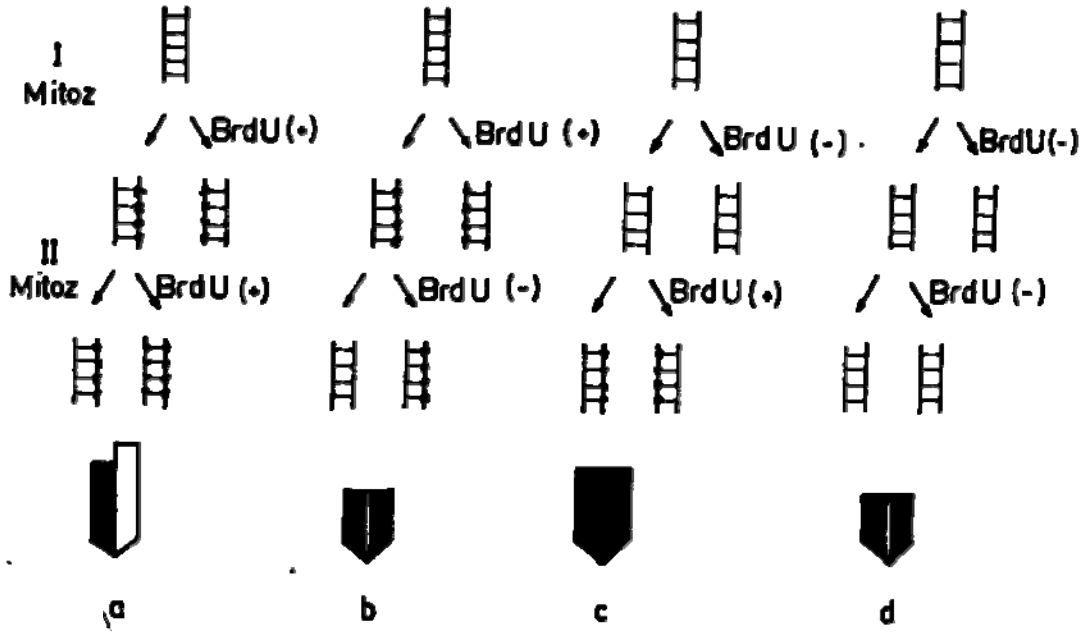
Timidin analogu olan BrdU, replikasyon sırasında DNA'ya girer ve timidindeki metil grubunun yerini Brom atomunun almasıyla DNA molekülünde oluşan bir seri fiziko-kimyasal değişiklikler sonucu, ikincil yapıların şekillenmesinde güçlükler neden olur (Şekil 3).



**Şekil 3.** Timidin ve BrdU'in halkasal yapısı

Bu durum BrdU'nin çift sarmal DNA yapısına girmesinin kromozom spirilizasyonunu geciktirdiğini ve çok küçük morfolojik değişikliklere neden olabileceğini göstermektedir. Zakharov ve Egolina'nın 'Spirilizasyon gecikmesi' olarak tanımladıkları bu olayda, spirilizasyondaki bu gecikmenin, BrdU varlığına ve yoğunluğuna, bu ajanın hangi fazda kromozom yapısına girdiğine ve mitozlar arasındaki zaman süresine bağlı olduğunu bildirmektedir (84).

Buna göre, eğer kromozom spirilizasyonundaki gecikme, gerçekten BrdU'in DNA'ya girmesine bağlı ise, ikinci hücre siklusundaki tüm metafazlar giemsa ile boyandıklarında, üç farklı morfolojik yapı görülecektir (Şekil 4.).



Şekil 4. BrdU varlığına bağlı spiralizasyon gecikmesi (84).

Her iki replikasyonda veya mitozda ortamda BrdU bulunması halinde, kromatidlerden birinin, her iki DNA zincirinde BrdU bulunur, diğer kromatidinin ise yalnızca bir zincirinde BrdU, diğerinde timin yer alır ve her iki kromatidde de spirilizasyon gecikmesi gözlenir. Yalnız iki DNA zincirinde de BrdU bulunduran kromatidte spirilizasyon gecikmesi daha fazla olacağından diğerinden daha uzun ve daha soluk boyanacaktır (Şekil 4.a).

Yalnız ikinci replikasyon ortamında BrdU bulunması durumunda kromozomun her iki kromatidinde eş zamanlı spirilizasyon gecikmesi oluşacak, ama kromozomlar aynı boyanacaktır (Şekil 4.c).

Her iki replikasyon siklusunda ortamda BrdU bulunmaması veya sadece birinci replikasyonda ortamda BrdU bulunması durumunda spirilizasyon gecikmesi görülmez ve morfolojik değişim oluşmaz ve normal boyanır (Şekil 4.b-d).

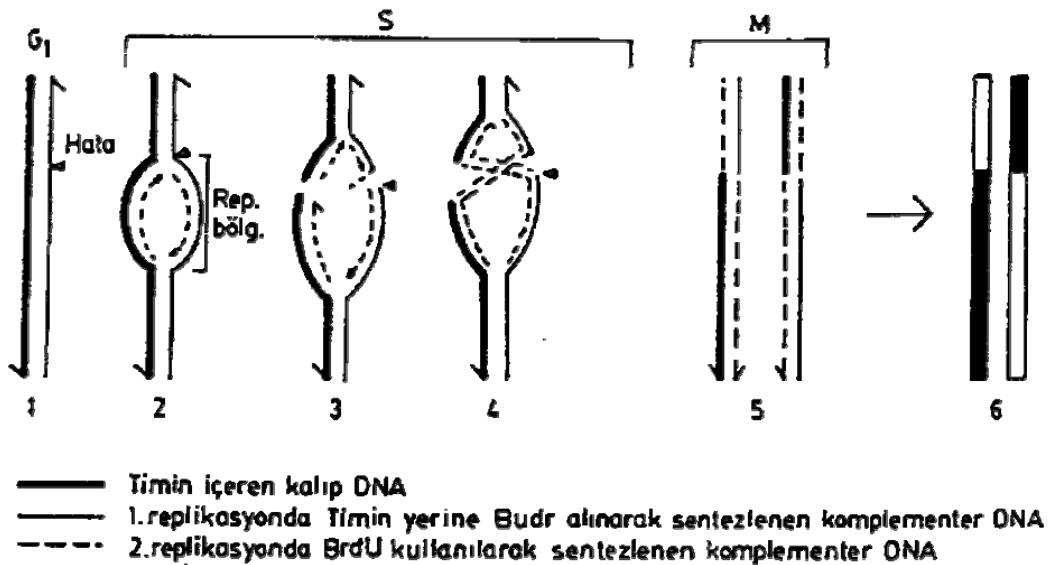
Kromozom morfolojisindeki bu farklılıklar DNA replikasyonunda farklılığa ve belki de genetik aktivitede değişikliklere neden olabilir (84). Kromatidlerdeki bu uzunluk farkı, protein ile BrdU içeren DNA arasındaki etkileşimin farklı olması nedeniyle ortaya çıkmaktadır. Proteinler, kromozomların kondensyonunda ve spirilizasyonunda etkili olmaktadır. Proteinler BrdU içeren DNA'ya, BrdU içermeyen DNA'dan daha sıkı bağlanmakta ve kromozomların spirilizasyonunu ve yoğunlaşmasını zorlaştırmaktadır. Bazı

araştırmacılar, BrdU'nin kromozomlardaki esas etkisinin paketlenme esnasında olabileceğini açıklamıştır (85).

Zakharov ve Egolina'dan sonra 1973 yılında Latt, iki replikasyon döngüsünde kültür ortamına BrdU eklemiş ve floresan boya Hoechst 33258 ile kromatidlerin farklı boyandığını göstermiştir (83). Hoechst 33258 boyası normalde poly (dA-dT)'e bağlandığında şiddetli floresan verir fakat poly (dA-BrdU) ile bağlandığında floresanı söner. Böylece iki tane BrdU zincir içeren kromatid açık renk, bir timin bir BrdU'lu kromatid koyu renk olarak gözlenir (82).

1974'te Perry ve Wolff, DNA ile birleşen BrdU'nin aynı zamanda Giemsa boyasının kromatinlere etki göstermesini azalttığını bulmuşlardır. Günümüzde kardeş kromatidleri ayırt etmek için bu araştırmacılar tarafından geliştirilen Floresans ve Giemsa (FPG) yöntemi tercih edilmektedir (82).

Evans isimli araştırmacı, yalnızca replikasyon süresince mevcut etkenlerin KKD'ni ortaya çıkarabildiğini, bu nedenle değiş tokuşun replikasyon çentiğinden başlaması gerektiğini ileri sürmüştür. KKD oluşumunun, bir kromatid üzerinden yeni sentezlenmiş zincir ile onun kardeşinin atasal zinciri arasında değiş tokuşu içerdiğini bu esnada zincirlerden birinde veya her ikisinde kırığın gerçekleştiğini öne süren bir modeldir (86) (Şekil 5).

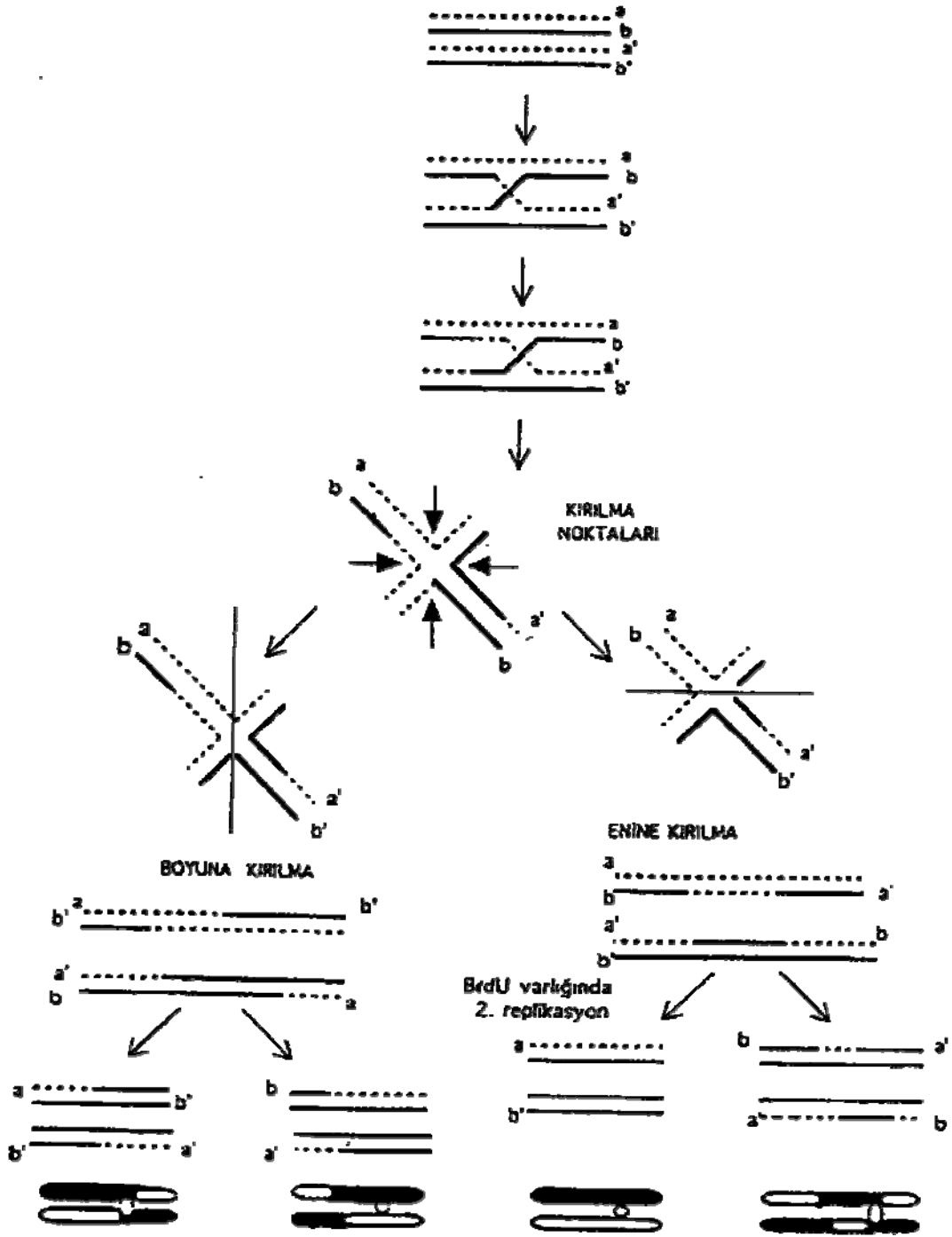


Şekil 5. Evans tarafından öne sürülen KKD oluşum mekanizması (86).

1981 yılında Loveday ve Latt isimli araştırcılar Potter ve Dresslerin önerdiği modelden yola çıkararak yeni bir model öne sürmüşlerdir. Bu modele göre kalıp DNA'dan komplementer olarak timin yerine BrdU'nin girdiği tamamlayıcı DNA zinciri sentezlenir. Her bir çift sarmalda tek zincir kırığı oluşur ve bir dublektteki bir zincir ile diğer dublektteki DNA'nın tamamlayıcı, kardeş zinciri arasında crossing-over gerçekleşir. Rekombinasyon sonucu hem timin, hemde BrdU'in yer aldığı heterodubleks zincirler oluşur (87).

DNA'nın crossing-over noktası etrafındaki rotasyonu ile 'X formu' meydana gelirken, kırıklar oluşur ve kırılan zincirler birbiri ile değil, kardeş zincirlerin parçaları ile DNA ligazla birleştirilerek her iki zincirinde BrdU ve her iki zincirinde timidin içeren 2 rekombinant yapı oluşur. Her iki zincirinde BrdU içeren bölgeler soluk, her iki zincirinde timin veya bir zincirinde BrdU, diğerinde timin içeren bölgelerin koyu boyanması ile KKD değerlendirilir (87) (şekil 6.)



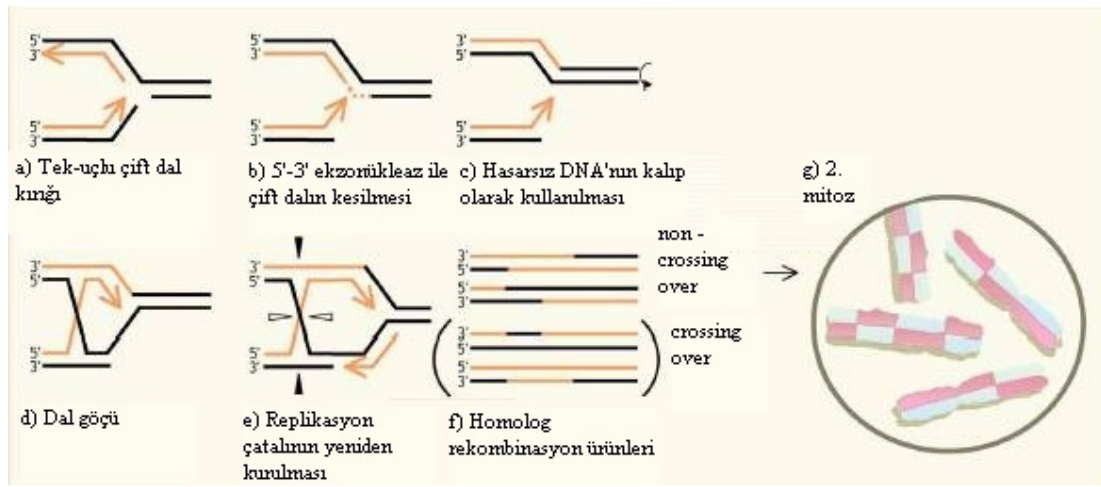


Şekil 6. KKD oluşum mekanizması (87).

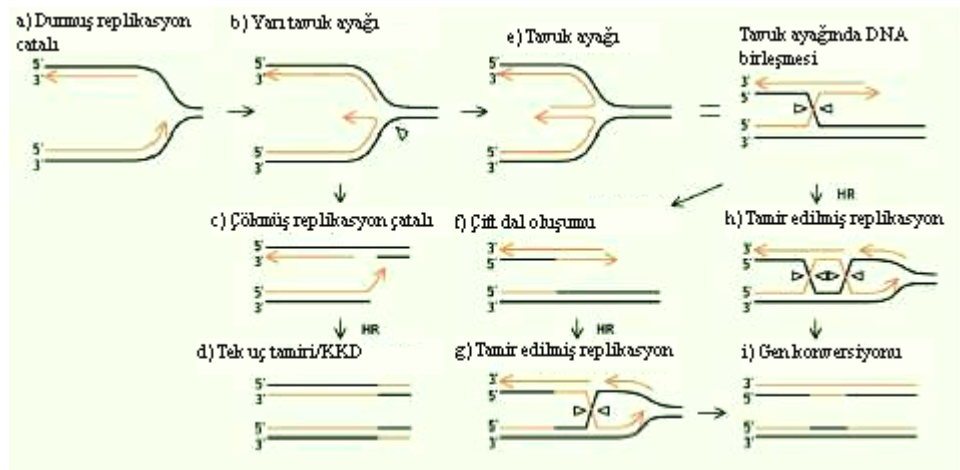
Son yıllarda ortaya atılan ve henüz ispatlanmamış bir modele göre, KKD oluşumu tek uçlu çift dal kırığı (çökmüş replikasyon çatalı) nın (Şekil 7.) ve durmuş (stalled) replikasyon çatalının (Şekil 8.) homolog rekombinasyonla tamiri sonucu oluşmaktadır (Tablo 6)(88).

**Tablo 6.** SCE'nin tek uçlu çift dal kırığı (çökmüş replikasyon çatalı)nın ve durmuş (stalled) replikasyon çatalının tamiri sonucu oluşumu (88).

Lezyonlara Neden Olan Ajanlar	Rekombinojenik Lezyonlar	Rekombinasyon Çeşitleri	Rekombinasyon Ürünleri
$\gamma$ – Işınları, restriksiyon endonükleazları	İki – uçlu çift dal kırığı	Homolog rekombinasyon ve non-homolog rekombinasyon	Delesyon, gen konversiyonu, bağlı duplikasyonlar
Topoizomeraz I inhibitörleri (camptothecin)	Tek – uçlu çift dal kırığı	Homolog rekombinasyon ve non-homolog rekombinasyon	KKD, delesyon
Hidroksiüre, timidin	Durmuş replikasyon	Homolog rekombinasyon	Gen konversiyonu KKD



**Şekil 7.** Çökmüş replikasyon çatalının homolog rekombinasyonla tamiri sonucu KKD oluşumu (88).

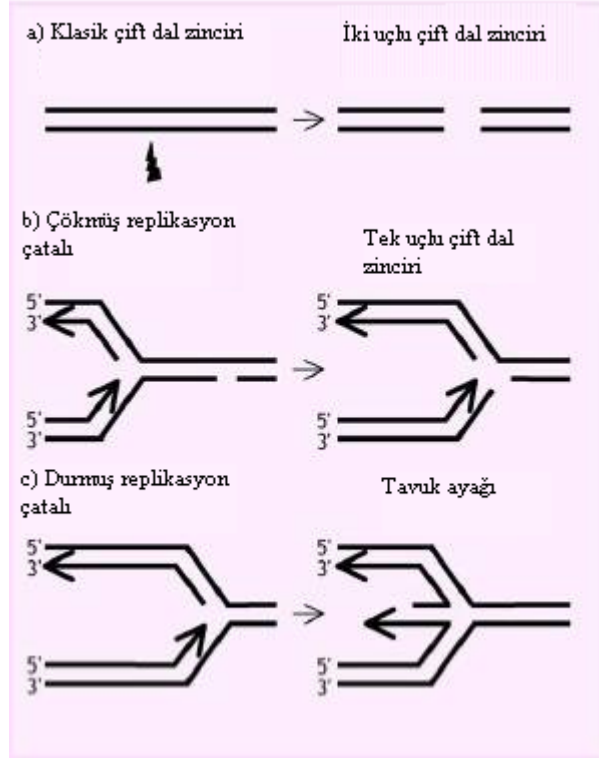


**Şekil 8.** Durmuş replikasyon çatalının homolog rekombinasyonla tamiri sırasında izlenen yollardan biri (d) sonucunda KKD oluşumu (88)

DNA'da meydana gelen çift dal kırıkları homolog rekombinasyon (HR) veya non-homolog rekombinasyon (NHEJ) mekanizmaları ile tamir edilir. Homolog rekombinasyon, homolog DNA sekansları arasında genetik değiş-tokuştur. Bakteriden insana kadar korunmuş bir olaydır ve son araştırmalar, omurgalı hücrelerinde güvenilir ve doğru bir replikasyon için mitotik HR'nun gerekli olduğunu savunmaktadır (88).

Memeli hücrelerinde, tekrarlayan DNA sekansları arasında, her hücre döngüsünde  $10^{-6}$ - $10^{-5}$  oranında spontan HR gerçekleşir. Bir rekombinasyon substratı yaklaşık 1-5 kb'dır, bunun anlamı bir hücrede, her hücre döngüsünde yaklaşık 10 spontan HR gerçekleşir. HR'nun bu oranı genom pozisyonuna, tekrarlayan genom uzunluğuna ve aralarındaki uzaklığa bağlıdır. Memeli hücrelerinde sitolojik metodlarda gözlenen spontan KKD sayısında yaklaşık hücre başına 10 KKD'dir. Bu da memeli hücrelerinde gerçekleşen spontan HR olaylarından önemli bir tanesinin KKD olduğunu, çünkü KKD'nin HR tarafından oluşturulduğunu desteklemektedir. Fakat bu hala ispatlanamamıştır ve KKD'ni başlatan spontan lezyonlar hakkında çok az bilgi vardır (88).

DNA çift dal kırıkları mitotik homolog rekombinasyon tamiri için substrattır. Özel bir endonükleazın neden olduğu çift dal kırıkları HR'nu indükler. Bu çift dal kırıkları, klasik çift dal kırıklarıdır ve tamir için iki serbest uca sahiptir (Şekil 9.a). Çift dal kırıkları aynı zamanda, tamir edilmemiş DNA tek dal kırıklarının çift dal kırıklarına dönüşmesi ile oluşur ve çökmüş (collapsed) replikasyon çatalıyla sonuçlanır (Şekil 9.b). Bu replikasyon çatalı ilişkili çift dal kırıkları da memelilerde homolog rekombinasyon tamirini başlatırlar ve tamir başlatmak için sadece tek bir serbest DNA ucuna sahiptirler. Aynı zamanda çift dal kırıklarının yokluğunda oluşan durmuş (stalled) replikasyon çatalının tamirinde de HR görevlidir (Şekil 9.c). Son yıllarda ortaya atılan ve henüz ispatlanmamış bir modele göre; durmuş replikasyon çatalının tamiri, enzimatik olarak replikasyon çatalının geri dönmesini içerir. Durmuş replikasyon atalındaki bu geçiş yapısı, replikasyon inhibitörleri tarafından indüklenen insan Mus81-Eme1 endonükleaz kompleksi için substrattır. Bu yapının kırılması ile çökmüş replikasyon atalındaki aynı tek-uçlu çift dal kırığı oluşur (88).



**Şekil 9.** DNA çift dal kırıkları mitotik homolog rekombinasyon tamiri için substrattır (88). a) klasik çift dal kırıkları. b) çökmüş (collapsed) replikasyon çatalı. c) durmuş (stalled) replikasyon çatalı.

## 2.2.2 KKD Yöntemini Etkileyen Faktörler

Esas olarak iki kategoriye ayrılır (89).

1. **Kültür koşulları ile ilgili faktörler:** İn vitro koşullarda lenfositlerin büyümesi ile birlikte olan kültür faktörleridir ve bu faktörleri kontrol altına almak mümkündür (89).

- a. Besiyeri:** Farklı besiyerlerinde üretilen insan lenfositlerinde farklı KKD sıklığı gözlenmiştir (89).
- b. Serum:** Besiyerine eklenen serumun konsantrasyonu KKD oluşumunu etkiler (89).
- c. Mitoz uyarıcı:** İn vitro koşullarda mitotik ajanlar kullanılarak mitoz artırılabilir. Günümüzde kullanılan mitotik ajanlar; TPP (tüberkülin pürifiye protein), tetanoz ekstresi, konkanavalin A, PWM (Pokeweed mitojen) ve PHA (Fitohemaglutinin) olup en çok kullanılan PHA transformasyonunun gerçek

işlgesi bilinmemekte ve indüksiyon süresinin sadece ilk 24 saatinde gereklidir. PHA, barbunya fasulyesi (*Phaseolus vrilganis*) ekstraktesi olan bir mukopolisakarittir. Kültürde 24 saatlik bir aradan sonra RNA sentezini artırır. İkinci 24 saat boyunca çekirdek genişlemekte ve DNA sentezi başlamaktadır. İlk mitoz 48. saatte gözlenir (76).

- d. **Antibiyotik:** Kültür ortamında antibiyotik bulunmaması KKD oranını azaltır (89).
- e. **BrdU Konsantrasyonu:** BrdU, toksik sınırlar dışında yüksek dozda hücre kültürüne eklenirse, mitotik indekste azalmalara ve KKD frekansında umulandan daha fazla artışlara neden olmaktadır. BrdU konsantrasyonu % 10 arttırıldığında KKD frekansının % 50 kadar arttığı gösterilmiştir (89).
- f. **Kültür ortamının sıcaklığı:** En ideal ısı 37 °C olup 36-38 °C aralığına tahammül edilir. 39 °C nin üzerindeki ısılarda kültürdeki hücreler ölür. Sıcaklığın geçici düşmesi hücreleri öldürmez ise de kültürleri duraklatarak hasat zamanında yeterli mitotik indeks eldesini önler ve preperatların kalitesini düşürür (76).
- g. **Karanlık ortam:** Hücrelerin kültüre edildiği sürece florasan ışığa maruz kalmaları BrdU içeren DNA'nın fotolizine neden olarak hareketli alkali grupların oluşumuna neden olur. Bu oluşum guanin ile reaksiyona girerek DNA'nın depurine olmasına ve bu da tek sarmalda kırılmalara neden olarak KKD oluşumunu indükler. Bu nedenle KKD analizi için kullanılacak kültürlerin ışıktan korunması gerekmektedir (85).
- h. **Kültür süresi:** İlk mitoz 48. saatte gözlenir. Her 24 saatte bir mitoz dalgası gözlenir. Bu nedenle hasat 72. saatte veya 96. saatte yapılır. Rutin amaçlı, senkronize olmayan kültürlerde önerilen kültür süresi 72 saattir (76).
- i. **Kolşisin konsantrasyonu:** Senkronize olmayan kültürlerde 2 metafaz arasında bir blok oluşturmak için mitotik mekik inhibitörlerinin kullanılması gerekir, bunlar mekik liflerinin oluşmasını engeller. Bu mekik liflerinin görevi mitoz bölünmesinden önce sentromerleri aracılığı ile kendilerine bağlanan kromozomların kromatidlerini birbirinden ayırmaktır. Kolşisin mekik inhibitörlerinden birdir ve 10 µg/ml olacak şekilde hazırlanır. Kolşisinde

bırakma süresi ile metafaz indeksinin sayısı birbiri ile orantılıdır. Fakat uzun süre bırakmalarda kromozom boylarında kısalma gözlenir. Bu nedenle süre iyi ayarlanmalıdır (76).

**j. Hipotonik çözelti:** Hipotonik çözeltilerde tuz yoğunluğu sitoplazmik tuz yoğunluğundan daha düşük olduğundan çözelti içindeki su hücre zarını aşır hücreye girer, hücreyi şişirir ve eritrositlerin çoğunu patlatır. Hipotonik uygulanması kritik bir zamanlama gerektirir. Kolçisinin etkisini sonlandırıp kromozomların dağılmasını sağlar. Hipotonik çözelti olarak; %1 sodyum sitrat veya 0,075 M KCI kullanılabilir. Kromozomlarda en az hasar yaptığından en çok kullanılan hipotonik çözelti KCI'dür (76).

**k. Fiksasyon:** Kromozom preparatlarında fiksasyon amacı ile taze hazırlanmış 3:1 oranında alkol ve glacial asetik asit kullanılır. Oranın değişmesi kromozom morfolojisini olumsuz yönde etkiler. Asetik asitin bu orandan fazla olması erken hücre zarı yırtılmasına neden olur. Bu da kromozom kayıplarına yol açar. Tam kan kültürlerini ilk fiksasyon sırasında sürekli karıştırmak gerekir. İlk fiksasyonla ortamda geriye kalan eritrositler hemoliz olur. Kırmızı renkli hemoglobin koyu kahve renkli hematine döner. Yeterli karıştırma yapılmamışsa, koyukahve renkli çökeltiler gözlenirken mitotik indeks düşer ve kalitesiz preparatlar elde edilir (76).

**1. Kanın çalışma zamanı:** Alınan kanların 24 saat içerisinde çalışılması önerilmiştir (88).

**2. Biyolojik Faktörler:** Bireylerin genotipleriyle birlikte, genel sağlık durumları veya yaşam tarzı ile ilgili olup genellikle hafifletilemez. Çalışmanın sonunda istatistiksel analizlerde belirtilmelidir (89).

**a. Sigara kullanımı:** KKD sıklığını büyük oranda etkiler. Sigara içenlerde KKD sıklığının arttığı kanıtlanmıştır. Barale ve arkadaşlarının 1650 kişi üzerinde yaptığı çalışmada, sigaranın KKD üzerindeki etkisinin günde içilen sigara sayısı ile doğru orantılı olduğu ve günde içilen en az 1-10 sigara ile KKD'nin %7.3 arttığı bulunmuştur. Hiç sigara içmeyenlerin KKD oranı 7.54 iken, daha önce içip bırakanların ki 8.09, sürekli içenlerinki ise 8.45'dir. Daha önce içip bırakanların ortalama KKD değerleri sigarayı bırakma zamanları ile doğru orantılı olarak azalır ve 8 sene içinde hiç sigara içmemişlerin ortalama

değerlerine ulaşır. KKD'nin düşüş zamanı daha önce içtiği sigara sayısı ile ters orantılıdır (90).

- b. **Cinsiyet:** Cinsiyete göre KKD frekansının değiştiği konusunda genelde araştırmacılar aynı görüşte olup dişilerde daha yüksek olduğunu gözlediler (90). Özellikle 10-14 yaşlarında dişilerde gözlenen KKD frekansındaki fazlalığın o dönemde salgılanan hormonlardan kaynaklanabileceğini bildirdiler. Spontan KKD oranı kızlarda 3.8- 10.33, erkeklerde 3.7-8.7 arasında olduğu saptanmıştır. Ayrıca kadınlarda KKD'nin menstrasyon sonunda maksimuma ulaştığı, ovulasyon süresince en aza indiği gözlenmiştir (91).
- c. **Yaş:** KKD sıklığında yaşın bir etkisi olmadığı şeklinde çalışmalar (92) yanında, çocuklarda KKD sıklığının yetişkinlere göre daha az olduğunu gösteren yayınlarda vardır (90).
- d. **Genetik faktörler:** İnsanlar arasındaki farklılıkların genetik faktörlere bağlı olup olmadığını belirlemek için birçok araştırmacı monozigotik ve dizigotik ikizlerde lenfosit kültürlerinde KKD düzeylerini araştırmışlardır. Pedersen ve arkadaşlarının yaptıkları bir çalışmada 11 monozigot ve 9 dizigot ikiz bireylerden aldıkları kan örneklerinden KKD çalışmışlar ve genetik faktörlerin KKD sıklığı ve kromozomlara dağılımı üzerine önemli rol oynamadığını göstermişlerdir (93).
- e. **Diyet:** Kronik alkoliklerde KKD sıklığında artış bildirilmiştir (89).
- f. **İlaç kullanımı:** Oral kontraseptifler dahil pek çok ilacın KKD sıklığını tetiklediği bilinmektedir (89).
- g. **Hastalık:** Çocuklarda şiddetli protein kalori malnutrasyonu varlığında KKD sıklığının arttığı gösterilmiştir (89).
- h. **Diğer:** Gebeliğin 3. trimestrinde KKD sıklığında belirgin bir artış kaydedilmiştir (89).

### 2.3 Pestisitler

Pestisit terimi, insan yaşamı için zararlı olan canlıları öldürmek amacı ile kullanılan bileşikler ya da maddeleri ifade eden genel bir terimdir (94). Çeşitli hastalıkları taşıyan parazitlerin, tarım ve bitki zararlısı böceklerin, insanların ve hayvanların çevrelerindeki ve barınaklarındaki sinek, bit, pire, kene, uyuz, hamam böcekleri gibi uçan ve yürüyen haşarelerin kontrolünde bugün içinde vazgeçilmez kimyasal mücadele aracı olan pestisitlerin çoğunluğu, esas hedefleri olan haşarelere karşı seçkin etkinlik göstermediklerinden, insan ve hayvanlarda da zehirleyici olabilirler (95). 15000'den fazla bileşik ve 35000 adet formülasyon, 1945'ten bugüne kadar insanların maruz kaldığı kimyasalların bir bölümünü oluşturur (96). Organik klorlu pestisitler, kalıcı özellikleri sebebiyle uygulandıkları çevrede uzun süre kalıp birikerek ve ayrıca besin zincirine girerek toplum ve çevre sağlığı için önemli bir tehlike teşkil ederler. Böylece, dinamik bir denge halinde kalmaya çalışan çevrede ekolojik dengenin bozulmasına sebep olurlar (95).

Agrokimyasalların içine giren maddelerin büyük çoğunluğu kullanılarak akut toksik etkileri, değişik deney sistemleri kurularak araştırılmıştır. Karbamatlar, organofosfatlar ve klorlanmış hidrokarbonları içeren birçok kimyasal bileşiğin genotoksik etkiler gösterdikleri bildirilmektedir. Diğer yandan pestisitlerin uzun vadede insanlar üzerindeki genetik riskleri çalışılmamıştır. Az miktardaki sitogenetik çalışmalar, meslek icabı pestisite maruz kalan populasyonlar üzerine yürütülmüştür. Periferik lenfositlerde, kromozom aberasyonları ve KKD genellikle kullanılan sitogenetik değerlerdir. Bu çalışmaların bazıları bu değerlerde dikkate değer bir yükseliş gözlemlemiş ve böylece pestisitlerin sitogenetik etkileri kanıtlanmaya çalışılmıştır (96).



### 3. MATERYAL VE METOD

#### 3.1 Materyal

Isparta ili Senirkent ilçesine bağlı Büyük Kabaca Kasabasında tarımla uğraşan ve pestisit uygulaması yapan 30 erkek olgudan venöz periferik kan heparinize enjektör ile alındı. Ayrıca olgularla aynı yaş ve cinsiyette, aynı özellikte, yakın zamanda hastalık geçirmemiş sağlıklı, gönüllü 30 kontrol bireyden de örnekler alınarak toplam 60 bireyde KKD analizi yapıldı. Tarımla uğraşan ve pestisit uygulaması yapan gruba ayrıca *Viscum album* L. ekstraktı eklendi ve KKD değeri üzerine etkisi incelendi.

Çalışmamızda pestisit uygulaması yapan grubu ve buna bağlı olarak kontrol grubunu belirlemek için bireylere Ek-1’de gösterilen anket uygulandı. Anket sonucuna göre kronik rahatsızlığı olanlar, sürekli ilaç kullananlar, son iki hafta içerisinde viral hastalık geçirenler, son altı ayda röntgen ışınına maruz kalanlar ile her gün veya 1-3 gün aralıklarla alkol içme alışkanlığı olanlar çalışma grubuna dahil edilmedi.

#### 3.2 Metod

##### 3.2.1 Kültürlerin Kurulması

###### Kullanılan Solüsyonlar

###### Besi ortamının hazırlanması:

RPMI 1640 Medium (Biological Industries, BİO1-106-1B )	100 ml
Fetal Calf Serum (Biological Industries, BİO4-001-1B )	30 ml
Fitohemaglutinin (Biological Industries, BİO12-006-1H )	3,3 ml
Penisilin / Streptomisin (Biological Industries, BİO3-031-1B )	2 ml
L- Glutamin (Biological Industries, BİO3-020-1B)	2 ml

###### Fitohemaglutinin hazırlanması:

Ticari olarak gelen 5 ml fitohemaglutinin şişesi içinde 5 ml RPMI 1640 Medium ile sulandırıldı.

### **Fetal Calf Serumun hazırlanması:**

Fetal calf serum çözdürüldükten sonra 65 °C’de 1 saat inaktive edildi.

### **5- Bromo- 2 deoxyuridine (BrdU) solüsyonunun hazırlanması:**

15.37 mg BrdU (Sigma, B5002) 10 ml distile su ile çözüldü, filtre edildi. Stok olarak hazırlanan bu solüsyon steril, ağzı kapaklı bir tüpe konup üzeri aliminyum folyo ile kaplanarak +4 °C’ de buzdolabında saklandı.

### **Helixor Pini (Helixor<sup>R</sup> P\*)**

Ticari olarak gelen,1 ml’sinde 50 mg *Viscum album* L. ekstraktı (Helixor<sup>R</sup> P) bulunan ampulden, her tüp için kültür ortamının 1 ml’sinde 14µl olacak şekilde 10 ml kültür ortamı için 3µl alındı.

\* Ökse otu ekstraktının ticari ismi

### **İşlemler:**

Besi ortamı hazırlandıktan sonra ağzı kapaklı, konik steril doku kültürü tüplerine (Falcon, 15 ml) 10 ml olacak şekilde dağıtıldı. Heparin (Liquemine-Roche) ile sıvanmış enjektör ile olgulardan alınan 5 ml kan steril şartlarda her bir tüpe 1 ml ilave edildi. Her tüp içine stok BrdU solüsyonundan 0,1 ml koyularak iyice karıştırıldıktan sonra, tüplerin kapakları parafilm ile sarıldı ve tüpler alüminyum folyo ile ışık görmeyecek şekilde kaplandı. Tüpler inkübasyon için, kapalı sistem etüv içinde 37 °C’de 72 saat bırakıldı. İlaçlama yapan grubu oluşturan bireylerin kanları ikili olarak çalışıldı, bir gruba diğerinden ve kontrol grubundan farklı olarak, her tüpe BrdU eklendikten sonra kültürün ml’de 14µl olacak şekilde, 50 mg/ml olan ampulden, 10 ml kültür ortamına 3 µl Helixor<sup>R</sup> P alınarak eklendi. Kanların kullanılmayan miktarları herhangi bir olumsuz durumda kullanılmak üzere enjektör içinde buzdolabında + 4 °C’de saklandı.

### 3.2.2 Kromozom Eldesi

#### **Kullanılan solüsyonlar:**

#### **Hipotonik solüsyonu:**

0.075 M KCl (Merck, 104936) olacak şekilde 0.56 gr KCl tartılarak 100 ml bidistile suda çözüldü, kullanılacağı saatten en az 1 saat önce hazırlanarak 37 °C'lik etüve konuldu.

#### **Fiksatif solüsyonu:**

1 birim glacial asetik asit (Merck, 100056) üzerine 3 birim methanol (Merck, 106008) ilave edilerek iyice karıştırıldı. Karışım kullanılmadan önce ve çalışma aralarında -20 °C'de saklandı.

Her deney aşamasında taze olarak hazırlandı. Bu solüsyonun taze olması içindeki alkolün uçuculuğu açısından önemlidir.

#### **İşlemler:**

Kromozom preparasyonu için modifiye Moorhead ve arkadaşlarının tekniği uygulandı (97). Üreme için 37 °C'deki etüve bırakılan kültür tüplerine, kromozom eldesinden 2 saat önce yani 70. saatte 10 µg/ml olacak şekilde 2 damla (2 ml'lik enjektör kullanıldı) kolçisin ilave edildi ve hafifçe karıştırıldı, tekrar 1 saat 10 dakika süre ile 37 °C'ye ayarlanmış etüve kaldırıldı. Bu süre sonunda etüvden çıkarılan tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj (Hetich, universal 32R) edildi. Süpernatant kısmı pastör pipeti ile atıldı. Çökelti ile üzerinde kalan 0.5 ml'lik sıvı vortekslendi ve bu sırada üzerine yavaşça hipotonik (0.075 M KCl) solüsyon toplam hacim 6 ml olana kadar eklendi. Tüpler 1 saat 37 °C etüvde bekletildi. Süre bitiminde 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi, pastör pipeti ile süpernatant kısmı atıldı. Çökelti ile üzerinde kalan 0.5 ml'lik sıvı vortekslendi ve vorteksleme işlemi devam ederken tüplerin yan duvarından yavaşça fiksatif toplam hacim 6 ml olana kadar ilave edildi. Fiksatif eklendikten sonra tüpler en az 1 saat süreyle -20 °C'de bekletildi. Bu bekleme basamağı sadece ilk fiksatifle yıkama için önemlidir, diğer fiksatif aşamalarında bekleme yapılmadan renk şeffaf olana kadar yıkama işlemine devam edildi. Rengi açılan tüplerin üzerinden 4 ml süpernatant kısmı atıldı ve kalan 2 ml kısım yayma için kullanıldı. Kalan

miktar yavaş yavaş pipetaj yapılarak karıştırıldı. Bir gün önceden yarı yarıya bidistile su ve alkolle hazırlanmış lamaların alkol kısmı dökülerek tekrar bidistile su konuldu ve suyun donması için buzluğa kaldırıldı. Yayma sırasında lamalar buz içinden alındı, 45 derecelik açı ile 20 cm yukarıdan pastör pipeti ile soğuk ıslak lam üzerine bırakıldı. Yayma işlemi yapılan preparatlar, kapalı sistem etüvde 37 °C'de 3 gün veya 65 °C'de 1 gece yaşlandırıldı.

### **3.3.3 Kardeş Kromatid Değişimi Boyama Tekniği**

#### **Kullanılan solüsyonlar:**

#### **Hoechst (Bisbenzimidide) stok solüsyonu:**

0.5 mg Bisbenzimidide (Serva, 15090) 10 ml bidistile suda çözüldü. Bir tüpe koyularak ağzı parafilm ile sarılıp, alüminyum folyo ile sarılı olarak buzdolabında + 4 °C'de saklandı.

#### **2XSSC solüsyonu:**

0.87 gr Na-sitrat (0.03 M Merck, 106448) ve 0.44 gr NaCl (0.3 M Merck, 106404) 100 ml bidistile suda çözüldü.

#### **Söransan tamponu:**

*A solüsyonu:* 4.537 gr KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck, 104873) 500 ml bidistile suda çözüldü.

*B solüsyonu:* 5.935 gr Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck, 106586) 500 ml bidistile suda çözüldü. Balon jöjeye A solüsyonundan alınarak pH 6.8'e gelinceye kadar B solüsyonu eklenerek 2 solüsyon karıştırıldı.

#### **Giemsa boya solüsyonu:**

3 ml Giemsa lösing (Merck, 109204), 97 ml pH 6.8'lik söransan tamponu içine ilave edilerek 100 ml'ye tamamlandı.

#### **PBS stok solüsyonu:**

5 PBS tableti (Amresco, AIE404-100) 500 ml bidistile suda çözüldü.

### İşlemler:

Korenberg ve arkadaşlarının önerdikleri modifiye boyama yöntemi kullanıldı (97). Yaşlanan preperatlar 100 ml PBS stok solüsyonu içinde karanlık ortamda 5 dakika bekletildi. Bu süre sonunda çıkarılan preperatlar, 99 ml PBS stok solüsyonu ve 1 ml Hoechst stok solüsyonundan oluşan solüsyonda 20 dakika bekletildi. Daha sonra preperatlar PBS solüsyonu içinde çalkalandıktan sonra petri kabına yerleştirildi, üzerine preperatların üstünü örtecek şekilde PBS tamponu ilave edildi. Petriler 13 cm yükseklikteki 366 nm UV lambası altına yerleştirildi. 25 dakika UV altında bekletilen preperatların üzerindeki PBS, bidistile suda çalkanarak uzaklaştırıldı ve preperatlar daha önceden 65 °C’de benmaride bekletilen 2x SSC’de 15 dakika bekletildi. Preperatlar çıkarılıp distile suda çalkalandıktan sonra % 3’lük Giemsa’da 20 dakika boyandı. Boyanan preperatlar distile sudan geçirildi. Kurutulduktan sonra entellan (Merck) yardımı ile kapatılıp, mikroskopta immersiyon yağı ile 100’lük objektifle incelendi.

### 3.3.4 Kardeş Kromatid Değişiminin Değerlendirilmesi

Pestisit kullanan vaka grubu, ökse otu ilave edilmiş vaka grubu ve kontrol grubu bireyleri için, iyi dağılmış 20 metafazdaki KKD oranları, 100x’lık mikroskop (Olympus) altında incelendi. Her bir metafazda gözlenen toplam değişim değeri belirlendi ve her birey için 20 metafaz değerlendirilerek değişimlerin ortalaması alındı.,

### 3.3.5 İstatistik Yöntem

Pestisit kullanan vaka grubu, ökse otu ilave edilmiş vaka grubu ve kontrol grubu bireyleri için ortalama KKD değeri elde edildi. Bu değerlere göre vaka grubunun, ökse otu eklenmiş vaka grubunun ve kontrol grubu bireylerin KKD değerleri **student-t testi, kıkare ( $\chi^2$ )-testi, Mann-Whitney U testi, eğitimde  $\chi^2$ -testi, independent-t testi, Paired-t testi, pearson korelasyon testi, spearman korelasyon testi** kullanılarak, istatistiksel açıdan önemlilik derecelerine göre değerlendirildi. İstatistiksel analizler **SPSS 10,0 for Windows** istatistik programı ile bilgisayarda yapıldı. İstatistiksel analizlerde  $p < 0,05$  anlamlı kabul edildi. Değerler, ortalama  $\pm$  standart sapma olarak verildi.

### 3.3.6 Fotoğrafik İşlemler

Tezde örnek olarak verebilmek için pestisit kullanan vaka, ökse otu eklenmiş vaka ve kontrol bireylerinden kaliteli olan birkaç metafazın 100x objektifle immersiyon yağı altında Zeiss marka mikroskop ve Canon marka dijital fotoğraf makinesi kullanılarak fotoğrafları çekildi.

## 4. BULGULAR

Bu çalışma kapsamında, son yıllarda kanser vakalarında belirgin bir artışın saptandığı Senirkent ilçesine bağlı Büyük Kabaca kasabasında yaşayan sulu tarımla aktif olarak uğraşan bireyler üzerinde KKD sıklığı araştırılmıştır. Bu amaçla pestisit uygulayan gönüllü 30 kişiden alınan kan örneklerindeki KKD sıklığı ile yine aynı yörede yaşayan ve aynı sosyo-ekonomik duruma sahip kontrollerin KKD sıklığı ile karşılaştırılmış ve *Viscum album L.*'un KKD sıklığı üzerine etkisi araştırılmıştır.

Pestisit uygulayan vaka grubunun ve kontrol grubunun yaş, sigara alışkanlığı, sigara kullanım süresi (yıl), sigara miktarı (paket/gün), alkol alışkanlığı, alkol kullanım süresi (yıl) ve alkol alış sıklığı bakımından karşılaştırılması Tablo 7.'de verilmiştir.

**Tablo 7.** Pestisit uygulayan vaka grubunun ve kontrol grubunun yaş, sigara alışkanlığı, sigara kullanım süresi (yıl), sigara miktarı (paket/gün), alkol alışkanlığı, alkol kullanım süresi (yıl) ve alkol alış sıklığı bakımından karşılaştırması.

	Vaka		Kontrol		Toplam	
	n	% <sup>1</sup>	n	%	n	% <sup>2</sup>
Yaş (ort±ss)	36,3±9,5		36,5±9,3		36,4±9,3	
sigara içenler	28	48,3	30	51,7	58	96,7
Sigara içmeyenler	2	100	-	-	2	3,3
Sigara içme süresi (yıl) <sup>3</sup> (ort±ss)	18,6±8,9		15,6±8,6		17,1±8,8	
Sigara miktarı (paket/gün) <sup>3</sup> (ort±ss)	1,3±0,4		1,1±0,2		1,2±0,3	
Alkol kullananlar	21	58,3	15	41,7	36	60
Alkol kullanmayanlar	9	37,5	15	62,5	24	40
Alkol kullanma süresi (yıl) <sup>4</sup> (ort±ss)	12,2±5,8		12,5±6,7		12,4±6,1	
*Alkol alış sıklığı <sup>4</sup> 1	-	-	10	100	10	27,8
2	16	96,2	5	23,8	21	58,3
3	3	100	-	-	3	8,3
4	2	100	-	-	2	5,6

<sup>1</sup> satır yüzdesi

<sup>2</sup> sütun yüzdesi

<sup>3</sup> sigara içenler için

<sup>4</sup> alkol kullananlar için

\* p<0,001

Vaka grubunun yaşları 22-60 arasında değişmektedir, yaş ortalaması  $36,3 \pm 9,5$  olarak saptanmıştır. Kontrol grubunun yaş aralığı ise 22-59 arasında değişmektedir ve yaş ortalaması  $36,5 \pm 9,3$ 'dür. Vaka ve kontrol grubunun yaş ortalamaları **student-t testi** ile karşılaştırılmış ve iki grup arasında bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Vakaların 28 tanesi sigara içerken, 1 tanesi daha önce hiç sigara içmemiş ve 1 tanesi ise 8 yıl içtikten sonra 1 yıl önce sigarayı bırakmıştır. Kontrol grubunun ise tamamı sigara içmektedir. Vaka ve kontrol grubundaki bu farklılık **kikare ( $x^2$ )-testine** göre anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Vakaların sigara içme süreleri 6-40 yıl arasında değişmektedir, ortalama içme süresi  $18,6 \pm 8,9$  yıl ve ortalama sigara miktarı (paket/gün)  $1,3 \pm 0,4$ 'dür. Kontrol grubunun sigara içme süresi ise 5-40 yıl arasında değişmektedir, sigara içme süresi ortalaması  $15,6 \pm 8,6$  ve ortalama içme süresi  $1,1 \pm 0,2$ 'dir. Sigara içme süreleri bakımından vaka ve kontrol grupları **student-t testi** ile karşılaştırılmış ve istatistiki olarak bir fark bulunmamıştır ( $p>0,05$ ). İki grup arasındaki sigara miktarı ise **Mann-Whitney U testine** göre anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Vakaların 21 tanesi alkol kullanmaktadır. 8 vaka daha önce hiç alkol kullanmamışken, 1 vakanın ise 18 yıl alkol kullandıktan sonra 7 yıl önce alkölü bıraktığı öğrenilmiştir. Kontrol grubunda ise 15 kişi alkol kullanmaktadır. 14 kişi daha önce hiç alkol kullanmazken, 1 kişi 25 yıl alkol kullandıktan sonra 1 yıldır alkol kullanmamaktadır. Vaka ve kontrol grubunun alkol kullanımı yönünden bu farklılığı  **$x^2$ -testine** göre anlamlı bulunmamıştır ( $p>0,05$ ).

Alkol alış sıklığı bakımından vaka grubunda 16 kişi ayda bir alkol kullanırken, 3 kişi iki haftada bir, 2 kişi ise haftada bir alkol kullanmaktadır. Kontrol grubunda ise, 10 kişi altı ayda bir alkol alırken 5 kişi ayda bir alkol almaktadır. Vaka ve kontrol grubu arasındaki fark **eğimde  $x^2$ -testine** göre anlamlı bulunmuştur ( $x^2=14,75$ ,  $p<0,001$ ).

Genel olarak, alkol alış sıklığı dışında diğer özellikleri arasında vaka ve kontrol grubu karşılaştırıldığında istatistiki olarak bir fark yoktur.

Kontrol grubundan farklı olarak pestisit uygulayan grubun ilaçlama sırasında aldığı önlemler, ilaçlama süresi (yıl), ilaçlanan alan (dönüm), ilaçlanan ağaç sayısı ve ilaçlama yaptıkları meyve türleri (kullanılan pestisit çeşitleri) Tablo 8.'de verilmiştir.

**Tablo 8.** Pestisit uygulayan grubun ilaçlama sırasında aldığı önlemler, ilaçlama süresi (yıl), ilaçlanan alan (dönüm), ilaçlanan ağaç sayısı ve ilaçlama yaptıkları meyve türleri.

	Kullananlar	
	n	%
Önlem		
Elbise	-	-
Eldiven	3	10
Maske	2	6,7
Gözlük	1	3,3
İlaçlama süresi (yıl) (ort±ss)	12,7±4,9	
İlaçlanan alan (dönüm) (ort±ss)	143,9±373,2	
İlaçlanan ağaç sayısı (ort±ss)	1560,9±1350,9	
İlaçlar		
Elma	30	100
Kiraz	28	93,3
Kayısı	25	83,3
Vişne	29	96,7
Erik	1	3,3
Pancar	2	6,7
Şeftali	3	10
Üzüm	4	13,3

Vaka grubunda hiç kimse koruyucu elbise kullanmazken 1 kişinin yalnız maske, 2 kişinin yalnız eldiven, 1 kişinin ise eldiven, maske ve gözlük kullandığı tespit edilmiştir.

İlaçlama süresi 3-20 yıl arasında değişmekte ve ortalama süre  $12,7 \pm 4,9$  yıldır. İlaçlanan alan ise 10-1520 dönüm ve ortalama alan  $143,9 \pm 373,3$  dönüm olarak saptanmıştır. İlaçlanan ağaç sayısı ise 55-5000 adet arasında değişmekte ve ortalama ağaç sayısı  $1560,9 \pm 1350,9$  olarak saptanmıştır.

İlaçlama yapılan meyve türleri, kullanılan pestisitler ve ilaçlama yapan kişi sayısı Tablo 9.'da verilmiştir.



**Tablo 9.** İlaçlama yapılan meyve türleri, kullanılan pestisitler ve ilaçlama yapan kişi sayısı.

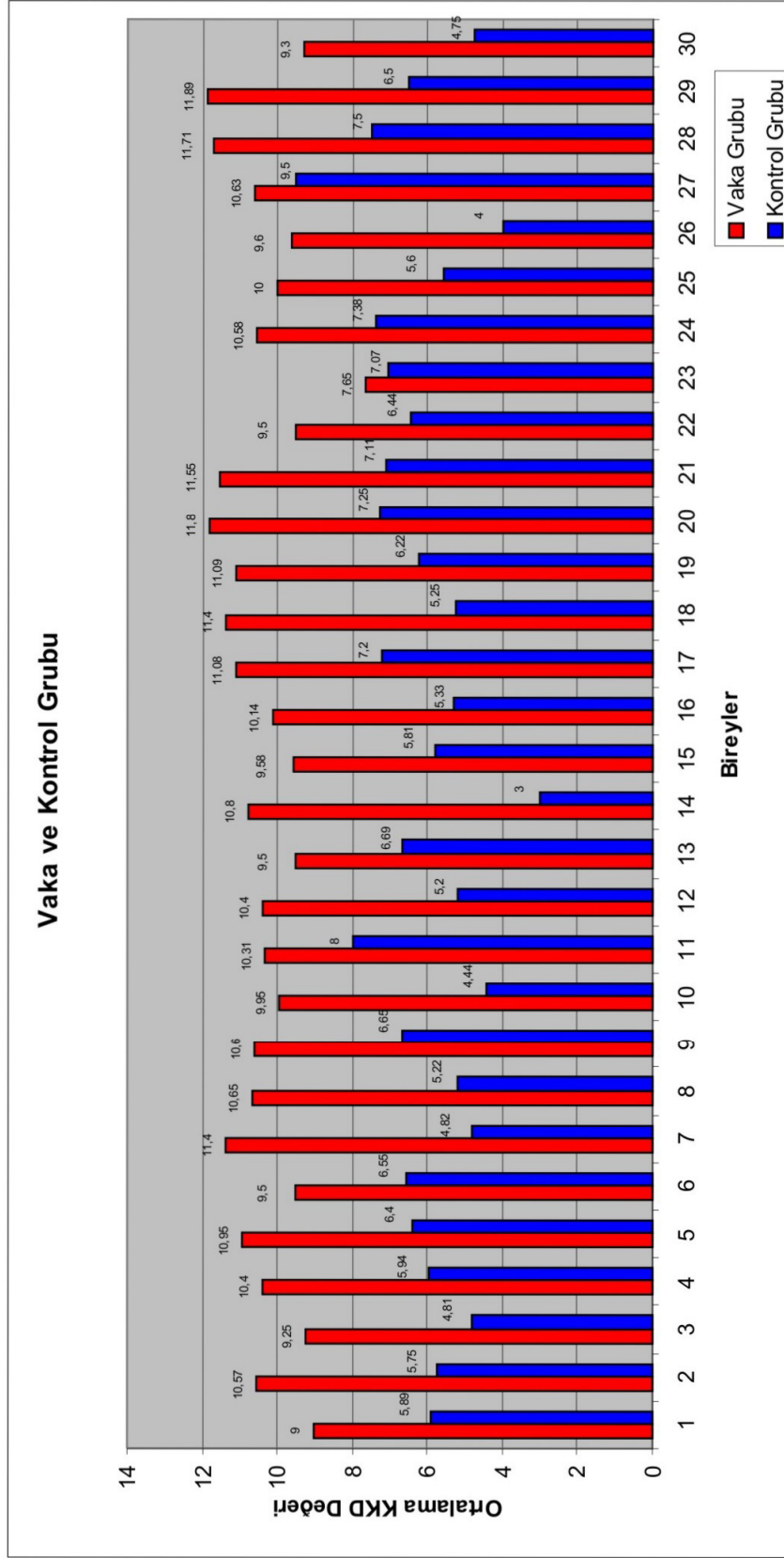
İlaçlama yapılan meyveler	Kullanılan pestisitler®*	İlaçlama yapan kişi sayısı
Elma	Süpracide, Folimat, Decis, Karate, Mavrik, İndar, Bullet, Calypso, Fosforin, Candit, Chorus, Flint, Score, Captan, Dursban, Suprathion, Biamin Plus, Göztaşı, , Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	30
Kiraz	Gusathion, Metasystox, Calypso, Meteor, Captan, Göztaşı, Biamin Plus, Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	28
Kayısı	Fosforin, Metasystox, Chorus, Captan, Gusathion, Suprathion, Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	25
Vişne	Goldplan, Metasystox, Meteor, Göztaşı, , Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	29
Erik	Goldplan, Metasystox, Meteor, Göztaşı, , Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	1
Pancar	Goldplan, Metasystox, Meteor, Göztaşı, , Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	2
Şeftali	Goldplan, Metasystox, Meteor, Göztaşı, , Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	3
Üzüm	Goldplan, Metasystox, Meteor, Göztaşı. Kükürt, , Soluplant 12-36-12, Nutrient Exp, Crop Finisher, Polyweet, Organik Gübre	4

\* ® Pestisitlerin ticari isimleri

### Çalışılan gruplarda KKD Değerlerinin Karşılaştırılması

Çalışılan gruplara ait preparatlarda 20 metafazda sayım yapılmıştır. Her bir olgu için metafazlarda gözlenen 1'li, 2'li, 3'lü, 4'lü değişimler sayılmış ve her biri KKD değeri olarak kaydedilmiştir. Kontrol bireyler arasında hücre başına düşen en düşük KKD değeri ortalama 3,00 en yüksek ortalama 9,5 olarak bulunmuştur. Vaka grubunda ise hücre başına düşen en düşük KKD değeri ortalama 7,65, en yüksek ortalama 11,89'dur.

Hücre başına düşen ortalama KKD değerlerinin kontrol grubu ve vaka grubu arasında karşılaştırıldığında kontrol grubunda hücre başına düşen ortalama KKD değeri  $6,1 \pm 1,3$ , pestisit uygulayan vaka grubunda ise  $10,4 \pm 1,0$  olarak saptanmıştır (Tablo 10). Her iki grup arasındaki fark **independent-t testine** göre oldukça anlamlı bulunmuştur ( $p < 0,001$ ). Ayrıca KKD değerleri açısından iki grubun karşılaştırılması grafik 1'de görülmektedir (Grafik 1.)



**Grafik 1.** Vaka ve Kontrol Grubunun ortalama KKD değerlerinin karşılaştırılması.

**Tablo 10.** Kontrol grubu ve vaka grubunun KKD değerleri.

	Kontrol	Vaka
KKD (ort±ss)	6,1±1,3	10,4±1,0

Pestisit uygulayan gruba ayrıca ökse otu ekstraktı eklenmiş ve KKD değerleri incelenmiştir. Ökse otu eklendikten sonra vaka grubu bireyler arasında hücre başına düşen en düşük KKD değeri ortalama 3,9 en yüksek KKD değeri ortalama 8,45 olarak bulunmuştur. Hücre başına düşen ortalama KKD değeri ise  $6,5 \pm 1,1$  olarak saptanmıştır. **Independent- t testine** göre kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ökse otu kullanılan vaka grubu ile kontrol grubu arasında istatistiki olarak bir fark gözlenmemiştir (Tablo 11.) ( $p>0,05$ ).

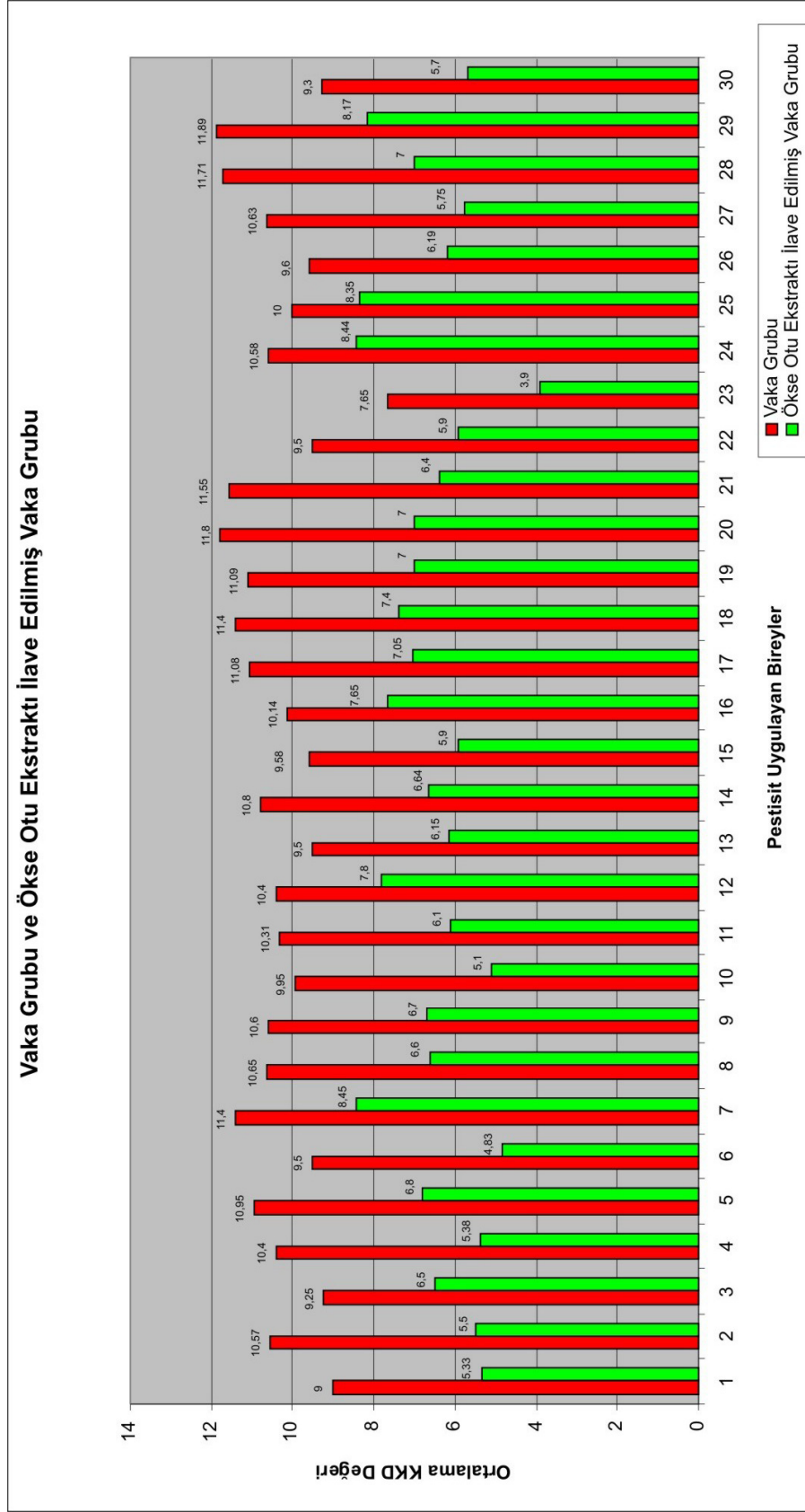
**Tablo 11.** Kontrol grubu ve ökse otu eklenmiş vaka grubunun KKD değerleri

	Kontrol	Vaka + ökse
KKD (ort±ss)	6,1±1,3	6,5±1,1

Vaka grubu ökse otu ekstraktı eklenmeden önceki ve eklendikten sonraki KKD değerleri de karşılaştırılmıştır (Tablo 12.). **Paired-t testi** uygulanmış ve iki grup arasındaki fark oldukça anlamlı bulunmuştur ( $p=0,000$ ,  $p<0,001$ ). Ayrıca KKD değerleri açısından iki grubun karşılaştırılması grafik 2’de görülmektedir (Grafik 2.)

**Tablo 12.** Vaka grubu ökse otu ekstraktı eklenmeden önceki ve eklendikten sonraki KKD değerleri

	Vaka	Vaka + ökse
KKD (ort±ss)	10,4 ± 1,0	6,5 ± 1,1



**Grafik 2.** Vaka grubunun ökse otu ekstraktı eklenmeden önceki ve eklendikten sonraki ortalama KKD değerlerinin karşılaştırılması.

Tablo 13'te ise KKD'nin yaş, sigara alışkanlığı, sigara süresi, sigara miktarı, alkol alışkanlığı, alkol süresi ve alkol sıklığı ile korelasyonu verilmiştir.

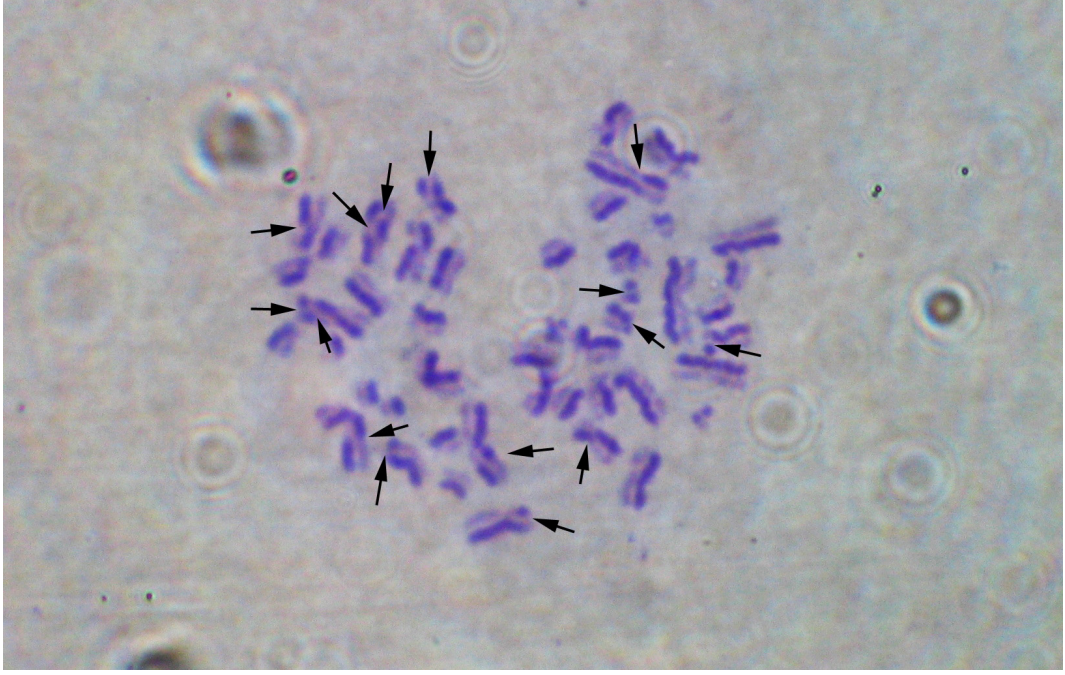
**Tablo 13.** KKD'nin yaş, sigara alışkanlığı, sigara süresi, sigara miktarı, alkol alışkanlığı, alkol süresi ve alkol sıklığı ile korelasyonu.

	Korelasyon	p
Yaş	0,073	0,579
Sigara içilmesi		0,323
Sigara süre	0,262*	0,047
Sigara miktar	0,285*	0,03
Alkol kullananlar		0,236
Alkol süre	0,194	0,258
Alkol sıklığı	0,720**	0,000

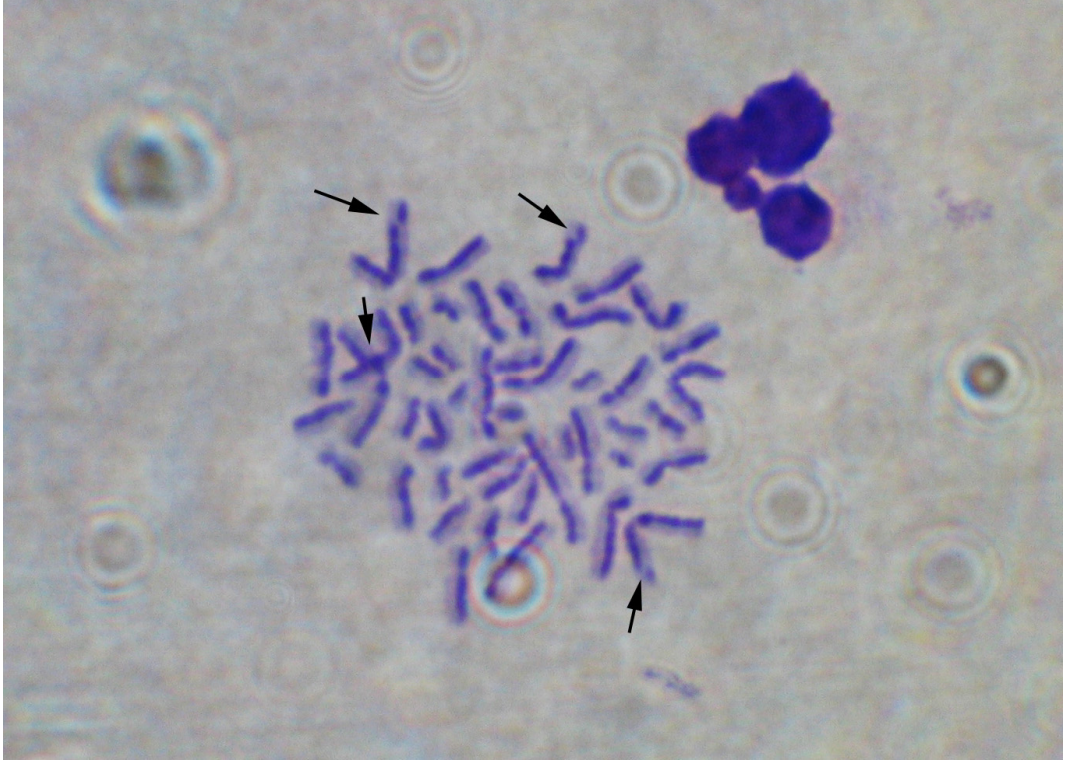
\* p<0,05

\*\* p<0,001

KKD'nin yaş ile korelasyonu için **pearson korelasyon testi** kullanılmış ve korelasyon anlamlı bulunmamıştır ( $x^2=0,073$ ,  $p=0,579$ ,  $p>0,05$ ). Sigara ve alkol alışkanlıkları için **Mann-Whitney U testine** göre korelasyon anlamlı değildir ( $p>0,05$ ). Sigara süresi, sigara miktarı, alkol süresi ve alkol sıklığı için ise **spearman korelasyon testi** ( $n<30$ ) kullanılmış ve sigara süresi, sigara miktarı ve alkol sıklığı ile KKD arasında önemli bir korelasyon gözlenirken ( $p<0,05$ ), alkol süresi ile KKD arasında korelasyon gözlenmemiştir ( $p>0,05$ ).

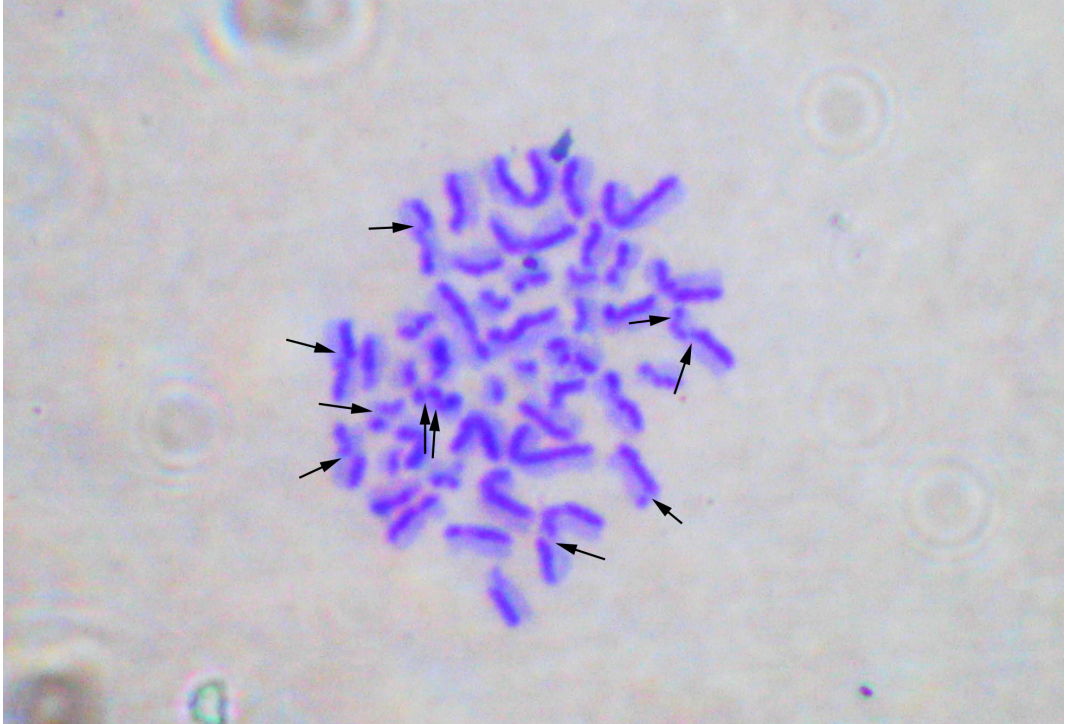
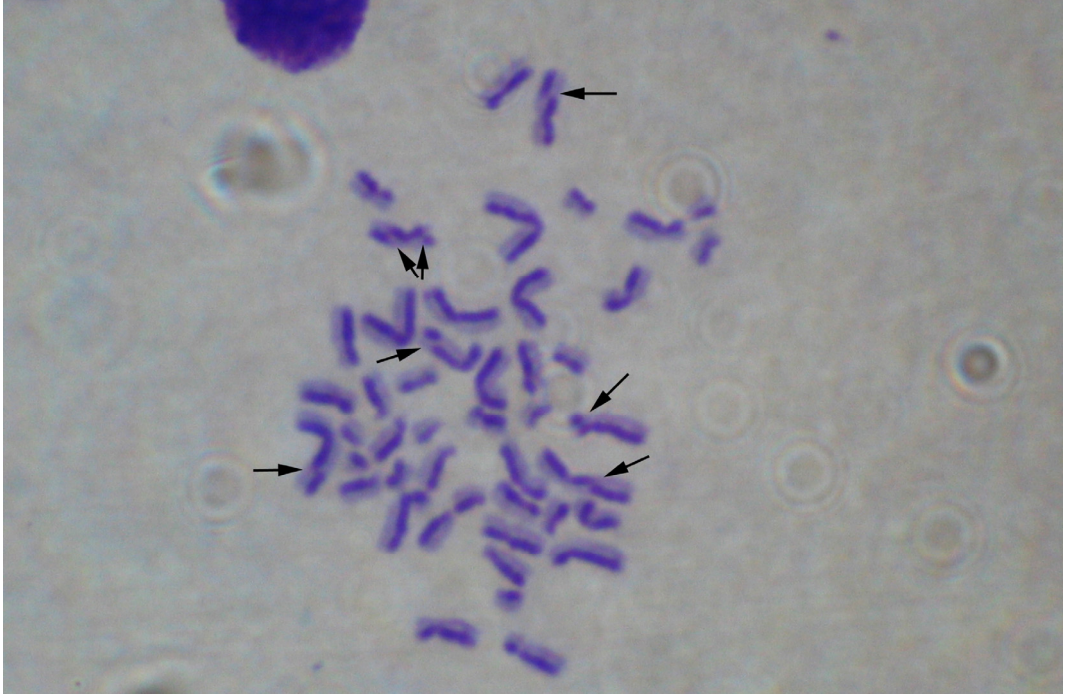


**Resim 1.** Pestisit uygulayan vaka grubuna ait bir metafaz örneği.



**Resim 2.** Kontrol grubuna ait bir metafaz örneği.





**Resim 3.** Ökse otu ilave edilmiş vaka grubuna ait iki ayrı metafaz örneği.

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇLAR

Türkiye’de de tarımsal zararlılar ile mücadelede pestisit kullanımı çok yaygınlaşmıştır. Pestisit kullanımının tartışılmaz yararlarına karşın etkin denetimden yoksun ve aşırı miktarlarda uygulanması insan dahil hedef olmayan diğer canlılarda zehirlenmelere ve ölümlere neden olmakta, ekosistemlerin ve besinlerin kirlenmesine yol açmaktadır. Pestisitlerin özellikle mutajenik, karsinojenik ve teratojenik etkilere sahip olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir (71, 96, 98, 99).

Pestisitlerin ve etken maddelerinin akut toksik etkileri çeşitli deneylerle araştırılmıştır. Karbamatlar, organofosfatlar ve klorlanmış hidrokarbonları içeren birçok kimyasal bileşiğin genotoksik etkiler gösterdikleri bildirilmiştir (11).

KKD, çeşitli mutajen ve karsinojenlerin neden olduğu DNA hasarını sağlamada, in vivo ve in vitro koşullar altında oluşma kolaylığı ve duyarlılığı nedeni ile sıklıkla kullanılan bir tetkiktir (11, 100).

Tarım ile uğraşan ve pestisite maruz kalan insanlarla bu bileşiklere maruz kalmayan bireyler arasında yapılan çalışmalar, pestisite maruz kalan insanlarda yapısal ve sayısal kromozom anomalileri (KA) ile KKD’nin yüksek oranlarda tekrarlandığını göstermektedir (101).

Mutajene maruz kalan bireylerin ve kanser gelişimine yatkın olan bireylerin hücrelerinde, normal spontan KKD sıklığından daha yüksek oranda artmış KKD değerini bildiren birçok çalışma vardır (102,103).

Kanserlerle ilgili olarak KKD tekniği çok değişik amaçlarla uygulanmış ve bu yöntemin uygulanan tedaviyi yönlendirmede gelecek vaat ettiği ileri sürülmüştür (104). Ayrıca, spontan KKD oranlarının, kanser erken teşhisinde klinik açıdan bir prelinik marker olarak kullanılabileceği görüşü yaygındır (105, 106).

Çalışmamızda, son yıllarda kanser vakalarında belirgin bir artışın saptandığı Büyük Kabaca Kasabasında yaşayan, sulu tarımla aktif olarak uğraşan ve pestisit uygulayan bireyler belirlendi. Yine aynı yörede yaşayan ve pestisit uygulamayan kişiler de kontrol grubu olarak seçildi. Her iki grubun kanlarında KKD sıklığı incelendi ve *Viscum album* L’un KKD sıklığı üzerine etkisi araştırıldı.



KKD sıklığı, yaş, cinsiyet, bireylerin genetik yapısı, sigara, alkol, radyasyon, bazı kimyasallar ve kültür koşulları gibi birçok faktöre bağlı olarak değişmektedir. Bu nedenle KKD sıklığı ile çalışırken çok dikkatli olunmalı ve mümkün olduğunca bu faktörler çalışma grupları arasında standardize edilmelidir. Yani değişik faktörlerin KKD üzerine etkilerini araştırırken kontrol grupları bütün bu değişkenler göz önüne alınarak belirlenir (11, 100).

KKD sıklığını değiştiren bu faktörler nedeniyle çalışmamızdaki vaka grubunu ve buna bağlı olarak kontrol grubunu belirlemek için bireylere anket uygulandı. Büyük Kabaca yöresinde yapılan araştırma sonucunda 45 kişinin pestisit uygulama işi ile uğraştıkları ve herhangi bir koruyucu elbise kullanmadıkları tespit edildi. Bu bireylerin tamamına Ek-1’de gösterilen anket uygulandı. Anket sonuçlarının değerlendirilmesi neticesinde, 15 birey, sürekli bir hastalığı olduğu, sürekli ilaç kullandığı, son 6 ay içinde radyasyona maruz kaldığı yada son iki hafta içinde viral bir hastalık geçirmesi nedeni ile elimine edilirken, geriye kalan bireylerin iki tanesi hariç diğerlerinin tamamının sigara ve alkol alışkanlıklarının olmasına rağmen, sayılarının sınırlı olması nedeniyle çalışma grubuna dahil edildi.

Sigara tüketiminin, insanlarda KKD sıklığını etkileyen bir faktör olduğu düşünülmüş ve bu konuda çalışmalar yapılmıştır. Lei ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada, 61 kişiden alınan kan örneklerinde KKD sıklığına bakılmış ve anlamlı sonuçlar elde edilmiştir. Bu çalışma, sigara içen bireylerin kültürlerinden elde edilen KKD miktarının sigara içmeyenlere göre daha fazla olduğunu göstermiştir (106). Bunun yanında Liou’nun 43 kişi (107), Nagaya’nın 24 kişi(108), Cheng ve arkadaşlarının 85 kişi (109), Popp ve arkadaşlarının 24 kişi (110), Kelsey ve arkadaşlarının (111) 117 kişi üzerinde yaptıkları çalışmalarda da sigaranın KKD sıklığını artırdığı tespit edilmiştir. Shim ve arkadaşları tarafından yeşil çayın sigara içenlere etkisinin araştırıldığı çalışmada sigara içenlerin KKD miktarının (9,46) içmeyenlere (7,03) oranla daha yüksek olduğu ve yeşil çayın sigaranın neden olduğu KKD sıklığını engellediği tespit edilmiştir (112).

Çalışmamızda 2 birey dışında tüm bireyler sigara içmektedir. Sigara içmeyen bireylerin sayısı çok az olduğu için sigara içenler ve içmeyenler arasında bir karşılaştırma yapılamadı. Bu nedenle sigara içilmesi ile KKD arasında bir korelasyon bulunamadı.

Vaka grubunun sigara içme süresi ortalama  $18,6 \pm 8,9$  yıl, kontrol grubunun ise ortalama  $15,6 \pm 8,6$  yıldır ve iki grup arasında fark yoktur ( $p < 0,05$ ). Skyberg ve arkadaşlarının 31 kişi üzerinde yaptıkları çalışmada KKD sıklığının sigara süresi ile paralellik gösterdiği bulunmuştur (113). Çalışmamızda da sigara süresi ile KKD arasında korelasyon söz konusudur. KKD sıklığının günde alınan sigara miktarı ile de ilgili olduğu

yönünde çalışmalar da yapılmıştır. Murthy ve arkadaşlarının 81 oral kanserli hastada yaptığı çalışmada, günde 10 adet sigaradan fazla içen hastalarda, 10 adetten az içen hastalara oranla KKD sıklığı daha yüksek bulunmuştur (114). Burada vaka grubunun ortalama sigara miktarı günde  $1,3 \pm 0,4$  paket, kontrol grubunun ise günde ortalama  $1,1 \pm 0,2$  pakettir. Her iki grupta da içilen ortalama sigara miktarı günde 20 adetten fazladır. Gruplar arasında içilen sigara miktarı bakımından fark olmamakla birlikte sigara miktarı ile KKD arasında korelasyon vardır ( $r=0,285$ ,  $p=0,03$ ).

KKD'ni önemli ölçüde etkileyen bir diğer faktör alkoldür. Alkol kullanan bireylerde KKD' ne sıkça rastlandığını gösteren çalışmalar yapılmıştır. Popp ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada oral kanserli hastalarda kontrol grubuna göre önemli ölçüde yüksek KKD değerleri bulunmuştur. Her iki grupta da en yüksek KKD değerleri, en fazla alkol tüketen alt gruplarda gözlenmiştir (115). Strom ve arkadaşlarının hodking's hastalarında yaptığı çalışma sonucunda alkolün KKD' ni indüklediğini ve spontan kromozom kırıklarının sıklığını önemli ölçüde arttırdığını tespit etmişlerdir (116). Benzer şekilde Butler ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada da en yüksek KKD değerlerinin en fazla alkol tüketen gruplarda olduğu bulunmuştur (117).

Sigara tüketiminin ve alkol kullanımının birlikte KKD' ni etkilediğini gösteren bir çalışmada sigara içen ve alkol kullanan 105 hodking's hastasında en yüksek KKD' i tespit edilmiştir (117). Benzer bir çalışmada alkolik bireylerdeki alkol ve sigara tüketimine bağlı oluşan KKD oranları, sigara içen ve içmeyen bireylerdeki KKD oranları ile karşılaştırılmıştır. Bu çalışmaya göre sigara kullanan kronik alkolik bireylerdeki ortalama KKD sıklığı pozitif kontrol grubuna göre anlamlı bir şekilde artmıştır (85).

Çalışmamızda da sigara kullanımıyla birlikte alkol kullanımı da söz konusudur. Vaka grubunda 21 kişi, kontrol grubunda 15 kişi alkol kullanmaktadır. Bu bireylerden 2 kişi hariç tamamı aynı zamanda sigara da tüketmektedir. Vaka ve kontrol grubunda alkol kullanımı bakımından bu farklılık istatistiki olarak anlamlı bulunmazken alkol kullanımı ile KKD arasında korelasyon bulunmadı ( $p>0,05$ ).

Alkol kullanım süresi vaka grubunda ortalama  $12,2 \pm 5,8$  yıl, kontrol grubunda ise ortalama  $12,5 \pm 6,7$  yıldır. İki grup arasında alkol kullanım süresi bakımından istatistiki olarak bir fark yoktur fakat alkol alış sıklıkları istatistiki olarak birbirinden farklıdır. Alkol kullanım süresi ile KKD arasında korelasyon gözlenmezken alkol alış sıklığının KKD üzerinde etkili olduğu bulundu.

KKD oluşturmada yaşın etkisi halen tartışılmaktadır. Bazı çalışmalar yaşın KKD üzerine etkisi olmadığını gösterirken Husum ve arkadaşlarının 533 sağlıklı bireyden kan alarak yaptıkları çalışmada KKD ile yaş arasında pozitif bir ilişki olduğu gösterilmiştir. 5 yıl süren bu çalışmada cinsiyet, yaş ve sigara tüketimi faktörlerinin kendiliğinden oluşan KKD oranlarına önemli bir etkisi olduğu ancak yaş ve sigara tüketiminin kadın ve erkek bireyler arasında sadece %17 ve %19'luk bireysel farklılık gösterdiği ve böylece bu değeri etkileyen diğer faktörlere ve de özellikle beslenme alışkanlığına dikkat edilmesi sonucuna varmışlardır (118). Bazı çalışmalar gençlerde yaşlılara göre KKD değerlerinin daha düşük olduğunu göstermektedir. Bu çalışmada yaşlı kadınlardan alınan kan örneklerinden elde edilen ortalama KKD değeri (8,0) genç kadınlardan alınan kan örneklerinin analizinden elde edilen ortalama KKD değeri (6,7) ile karşılaştırılmış ve anlamlı sonuç elde edilmiştir (119).

KKD çalışmalarında yaşın önemli bir faktör olduğunu gösteren çalışmaların (113, 120, 120) bulunmasına rağmen, çalışmamızda yaşın KKD değerini etkileyen bir faktör olduğunu gösteren anlamlı bir sonuç elde edilemedi. Çalışmaya dahil edilen bireylerin yaşları 22-65 yıl arasında değişmekle birlikte çoğunun yaşlarının birbirine çok yakın olması ve çalışma grubunun sayısal azlığı yaşın KKD değeri üzerine etkisinin gözlenmesini zorlaştırdığı düşünülebilir.

Pestisitlerin kullanımının artması çevreye ve insan sağlığına zararlı etkilerini de beraberinde getirmektedir (71, 96, 98, 99). Mesleki açıdan pestisitlere maruz kalanlarla, periferik kan lenfositlerinde KKD bulunması arasında ilişki bulunduğu çeşitli çalışmalarla tespit edilmiştir (121-139). Ancak bu çalışmaların sonuçları birbirleri ile çelişkilidir. Bunlardan bir kısmı sonuçlarımızla benzer olarak KKD sıklığının, zirai ilaçlama yapanlarda (121-123), çiçek yetiştiricilerinde (124, 125), pamuk tarlasında (126-129), üzüm bağlarında (130) ve pestisit endüstrisinde çalışanlarda (131, 132) yada tarımla uğraşanlarda (133) arttığını göstermektedir. Gomez-Arroya ve arkadaşlarının serada çalışan işçiler üzerinde yaptığı çalışmada, sırasıyla 10 yıl ve 1,5 yıl pestisite maruz kalmış 22'si bayan, 8'i erkek 30 kişi çalışma grubu ve 28'i bayan olmak üzere pestisite maruz kalmayan 30 kişiden de kontrol grubu oluşturulmuştur. Kontrol grubunun ortalama KKD değeri ile pestisite maruz kalan grubun ortalama KKD değeri arasında anlamlı bir fark bulunmuştur. Pestisite maruz kalan bayanlar ve erkekler arasında ise anlamlı bir fark bulunmamıştır (11, 23).

Benzer bir çalışma pestisite maruz kalan 104 sera çalışanı ve pestisite maruz kalmayan 44 kişiden oluşan kontrol grubu üzerinde yapılmış, bu araştırmanın sonucunda pestisite maruz kalan kişilerde, maruz kalmayanlara oranla çok daha yüksek KKD sıklığı

bulunmuştur. Bireylerin bu çalışmada pestisite maruz kalma süreleri 2,5 - 55,5 yıl arasında değişmekle birlikte ortalama 28,3 yıldır. 21 yıldan fazla pestisite maruz kalanlarda, 21 yıldan daha az kalanlara oranla KKD değeri daha yüksek bulunmuştur. Yaklaşık 24 değişik pestisit sınıfının karışımını bireylerin kendilerinin hazırlaması ve yıl içinde yapılan spreyleme sayısı KKD oranının yüksek olmasında etkilidir. Sonuç olarak sera çalışanlarında KKD sıklığının önemli ölçüde yüksek çıkması pestisite maruz kalmanın potansiyel sitogenetik zararlarının olduğunu göstermektedir (134).

Başka bir çalışmada pestisit endüstrisinde çalışan ve yoğun bir şekilde pestisit karışımına (atrozine, alakloaranazin, 2,4-diklorofenol asetik asit ve malation) maruz kalan bireylerin kanında KKD sıklığı araştırılmıştır. Çalışanlardaki genotoksik etkileri tespit etmek için ilk kanlar 8 ay süren pestisit üretiminin hemen bitiminde, lenfositlerindeki DNA tamirini tespit etmek için ise ikinci kanlar pestisit üretiminin bitiminden 8 ay sonra alınmıştır. Pestisite maruz kalma süresi sonunda alınan kanlarda kromozomal aberasyonlar (KA), KKD sıklığı ve mikronükleus (MN) sıklığı oldukça yüksek bulunmuştur. İkinci kan örneklerinde ise KA, MN sıklığı ve DNA kaybı ilk alınan kanlara oranla önemli ölçüde düşmüş fakat hala kontrole oranla önemli ölçüde yüksek olduğu bulunmuştur. KKD sıklığının pestisite maruz kalınmayan 8 ay sonunda düşmediği gözlenmiş bu da pestisit karışımına uzun süredir maruz kaldığını ve DNA tamiri için 8 aylık sürenin kısa bir süre olduğunu göstermektedir (135).

KKD sıklığının pestisit kullanımı ile arttığını gösteren çalışmalar yanında, zirai ilaçlama yapanlarda (136-138), çiçek yetiştiricilerinde (139) yada pestisit spreyleyenlerde (140) KKD sıklığı ile pestisit kullanımı arasında korelasyon olmadığı sonucunu veren çalışmalar da yapılmıştır. Bu zıtlık, çalışma alışkanlıkları, korunma yöntemleri, kullanılan farklı pestisitlerden ve kişilerin pestisite maruz kalma sürelerinin farklılığından kaynaklanabilir.

Çalışmamızda ilaçlama süresi, ilaçlanan alan ve ilaçlanan ağaç sayısı KKD sıklığı ile korelasyon göstermedi. Bolognesi ve arkadaşlarının (140) KKD sıklığı ile pestisite maruz kalma süresi arasında korelasyon bulunmadığı yönündeki çalışması bizim çalışma sonuçlarımızı desteklemektedir. Pestisite maruz kalma süresi ile KKD sıklığı arasında korelasyon bulunmamasını Gomez-Arrayo ve arkadaşları, pestisitle temas süresinin kısa olmasına ve kişilerin benzer KKD sıklığına sahip olmasına bağlamaktadır (123).

İlaçlama yapılan meyve türleri ve meyveler için kullanılan pestisitler Tablo 9.'da verildi. Bu pestisitlerin çoğunluğu fosforlu ve azotlu bileşikler ve organik fosfatlar grubu pestisitlerdendir. Mesleği gereği değişik pestisit gruplarıyla ilişkili olan insanlarla yapılan

çalışmalarda organik fosfatlar (trichlorphon, phosmet, diazinon) (141, 142), karbamatlar (pirimicarb) (143) ve ditiokarbamatlar (ziram, zineb, thiram) (144-146) ile çalışan veya üretim yapan insanlarda pozitif bulgular saptanmıştır. Piero Dolara ve arkadaşları tarafından yapılan bir çalışmada belirlenen 4 pestisitın sitogenetik etkileri araştırılmıştır. Dimethoate ve omethoate, başlıca iki organofosfatlı insektisitlerdir, doza bağlı olarak insan lenfositlerinde in vitro koşullarda KKD frekansını yükseltmektedirler ( $p<0,01$ ) (147) Ayrıca organofosfatlı bileşiklere maruz kalmanın, KKD gibi sitogenetik hasarla sonuçlandığı Padmavathi ve arkadaşları tarafından da gösterilmiştir (148).

Bunun yanı sıra KKD sıklığının pestisite maruz kalma süresi ile korelasyon gösterdiğini destekleyen çalışma sonuçları da bulunmaktadır. Rupa ve arkadaşları sebze bahçesinde alışanlarda KKD sıklığının artışında maruz kalınan yılların artışı ile paralellik gösterdiğini bulmuştur (126). Benzer şekilde pestisit spreyleyenlerde de aynı sonuç bulunmuş, pestisite maruz kalma yılı ile birlikte KKD sıklığının önemli ölçüde arttığı gözlenmiştir (147).

Pestisit spreyleyenlerde KKD sıklığının artmasının spreyleme sırasında yeterli koruyucu önlemlerin alınmaması ile ilişkili olduğu yapılan çeşitli çalışmalarla ortaya konmuştur (148-151). Shane ve arkadaşlarının maske takmayan sera işçilerinin kontrol grubuna oranla önemli ölçüde yüksek üriner mutajenik aktiviteye sahip oldukları tespit edilmiştir (152). Lander ve Ronne'nin çalışmasında ise pestisit uygulaması sırasında alınan koruyucu önlemlerin azalması ile KKD sıklığının arttığı gözlenmiştir. Bu durum genetik zararın önlenmesinde uygun çalışma yöntemlerinin önemini vurgulamaktadır (153). Çalışma grubumuzdaki bireylerin bir çoğunun pestisit uygularken hiçbir koruyucu önlem almadıkları belirlendi. Bu nedenle vaka grubunda istatistiki bir çalışma yapılamadı.

Çeşitli farmakolojik etkileri bilinen *Viscum album* L.'un çeşitli ekstraktları, vazodilatör, sedatif, diüretik etkilere sahiptir ayrıca şiddetli baş ağrısı, baş dönmesi, sinir bozukluğu, damar tıkanıklığı, romatizma ağrıları, çıban ve eklem iltihabı gibi bazı iltihabi hastalıklar yanında kanser terapilerine yardımcı olarak da kullanılmaktadır (8, 13, 14). Bu nedenle *Viscum album* L.'un bazı kanser vakalarının erken teşhisi ve evre tespitinde destekleyici faktör olarak düşünülen ve sıklıca kullanılan sitogenetik metotlardan biri olan KKD zerine etkisinin araştırıldığı çalışmalar yapılmıştır (154-156). Bussing ve arkadaşlarının bu konuda yaptıkları çalışmada, periferal kan mononuklear hücrelerindeki KKD sıklığının, artan konsantrasyonlarda eklenen *Viscum album* L. ekstraktı ile düştüğü gözlenmiştir. Ortalama yaşları 25 olan ve sigara içmeyen 10 sağlıklı bireyden (5 kadın, 5

erkek) alınarak hazırlanan periferel kan kültürüne, *Viscum album* L.'un iki farklı sulu çözeltisi olan Helixor Abitis (Helixor<sup>R</sup> A) ve Helixor Pini (Helixor<sup>R</sup> P), artan miktarlarda (1.43, 7.15, 14.3 µg/ml) verilmiş, ekstraktların verilmediği kültürler kontrol kabul edilmiştir. Helixor A ve P'nin eklenmesi ile doza bağlı KKD azalması gözlenmiş, kontrolle karşılaştırıldığında ise 7.15 ve 14.3 µg/ml konsantrasyonlarındaki KKD azalışı istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (154).

Bussing ve arkadaşlarının bu çalışma için kullandıkları dozlar (1.43, 7.15, 14.3 µg/ml) Almanya'da tedavi amaçlı kullanılan dozlardır. Bu çalışmadan hareketle, vaka grubundan alınan kanlarda KKD sıklığının incelenmesi yanında, üçüncü bir grup olarak aynı kişilerin kan kültürlerine 14 µg/ml Helixor<sup>R</sup> P ekleyerek etkisi incelendi. Helixor<sup>R</sup> P eklendikten sonra KKD değeri  $6,5 \pm 1,1$  olarak bulundu. Bu değer vaka grubunun KKD değeri ( $10,4 \pm 1,0$ ) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak oldukça anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ). Kontrol grubunun KKD değeri ( $6,1 \pm 1,3$ ) ile karşılaştırıldığında ise bir fark gözlenmedi ( $p > 0,05$ ). Bussing ve arkadaşlarının yaptığı çalışma ile benzer sonuçlar aldığımız çalışmamızda, KKD'nin Helixor<sup>R</sup> P eklenmesi ile oldukça düştüğü hatta ortalama KKD değeri olarak kontrol grubunun ortalama değerinden biraz yüksek olmasına rağmen bu farklılığın istatistiki olarak anlamlı olmadığı bulundu.

Bussing ve arkadaşlarının yaptığı başka bir çalışmada, *Viscum album* L.'un hızlı çoğalan amniyon sıvıda KKD sıklığı ve proliferasyon indeksini gözlemişlerdir. 10 kadından alınan amniyon sıvıda, *Viscum album* L.'un sulu çözeltisi (Iscodor<sup>R</sup> P) tedavi edici konsantrasyonda eklendiğinde KKD sıklığı aynı kalmış fakat yüksek dozlarda verildiğinde ise önemli bir düşme gözlenmiştir. Proliferasyon indeksinin sabit kaldığı, yüksek dozlarda bile poliferasyonun düşmediği gözlenmiştir (155).

*Viscum album* L.'un içeriğindeki maddelerden biri olan Lektin III'ün apoptozis üzerine etkisinin araştırıldığı bir çalışmada dört sağlıklı bireyden alınan lenfositlerde KKD sıklığı incelenmiştir. ML III'ün 0.1, 1 ve 10 ng/ml konsantrasyonlarının KKD sıklığı üzerinde önemli bir değişme gözlenmemiştir. Bu durum VAL ekstraktının DNA stabilize edici özelliğinin ML III ile ilgili olmadığı şeklinde açıklanmıştır. Yalnız bir kişide 1 ng/ml ML III konsantrasyonunda KKD'de önemli bir düşüş gözlenmiştir (156).

Çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular neticesinde, diğer çalışmalarla (121-133) benzer şekilde pestisitlerin KKD sıklığını arttırdığını belirledik. Diğer çalışmalarda (148-153) da vurgulandığı gibi bu işi kendilerine meslek edinen bireylerin pestisitlere maruz kalmalarından dolayı ortaya çıkabilecek olumsuzlukları minimum düzeye indirebilmeleri

için öncelikli olarak eldiven, gözlük, maske, koruyucu elbise gibi koruyucu önlemler alınması gerekmektedir. Fakat çalışma grubumuzda da gözlemlediğimiz üzere bu koruyucu önlemler dikkate alınmamaktadır. Bu nedenle kişilerin ileride oluşabilecek sorunları önlemek açısından bilgilendirilmesi ve hatta koruyucu önlemleri kullanımları zorunlu hale getirilmesi gerekmektedir. Bunun yanı sıra kullanılan pestisitlerin kullanım talimatlarına ve kullanım dozlarına riayet etmelerinin resmi makamlarca denetlenmesi ile aşırı dozdan kaynaklanabilecek dezavantajlar önlenebilir. Bu pestisitlerin denetimden yoksun alınımının, kullanımının ve kullanım dozlarının belirlenmesinin en kısa zamanda denetim altına alınması, hem pestisit uygulayan bireyler için hem de çevre ve tüketici bireyler açısından oldukça önemlidir. En kısa zamanda bir devlet politikası olarak kimyasal kökenli pestisitlerin kullanımının engellenmesi ve buna alternatif olarak biyolojik kökenli doğal pestisitlere geçişin yaygınlaştırılması gerekmektedir.

Çalışmamızda *Viscum album* L.'un ekstraktının KKD'de anlamlı bir düşüşe neden olduğu gözlemlendi. Avrupa'da kanser terapilerine yardımcı olarak kullanılmakta olan *Viscum album* L.'un KKD sıklığında artış gözlenen bireylerde de tedavi amaçlı kullanılabileceğini düşünmekteyiz. Bu amaçla, pestisit uygulayan bireylere ve KKD sıklığında artışa neden olabilecek meslek gruplarında çalışan bireylere koruyucu tedavi amacıyla uygun dozlarda ökse otu ekstraktının verilebileceği düşüncesindeyiz.

## ÖZET

Çalışmamızda son yıllarda kanser vakalarında belirgin bir artışın saptandığı, Senirkent ilçesine bağlı Büyük Kabaca kasabasında yaşayan ve sulu tarımla aktif olarak uğraşan bireyler üzerinde KKD sıklığı araştırıldı. Bu amaçla pestisit uygulayan gönüllü 30 kişiden alınan kan örneklerindeki KKD sıklığı ile yine aynı yörede yaşayan ve pestisit uygulamayan kontrollerin KKD sıklığı karşılaştırıldı ve *Viscum album* L.'un KKD sıklığı üzerine etkisi araştırıldı.

Yaş ortalaması  $36,3 \pm 9,5$  olan vaka grubunun iki tanesi hariç tamamının ortalama  $18,6 \pm 8,9$  yıldır sigara içtiği, 21 kişinin aynı zamanda ortalama  $12,2 \pm 5,8$  yıldır alkol kullandığı yapılan anket sonucunda tespit edildi. Vaka grubunun hücre başına düşen ortalama KKD değerleri  $10,4 \pm 1,0$  olarak bulundu. Genel olarak, alkol alış sıklığı dışında diğer özellikleri bakımından istatistiki olarak bir farkın olmadığı kontrol grubunda ise hücre başına düşen ortalama KKD değeri  $6,1 \pm 1,3$  olarak tespit edildi. Her iki grup arasındaki fark independent-t testine göre oldukça anlamlı bulundu. Bu durum uygulanan pestisitlerin bireyler üzerinde sitogenetik açıdan zararının olduğunu göstermektedir. Bu zararın oluşmasında çalışma grubumuzdaki bireylerin çoğunun pestisit uygularken hiçbir koruyucu önlem almamasının da etkili olduğu düşünülmektedir. Çalışmamızda, yaş, sigara içilmesi, alkol kullanılması, alkol süresi ve ilaçlanan alan ile KKD sıklığı arasında bir korelasyon saptanmazken sigara içim süresi, sigara miktarı ve alkol sıklığı ile korelasyon olduğu gözlenmiştir.

*Viscum album* L.'un çeşitli farmakolojik etkilerinden dolayı değişik hastalıkların tedavisinde hatta kanser tedavisine yardımcı olarak kullanıldığı bilinmektedir. Bazı kanser vakalarının erken teşhisinde kullanılan KKD üzerine *Viscum album* L.'un etkisinin araştırıldığı çalışmalardan yola çıkarak KKD sıklığının oldukça yüksek bulunduğu vaka grubuna, üçüncü bir grup olarak *Viscum album* L ekstraktı eklendi. *Viscum album* L ekstraktı eklendikten sonra KKD değeri  $6,5 \pm 1,1$  olarak bulundu. Bu değer vaka grubunun KKD değeri ( $10,4 \pm 1,0$ ) ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak oldukça anlamlı olduğu görüldü ( $p < 0,001$ ). Kontrol grubunun KKD değeri ( $6,1 \pm 1,3$ ) ile karşılaştırıldığında ise bir fark gözlenmedi ( $p > 0,05$ ).

Bulgularımız pestisit uygulaması yapan bireylerin KKD sıklığının kontrollere oranla önemli ölçüde yüksek olduğunu gösterirken, bu durum ise pestisitlerin zararlarının sitogenetik düzeyde olabileceğini düşündürmektedir. Çalışmamızda uygulanan dozdaki *Viscum album* L ekstraktının da bu zarar üzerinde iyileştirici etkisinin olduğu gözlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Kardeş kromatid değişimi, pestisit, ökse otu.



## SUMMARY

In the research, The effects of *Viscum album* L. on sister chromatid exchanges, the frequency of KKD was investigated between people who are familiar with agriculture, live in Buyukkabaca, a town of Senirkent, where the number of cancer patients has increase denormously. With this aim, the frequency of KKD in blood samples of 30 volunteer people who use pesticide, was compared with the blood samples of control groups' people who don't use pestisit, and then the effects of *Viscum album* L. on the frequency of KKD was researched.

After filling out a questionare, it was fixed that, except two patients all patients whose age avarage was  $36,3 \pm 9,5$ , have been smoking approximately  $18,6 \pm 8,9$  years and twentyone of these patients also have been drinking alcohol approximately  $12,2 \pm 5,8$  years. The avarage number of KKD in patient group cells was found to be  $10,4 \pm 1,0$ . In general, in the control group, there weren't any statistical difference except the frequency of drinking alcohol. However, the avarage KKD number was found to be  $6,1 \pm 1,3$ . A significant difference between two group was determined by using independend-t test. This situation shows that pestisits cause sitogenetic defects on people. It might be a factor that many people in the study group did'nt take measures to prevent the defects of pestisits when they use them. Although, there wasn't found any correlation between age, smoking cigarettes, drinking alcohol, the time of alcohol addiction, the area of using pestisit and the frequency of KKD, It was shown that there was a correlation between the time of smoking addiction, the number of cigarettes and the amount of alcohol.

Because of some pharmacological effects of *Viscum album* L., it is known that the plant is used as an auxiliary in treatments of some illness even cancer. Starting out by survey in which there were some investigations about the effects of *Viscum album* L. on KKD that is used to diagnose some type of cancer in early stages. *Viscum album* L. extract was added as a third group in patients group whose KKD frequency was really high. After adding the extract of *Viscum album* L., KKD number was found to be  $6,5 \pm 1,1$  as this number compared with the KKD number ( $10,4 \pm 1,0$ ) of patient group, there was a statistical significance ( $p < 0,001$ ). However, when it compared with the KKD number of control group, there wasn't found any difference ( $p > 0,05$ ). Although, the findings are stated that the KKD frequency of people who use pestisits; are very higher than the control groups peoples' KKD, the condition should be the reason of the sitogenetic defects that pestisits cause. In the research, it is indicated that the amount of *Viscum album* L. extract that was practised during the search, benefit the defects of pestisits.

**Key Words:** Sister chromatid exchanges, Pesticide, *Viscum album*.

## KAYNAKLAR

1. Ergun F, Deliorman D, Şener B. *Viscum album* L. (Ökse otu) (Loranthaceae) bitkisinin morfolojik özellikleri ve Türkiye'deki yayılışı hakkında bazı araştırmalar. OT Sistematik Botanik Dergisi 1994; 1(2):47-61.
2. Miller AG. *Viscum album* L. in 'Flora of Turkey and the East Aegean Islands'. 7, Davis: P.H. Ed., 1982.
3. Heywood VH. Flowering Plants of the World. Oxford: Oxford Univ. Pres, 1979
4. Nagl W, Stein B, DNA characterization in host specific *Viscum album* subspecies (*Viscaceae*). Plant Syst. Evol. 1989; 166(3-4):243-8.
5. Zeybek N. Farmasötik botanik, kapalı tohumlu bitkiler (Angiospermae) sistematigi ve önemli maddeleri. 1, Ege Üniv. Ecz. Fak.İzmir: Ege Üniv. Basımevi, 1958.
6. Baytop T. Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi. 40, İstanbul: Sanal Matbacılık, 1984:203-4.
7. Yeşilada E, Deliorman D, Ergun F, Takaishi Y, Ono Y. Effects of the Turkish subspecies of *Viscum album* on macrophage-derived cytokines. J. Ethnopharmacol. 1998; 61:195-200.
8. Bussing A, Azhari T, Ostendorp H, Lehnert A, Schweizer K. *Viscum album* L extracts reduce sister chromatid exchanges in cultured peripheral blood mononuclear cells. Eur. J. Cancer 1994; 30A(12):1836-1841.
9. Koşar Aslan P. Mesane kanserli olguların lenfosit hücrelerinde kardeş kromatid değişim sıklığı. SDÜ Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 1999.
10. Öztürk A. Meme kanserli olguların lenfosit hücrelerinde kardeş kromatid değişimi sıklığı. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 1995.
11. Acar A. Ferrokrom fabrikasında çalışan işçilerde sitogenetik çalışmalar. Akdeniz Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 1985.
12. Soysal Y. Mitomicin C ile indüklenmiş lenfosit hücre kültürlerinde melatonin ve karotenin in vitro sistemde kardeş kromatid değişimi oranları ve mitotik indeks değerleri üzerine olan etkilerinin karşılaştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Ens.Yüksek Lisans Tezi, 1999.
13. Paralı F. Ethidium bromidin (EtBr) in vitro insan lenfositlerine ekisinin SCE yöntemi ile gösterilmesi. Dokuz Eylül Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 1994.

14. Meschini R, Bastinelli R, Palitti F. The diplochromosome of endoreduplicated cells: a new approach to highlight the mechanism of sister chromatid exchange. *Chromosoma* 1996; 105:50-54.
15. Ergun F, Deliorman D. *Viscum album* L. (Ökse otu) bitkisinin kimyasal bileşimi. *Ankara Ecz. Fak. Dergisi* 1995; 24(2):95-107.
16. Ergun F, Deliorman D, Şener B. *Viscum album* L (Ökse otu) (Loranthaceae) bitkisinin morfolojik özellikleri ve Türkiye'deki yayılışı hakkında bazı araştırmalar. *OT Sistematik Botanik Dergisi* 1994; 1(2):47-61.
17. Cooper MR, Johnson AW. *Poisonous plants in Britain and their effects on animals and man*. E. & S. Livingstone Ltd. Londra, 1984.
18. Paris R.R, Moyse M.H. *Precis de Matière medicale*, Tome II, Second ed., 108, Paris; Masson Publishing, 1981.
19. Mandacı S. Balıkesir ili tarım ve orman alanlarında ökse otları, zararları, koruma ve savaşma yöntemleri. Uludağ Üniversitesi Yüksek lisans tezi, 1998.
20. Becker H. Botany of European mistletoe (*Viscum album* L). *Oncology* 1986; 43 (1):2-7.
21. Davis, P.H. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Vol:7, Edinburg; University Press, 1982.
22. Vervecken W, Kleff S, Pfüller U, Bussing A. Induction of apoptosis by mistletoe lectin I and its subunits. No evidence for cytotoxic effects caused by isolated A- and B-chains. *The Int. J. Biochem. & Cell Bio.* 2000; 32:317-326.
23. Li S. Mistletoe lectins: telomerase inhibitors in alternative cancer therapy. *Drug Discovery Today* 2002; 7(17):896-897.
24. Anon. *Lectins*. Sigma, St. Louis, 1993; 1708-10.
25. Frantz M, Jung ML, Ribereau-Gayon G, Anton R. Modulation of mistletoe (*Viscum album* L.) lectins cytotoxicity by carbohydrates and serum glycoproteins. *Arzneimittelforschung* 2000; 50 (5):471-8.
26. Gabius HJ, Gabius S, Joshi SS, et al. From ill-defined extracts to the immunomodulatory lectin: will there be a reason for oncological application of mistletoe? *Planta Med* 1994; 60 (1):2-7.
27. Büssing A, Stein G.M, Wagner M, Wagner B, Schaller G, Pfüller U, Schietzel M. Accidental cell death and generation of reactive oxygen intermediates in human lymphocytes induced by thionins from *Viscum album* L. *Eur. J. Biochem.* 1999; 262:79-87.

28. Deliorman D, Calis I, Ergun F, Dogan B.S, Buharalioglu C.K, Kanzik I. Studies on the vascular effects of the fractions and phenolic compounds isolated from *Viscum album* ssp. *album*. J. Ethnopharm. 2000; 72:323-329.
29. Bussing A, Schaller G, Pfüller U. Generation of reactive oxygen intermediates (ROI) by the Thionins from *Viscum album* L. Anticancer Research 1998; 18:4291-6.
30. Van Wely M, Stoss M, Gorter RW. Toxicity of a standardized mistletoe extract in immunocompromised and healthy individuals. Am J Ther. 1999; 6(1):37-43.
31. Stoss M, Gorter RW. No evidence of IFN-gamma increase in the serum of HIV-positive and healthy subjects after subcutaneous injection of a non-fermented *Viscum album* L. extract. Nat Immun. 1998;16(4):157-64.
32. Khwaja TA, Dias CB, Pentecost S. Recent studies on the anticancer activities of mistletoe (*Viscum album*) and its alkaloids. Oncology. 1986; 43 (1):42-50.
33. Maier G, Fiebig HH. Absence of tumor growth stimulation in a panel of 16 human tumor cell lines by mistletoe extracts in vitro. Anticancer Drugs. 2002; 13(4):373-9.
34. Kovacs E, Hajto T, Hostanska K. Improvement of DNA repair in lymphocytes of breast cancer patients treated with *Viscum album* extract (Iscador). Eur J Cancer 1991; 27(12):1672-6.
35. Van Huyen JP, Bayry J, Delignat S, Gaston AT, Michel O, Bruneval P, Kazatchkine MD, Nicoletti A, Kaveri SV. Induction of apoptosis of endothelial cells by *Viscum album*: a role for anti-tumoral properties of mistletoe lectins. Mol Med. 2002 ; 8(10):600-6.
36. Maier G, Fiebig HH. Absence of tumor growth stimulation in a panel of 16 human tumor cell lines by mistletoe extracts in vitro. Anticancer Drugs 2002; 13(4):373-9.
37. Antony S, Kuttan R, Kuttan G. Role of natural killer cells in iscador mediated inhibition of metastasis by adoptive immunotherapy. Immunol Invest. 2000; 29(3):219-31.
38. Jach R, Basta A, Szczudrawa A. Role of immunomodulatory treatment with Iscador QuS and Intron A of women with CIN1 with concurrent HPV infection. Ginekol Pol. 2003; 4(9):729-35.
39. Kuttan G, Kuttan R. Reduction of leukopenia in mice by "viscum album" administration during radiation and chemotherapy. Tumori. 1993; 79(1):74-6.
40. Van Huyen JP, Bayry J, Delignat S, Gaston AT, Michel O, Bruneval P, Kazatchkine MD, Nicoletti A, Kaveri SV. Induction of apoptosis of endothelial cells by *Viscum album*: a role for anti-tumoral properties of mistletoe lectins. Mol Med. 2002; 8(10):600-6.

41. Kovacs E, Kuehn J.J. Measurements of IL-6, soluble IL-6 receptor and soluble gp130 in sera of B-cell lymphoma patients. Does *Viscum album* treatment affect these parameters?. Biomed Pharmacother. 2002; 56(3):152-8.
42. Stoss M, van Wely M, Musielsky H, Gorter RW. Study on local inflammatory reactions and other parameters during subcutaneous mistletoe application in HIV-positive patients and HIV-negative subjects over a period of 18 weeks. Arzneimittelforschung 1999; 49(4):366-73.
43. Harmsma M, Gromme M, Ummelen M, Dignef W, Tusenius KJ, Ramaekers FC. Differential effects of *Viscum album* extract IscadorQu on cell cycle progression and apoptosis in cancer cells. Int J Oncol. 2004; 25(6):1521-9.
44. Kast A, Hauser SP. Helixor--mistletoe preparation for cancer therapy. Documentation No. 19. Schweiz Rundsch Med Prax. 1990; 79(10):291-5.
45. Mueller EA, Anderer FA. A *Viscum album* oligosaccharide activating human natural cytotoxicity is an interferon gamma inducer. Cancer Immunol Immunother 1990; 32(4):221-7.
46. Doser c, Doser M, Hülsen H, Mechelke F. Influence of carbohydrates on cytotoxicity of an aqueous mistletoe drug and of purified mistletoe lectins tested on human T-leukemia cells. arzneim.-Forsch./Drug Res. 1989; 39(I):647-51.
47. Bussing A, Stein GM, Stumpf C, Schietzel M. Release of interleukin-6 in cultured B-chronic lymphocytic leukaemia cells is associated with both activation and cell death via apoptosis. Anticancer Res. 1999; 19(5B):3953-9.
48. Stein GM, Berg PA. Characterisation of immunological reactivity of patients with adverse effects during therapy with an aqueous mistletoe extract. Eur J Med Res. 1999; 4(5):169-77.
49. Kunze E, Schulz H, Ahrens H, Gabius HJ. Lack of an antitumoral effect of immunomodulatory galactoside-specific mistletoe lectin on N-methyl-N-nitrosourea-induced urinary bladder carcinogenesis in rats. Exp Toxicol Pathol. 1997; 49(3-4):167-80.
50. Zarkovic N, Vukovic T, Loncaric I, Miletic M, Zarkovic K, Borovic S, Cipak A, Sabolovic S, Konitzer M, Mang S. An overview on anticancer activities of the *Viscum album* extract Isorel. Cancer Biother Radiopharm. 2001; 16(1):55-62.
51. Jurin M, Zarkovic N, Borovic S, Kissel D. *Viscum album* L. preparation Isorel modifies the immune response in normal and in tumour-bearing mice. Anticancer Drugs 1997; 8(1):27-31.

52. Friess H, Beger HG, Kunz J, Funk N, Schilling M, Buchler MW. Treatment of advanced pancreatic cancer with mistletoe: results of a pilot trial. *Anticancer Res.* 1996; 16(2):915-20.
53. Karkabounas S, Assimakopoulos D, Malamas M, Skaltsounis AL, Leonce S, Zelovitis J, Stefanou D, Evangelou A. Antiproliferative and anticarcinogenic effects of an aqueous preparation of *Abies alba* and *Viscum album se abies*, on a L-1210 malignant cell line and tumor-bearing Wistar rats. *Anticancer Res.* 2000; 20(6B):4391-5.
54. Jung M.L, Baudino s, Gayon R.G, Beck J.P. Characterization of cytotoxic proteins from mistletoe (*Viscum album L.*). *Cancer Letters* 1990; 51:103-108.
55. Park WB, Lyu SY, Kim JH, Choi SH, Chung HK, Ahn SH, Hong SY, Yoon TJ, Choi MJ. Inhibition of tumor growth and metastasis by Korean mistletoe lectin is associated with apoptosis and antiangiogenesis. *Cancer Biother Radiopharm.* 2001; 16(5):439-47.
56. Deliorman D, Ergun F, Şener B, Palittapongarnpim P. Evaluation of antimycobacterial activity of *Viscum album* subspecies. *Pharmaceutical Biology* 2001; 39 (5):381-383.
57. Karagöz A, Önay E, Arda N, Kuru A. Antiviral potency of mistletoe (*Viscum album* ssp. *album*) extracts against human Parainfluenza virus type 2 in vero cells. *Phytother. Res.* 2003; 17(5):560-2.
58. Harmsma M, Gromme M, Ummelen M, Dignef W, Tusenius KJ, Ramaekers FC. Differential effects of *Viscum album* extract IscadorQu on cell cycle progression and apoptosis in cancer cells. *Int J Oncol.* 2004; 25(6):1521-9.
59. Bussing, A., & Schietzel, M. Apoptosis-inducing properties of *Viscum album L.* extracts from different host trees correlate with their content of toxic mistletoe lectins. *Anticancer Research* 1999; 19:23-28.
60. Kovacs E, Hajto T, Hostanska K. Improvement of DNA repair in lymphocytes of breast cancer patients treated with *Viscum album* extract (Iscador). *Eur. J. Cancer* 1991; 27(12):1672-76.
61. Jurin M, Zarkovic N, Hrzenjak M, Ilıc Z. Antitumorous and immunomodulatory effects of the *Viscum album L.* preparation Isorel. *Oncology* 1993; 50:393-8.
62. Başaran AA, Ceritoğlu I, Ündeğer U, Başaran N. Immunomodulatory activities of some Turkish medicinal plants. *Phytotherapy Research* 1997; 11:609-11.
63. Stein G.M, Schaller G.U, Pfüller U, Schietzel M, Büssing A. Thionins from *Viscum album L.*: influence of the viscotoxins on the activation of granulocytes. *Anticancer Research* 1999; 19:1037-42.

64. Stein G.M, Edlund U, Pfüller U, Büssing A, Schietzel M. Influence of polysaccharides from *Viscum album* L. on human lymphocytes, monocytes and granulocytes in vitro. *Anticancer Research* 1999; 19:3907-14.
65. Stoss M, van Wely M, Musielsky H, Gorter RW. Study on local inflammatory reactions and other parameters during subcutaneous mistletoe application in HIV-positive patients and HIV-negative subjects over a period of 18 weeks. *Arzneimittelforschung* 1999; 49(4):366.
66. Gray AM, Flatt PR. Insulin-secreting activity of the traditional antidiabetic plant *Viscum album* (mistletoe). *J Endocrinol.* 1999; 160(3):409-14.
67. Mueller, E.A., Anderer, F.A. Synergistic Action of a Plant Rhamnogalacturonan Enhancing Antitumor Cytotoxicity of Human Natural Killer and Lymphokine-activated Killer Cells: Chemically Specificity of Target Cell Recognition, *Cancer Research* 1990; 50:3646-3651
68. Hülsen, H., Kron, R. Mechelke, F. Influence of *Viscum album* Preparations on the Natural Killer Cell-Mediated Cytotoxicity of Peripheral Blood. *Die Naturwissenschaften* 1989; 76:530-531.
69. Frantz M, Jung M-L, Ribereau-Gayon G, Anton R. Modulation of mistletoe (*Viscum album* L.) lectins cytotoxicity by carbohydrates and serum glycoproteins. *Arzneim.-Forsch. / Drug Res.* 2000; 50(1):471-8.
70. Stich H.F, Dunn B.P. Relationship between cellular levels of beta-carotene and sensitivity to genotoxic agents. *Int. J. Cancer* 1986; 38:713-17.
71. Carrano AV, Natarajan AT. Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat. Res.* 1988; 204(3):379-406.
72. Cleaver J.E, Mitchell D.L, Feeney L, Afzal V. Chromatid exchanges may be induced by damage in sites of transcriptional activity. *Mutagenesis* 1996; 11(2):183-187.
73. Stoilov L, Wojcik A, K. Giri A, ObeG. SCE formation after exposure of CHO cells prelabeled with BrdU or biotin-Dutp to various DNA-damaging agents. *Mutagenesis* 2002; 17(5):399-403.
74. Park J.H, Hyun C, Shin H. Cytotoxic effects of the components in heat-treated mistletoe (*Viscum album*). *Cancer Letters* 1999; 139:207-213.
75. Sonoda E, Sasaki M.S, Morrison C, Yamaguchi-Iwai Y, Takata M, and Takeda S. Sister chromatid exchanges are mediated by homologous recombination in vertebrate cells. *Mol. Cell. Biol.* 1999; 19:5166-5169.

76. Ceylaner Başkaya G. Şizofrenili olgularda kardeş kromatid değişimlerinin (Sister Chromatid Exchange-SCE) araştırılması. Cumhuriyet Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 1997.
77. Morales-Remirez P, Rodriguez-Reyes R ve Vallarina-Kelly T. Fate of DNA lesions that elicit sister-chromatid exchanges. *Mutat. Res.* 1990; 232:77-78.
78. Tucker J.D, Auletta A, Cimino M.C, Dearfield K.L. Jacobson- Kram D, Tice R.R, Carrona A.V. Sister-chromatid Exchange: second report of the Gene-Tox program. *Mutation Research* 1993; 101-180.
79. Bal F, Şahin F.İ, Yirmibeş M, Balcı A, Menevşe S. The in vitro effect of beta-carotene and mitomycin C on SCE frequency in Down's Syndrome lymphocyte cultures. *Tohoku. J. Exp. Med.* 1998; 184 (4):295-300.
80. Sardaş S, Karakaya A.E. Clastogenicity Test; Sister Chromatid Exchange. *J. Fac. Pharm. Gazi*, 1990; 7 (2): 91-104.
81. Nussbaum R.L, Mcinnes R.R, Willard H.F. Thompson & Thompson Tıbbi Genetik. 6. Baskı, Ankara; Öncü Basımevi, 2005: 154.
82. Rodriguez-Reyes R, Morales-Remirez P. Sister chromatid Exchange induction and the course of DNA duplication, two mechanisms of sister chromatid Exchange induction by ENU and the rol of BrdU. *Mutagenesis* 2003; 18(1):65-72.
83. Taylor J.H. Sister chromatid exchanges in tritium labeled chromosomes. *Genetics* 1958; 43:515-529.
84. Zakharov ve Egolina N.A. Differential spirilization along mammalian mitotic chromosomes. *Chromosoma (Berl)* 1972; 38:341-365.
85. Başaran Gönlüşen F. Alkolik bireylerdeki alkolve sigara tüketimine bağlı oluşan SCE oranlarının sigara içen ve sigara içmeyen bireylerdeki SCE oranları ile karşılaştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi, 1998
86. Evans B.J. What are sister chromatid exchanges? *Chromosome Today* 1977; 6:315-326.
87. Lovadey K.S., Latt S.A. A high buoyant density fraction in mammalian DNA. *Experimental Cell Res.* 1982; 141:127-137.
88. Helleday T. Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells. *Review. Mutation Research* 2003; 532:103–115.
89. Erdem N. Kontraplak ve yonga-levha fabrikalarında çalışan işçilerde formaldehit ve odun tozuna maruziyetin solunum fonksiyonları üzerine etkisi ve genotoksik hasarın araştırılması. Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Ens. Doktora Tezi, 1997.



90. Barale R, Chelotti L, Davini T, Del Ry S, Andreassi MG, Ballardini M, Bulleri M, He J, Baldacci S, Di Pede F, Gemignani F, Landi S. Sister chromatid exchange and micronucleus frequency in human lymphocytes of 1,650 subjects in an Italian population: II. Contribution of sex, age, and lifestyle. *Environ Mol Mutagen* 1998; 31(3):228-42.
91. Tanrıverdi N. Kardeş kromatid değişimi. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Ens. Bilim Uzmanlığı Tezi, 1991.
92. Atmaca M, Bağcı H, Açıkbay İ, Gümüş D, Düzcan F. Sister Chromatid Exchange Frequency in Lymphocytes Cultured from Cotton Gin Workers. *Turk J Med Sci*. 2004; 34:247-250.
93. Pedersen C, Olah E, Merrild U. Sister chromatid exchanges in cultured peripheral lymphocytes from twins. *Human Genetics* 1979; 52:281-294.
94. McEwen, F.L., Stephenson, G.L., The use and significance of pesticides in the environment. New York: John Wiley & Sons Pub. 1979; 538.
95. Tankut İ. Pestisitlerin mikrobiyal parçalanması. Süleyman Demirel Üniversitesi, Mühendislik Mimarlık Fakültesi, Çevre Mühendisliği Bölümü bitirme ödevi 1997.
96. Bolognesi C, Parrini M, Bonassi S, Ianello G, Salanitto A. Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutation Research* 1993; 285:239-249
97. Lüleci G, Başaran S, Bağcı G, Keser İ. Sitogenetik uygulama yöntemleri. *Meteksan* , 1990: 22-31.
98. Paldy A, Puskas N, Vincze K, Hadhazi M. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutation Res*. 1987; 187:127-132.
99. WHO (1985) Guidelines for the study of genetic effects in human populations. *Environmental Health Criteria*, 46, World Health Organization, Geneva.
100. De Ferrari M, Artuso M, Bonassi S, Bonatti S. Cytogenetic biomonitoring of an Italian population exposed to pesticides: chromosome aberration and SCE analysis in peripheral blood lymphocytes. *Mutation Res*. 1991; 260:105-113.
101. Shiraishi Y, Sandberg A.A. Effects of mitomycin-C on SCE in normal and Bloom Syndrome cells. *Mut. Res*. 1978; 49:233-238.
102. Yamanaka L, Wolff S. The utility of SCE. *Mutation research* 1979; 64:53-56.
103. Becher R, Prescher G. Induction of sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations by busulfan Philadelphia chromosome positive chronic myeloid and normal bone marrow. *Cancer Genetics of Cytogenetic* 1988; 48:3435-3439.

104. Wiencke J.K, Vosika J, Johnson P, Wang N, Garry V.F. differential induction of SCE by chemical carcinogenes in lymphocytes cultured from patients with solid tumors. *Pharmacology* 1982; 24:67-73.
105. Mitra AB, Murty VVVS, Luthra H.K. Sister chromatid exchanges in leucocytes of patients with cancer of cervix uteri. *Hum. Genet.* 1982; 60:214.
106. Lei, Y C ; Hwang, S J ; Chang, C C ; Kuo, H W ; Luo, J C ; Chang, M J ; Cheng, T J ; Effects on sister chromatid exchange frequency of polymorphisms in DNA repair gene XRCC1 in smokers. *Mutat-Res.* 2002; 519(1-2):93-101.
107. Liou SH, Jacobson-Kram D, Poirier MC, Nguyen D, Strickland PT and Tockman MS Biological monitoring of fire fighters: sister chromatid exchange and polycyclic aromatic hydrocarbon-DNA adducts in peripheral blood cells. *Cancer Research* 1989; 49 (17):4929-4935.
108. Nagaya T. No increase in sister-chromatid exchange frequency in lymphocytes of chromiumplaters. *Mutat Res.* 1986;170(3):129-32.
109. Cheng TJ, Hwang SJ, Kuo HW, Luo JC, Chang MJ. Exposure to epichlorohydrin and dimethylformamide, glutathione S-transferases and sister chromatid exchange frequencies in peripheral lymphocytes. *Arch Toxicol.* 1999; 73(4-5):282-7.
110. Popp W, Wolf R, Vahrenholz C, Radtke J, Schell C, Kraus R, Brauksiepe A, Norporth K. Sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of oral cancer patients seem to be influenced by drinking habits. *Carcinogenesis* 1994;15(8):1603-7.
111. Kelsey KT, Wiencke JK, Little FF, Baker EL Jr, Little JB. Effects of cigarette smoking and solvent exposure on sister chromatid exchange frequency in painters. *Environ Mol Mutagen.* 1988; 11(3):389-99.
112. Shim-JS; Kang-MH; Kim-YH; Roh-JK; Roberts-C; Lee-IP. Chemopreventive effect of green tea (*Camellia sinensis*) among cigarette smokers. *Cancer-Epidemiol-Biomarkers-Prev.* 1995; 4(4):387-91.
113. Skyberg K, Hansteen IL, Jelmert O, Ronneberg A. A cytogenetic and haematological investigation of oil exposed workers in a Norwegian cable manufacturing company. *Br J Ind Med.* 1989; 46(11):791-8.
114. Murthy MK, Bhargava MK, Augustus M. Sister chromatid exchange studies in oral cancer patients. *Indian J Cancer.* 1997;34(2):49-58.
115. Popp W, Wolf R, Vahrenholz C, Radtke J, Schell C, Kraus R, Brauksiepe A and NorporthK, Sister chromatid exchange frequencies in lymphocytes of oral cancer patients seem to be influenced by drinking habits *Carcinogenesis* 1994; 15:1603-1607.

116. Strom SS, Hess KR, Sigurdson AJ, Spitz MR and Liang JC. Evaluation of sister chromatid exchange and chromosome breaks in a cohort of untreated Hodgkin's disease patients *Cancer Epidemiology Biomarkers & Prevention*, 1997; 6 (4):291-293.
117. Butler MG, Sanger WG, Veonett GE. Increased frequency of sister-chromatid exchanges in alcoholics. *Mutat Res.* 1981; 85(2):71-6.
118. Husum B, Wulf H.C, Niebuhr E. Sister chromatid Exchange frequency correlates with age, sex and sigarett smoking in a 5 year materail of 533 healty adults. *Hereditas* 1986; 105:17-21.
119. Waksvik H, Magrus P, Berg K. Effects of age, sex, and genes of sister chromatid Exchange. *Clinical Genetics.* 1981; 20: 449-454.
120. Yoder J., Watson M., Benson M.W.W. Lymphocyte chromosome analysis of agricultural workers during extensive occupational exposure to pesticides, *Mutat. Res.* 1973; 21:335–340.
121. Carbonell E., Valbuena A., Xamena N., Creus A., Marcos R. Temporary variations in chromosomal aberrations in a group of agricultural workers exposed to pesticides, *Mutat. Res.* 1995; 344:127–134.
122. Rupa D.S., Reddy P.P., Sreemannarayana K., Reddi O.S., Frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of male pesticide applicators, *Environ. Mol.Mutagen.* 1991; 18:136–138.
123. Gomez-Arroya S., Diaz-Sauche Y, Meneses-Perez M.A., Villabos-Pietrini R., De Leon-Rodriguez J. Cytogenetic biomonitoring in Mexican floriculture workers group exposed to pesticides, *Mutat. Res.* 2000; 3:117–124.
124. Dulout F.N., Pastori M.C., Olivero O.A., Gonzalez C., Loria D., Matos E., et al. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides, *Mutat. Res.* 1985; 143:237–244.
125. Rupa D.S., Rita P., Reddy P.P., Reddi O.S. Screening of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in peripheral lymphocytes of vegetable garden workers, *Hum. Toxicol.*1988; 7:333–336.
126. Rupa D.S., Reddy P.P, Reddi O.S. Frequencies of chromosomal aberrations in smokers exposed to pesticides in cotton fields, *Mutat. Res.* 1989; 222:37–41.
127. Rupa D.S., Reddy P.P., Reddi O.S. Analysis of sisterchromatid exchanges, cell kinetics and mitotic index in lymphocytes of smoking pesticide sprayers, *Mutat. Res.* 1989; 223:253–258.
128. Rupa D.S., Reddy P.P., Reddi O.S Clastogenic effect of pesticides in peripheral lymphocytes of cotton-field workers, *Mutat. Res.* 1991; 26:177–180.

129. Rita P., Reddy P.P, Venkatram Reddy S. Monitoring of workers occupationally exposed to pesticides in grape gardens of Andhra Pradesh, *Environ. Res.* 1987; 44:1–5.
130. Jablonicka A., Polakova H., Karelova J., Vargova M. Analysis of chromosome aberrations and sister-chromatid exchanges in peripheral blood lymphocytes of workers with occupational exposure to the mancozeb-containing fungicide Novozir Mn80, *Mutat. Res.* 1989; 224:143–145.
131. Padmavathi P., Aruna Prabhavathi P., Reddy P.P. Frequencies of SCEs in peripheral blood lymphocytes of pesticides workers, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.* 2000; 64: 155–160.
132. Padly M.J., Puskas N., Vincze K., Hadhazi M. Cytogenetic studies on rural populations exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 1987; 187:127–132.
133. Shaham J., Kaufman Z., Gurvich R., Levi Z. Frequency of sister-chromatid exchange among greenhouse farmers exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 2001; 49:71–80.
134. Garaj-Vrhovac V., Zeljezic D. Cytogenetic monitoring of Croatian population occupationally exposed to a complex mixture of pesticides. *Toxicology* 2001; 165:153–162.
135. Hoyos L.S., Carvajal S., Solano L., Rodriguez J., Orozco L., Lopez Y., Au W.W. Cytogenic monitoring of farmers exposed to pesticides in Colombia. *Environ. Health Perspect.* 1996; 104(3):535–538.
136. Carbonell E., Puig M., Xamena N., Creus A., Marcos R. Sister chromatid exchange in lymphocytes of agricultural workers exposed to pesticides. *Mutagenesis* 1990; 5:403–405.
137. Pasquini R., Scassellati-Sforzolini G., Angeli G., Fatigoni C., Monarca S., Beneventi L., DiGiulio A.M., Bauleo F.A. Cytogenetic biomonitoring of pesticide-exposed farmers in central Italy. *J. Environ. Pathol. Toxicol. Oncol.* 1996; 15:29–39.
138. Scarpato R., Migliore L., Angotzi G., Fedi A., Miligi L., Loprieno N. Cytogenic monitoring of a group of Italian floriculturists: no evidence of DNA damage related to pesticide exposure. *Mutat. Res.* 1996; 367:73–82.
139. Joksic G., Vidakovic A., Spasojevic-Tisma V. Cytogenetic monitoring of pesticide sprayers, *Environ. Res.* 1997; 75:113–118.
140. Bolognesi C., Parrini M., Bonassi S., Ianello G., Salanitto A. Cytogenetic analysis of a human population occupationally exposed to pesticides. *Mutat. Res.* 1993; 285:239–249.

141. Czeizel and Kiraly J. Chromosome examinations in workers producing Klorinol and Buvinol, in: L. Banki (Ed.), *Researches related to herbicide Buvinol produced by the Budapest Chemical Works*. Medicina 1976; 239-256.
142. Kiraly J, Szenti I, Ruzicska M, Cheisel E. Kromoszoma vizsgalatok szerves foszforsav inszekticideket gyorta munkasokban. Munkavedelem 1976; 22(7-9):27-33.
143. Pilinskaya M.A. to hhe qestion of the cytogenetic effect of pesticide Pirimor in human peripheral lymphocyte culture in vivo and in vitro. Citologia i Genetika 1982a; 2: 38-42.
144. Pilinskaya M.A. Chromosome aberrations in the persons contacted with Ziram. Genetika 1970; 6:157-163.
145. Pilinskaya M.A. Results of cytogenetic examinations of people having professional contact with the fungicide Zineb. Genetika 1974; 10:140-146.
146. Kurinnij A.J. and Pilinskaya M.A. Investigation of pesticides as environmental mutagens. Nauka Gymka, Kiev 114.
147. Dolara P, Salvadori M, Capobianco T, Torricelli F. Sister chromatid exchanges in human lymphocytes induced by dimethoate, omethoate, deltamethrin, benomyl and their mixture. Mutation Res 1992; 283:113-118.
148. Padmavathi P, Prabhavathi PA, Reddy PP. Frequencies of SCEs in peripheral blood lymphocytes of pesticide workers, Bull Environ Contam Toxicol 2000; 64:155-160.
149. Crossen P.E., Morgan W.F., Horan J.J., Stewart J. Cytogenetic studies of pesticide and herbicide sprayers. N.Z. Med. J. 1978; 88:192–195.
150. Rupa D.S., Reddy P.P., Sreemannarayana K., Reddi O.S. Frequency of sister chromatid exchange in peripheral lymphocytes of male pesticide applicators, Environ. Mol. Mutagen. 1991; 18:136–138.
151. Dulout F.N., Pastori M.C., Olivero O.A., Gonzalez C., Loria D., Matos E., et al. Sister chromatid exchanges and chromosomal aberrations in a population exposed to pesticides, Mutat. Res. 1985; 143:237–244.
152. Shane B.S., Scarlett-Kanz J.M., Reid W.S., Lisk D.J. Mutagenicity of urine from greenhouse workers. J. Toxicol. Environ. Health 1988; 244:29–437.
153. Lander F., Ronne M. Frequency of sister chromatid Exchange and hematological effects in pesticide-exposed greenhouse sprayers,. Scand. J. Work Health 1995; 21:283–288
154. Bussing A, Azhari T, Ostendorp H, Lehnert A, Schweizer K. Viscum album L extracts reduce sister chromatid exchanges in cultured peripheral blood mononuclear cells. 1994; 30A(12):1836-1841.

155. Bussing A, Lehnert A, Schink M, Mertens R, Schwizer K. Effect of *Viscum album* L. on rapidly proliferating amniotic fluid cells. *Arzneimittel-Forschung/ Drug Research* 1995a; 45:81-83.
156. Bussing A, Multani A S, Pathak S, Pfüller U, Schietzel M. Induction of apoptosis by the N-acetyl-galactosamine-specific toxic lectin from *Viscum album* L. is associated with a decrease of nuclear p53 and Bcl-2 proteins and induction of telomeric associations. *Cancer Letters* 1998; 130:57-68.

## ANKET FORMU

Adı Soyadı:

Tarih:

Mesleği :

Cinsiyeti:

Yaşı:

1. Şu an sigara içiyor mu? EVET HAYIR

EVET ise;

Kaç yıldır içiyor?.....

Günde kaç paket içiyor?.....

Daha önce içti ise;

Kaç yıl içti?.....

Ne zaman bıraktı?.....

2. Alkol alıyor mu? EVET HAYIR

EVET ise;

Ne kadar süredir içiyor?.....

Alkol alış sıklığı nedir?.....

(gün veya haftada)

Daha önce içti ise;

Ne zaman bıraktı?.....

Kaç yıl içti?.....

3. Kronik mide-barsak rahatsızlığı var mı? EVET HAYIR

Evet ise hastalığı nedir? .....

4. Kronik böbrek rahatsızlığı var mı? EVET HAYIR

Evet ise hastalığı nedir? .....

5. Kalp damar hastalığı var mı? EVET HAYIR

Evet ise hastalığı nedir? .....

6. Karaciğer rahatsızlığı var mı? EVET HAYIR

Evet ise hastalığı nedir? .....

7. Hipertansiyonu var mı? EVET HAYIR

8. Şeker hastalığı var mı? EVET HAYIR

9. Son 2 hafta içerisinde;

Nezle-grip (burun akıntısı):	EVET	HAYIR
İshal:	EVET	HAYIR
Sarılık:	EVET	HAYIR
Dudakta uçuk:	EVET	HAYIR
Ağız içinde aft:	EVET	HAYIR

10. Varsa sürekli kullandığı ilaçlar ve süreleri .....

.....

.....

.....

.....

11. Son 6 ayda röntgen filmi çekirdi mi? EVET HAYIR

12. İlaçlama sırasında;

Koruyucu elbise:	EVET	HAYIR
Eldiven:	EVET	HAYIR
Maske:	EVET	HAYIR
Gözlük:	EVET	HAYIR

13. Kaç yıldır ilaçlama yapıyor?.....

14. Kaç dönüm arazide ilaçlama yapıyor?.....

15. Toplam kaç ağacı var?.....

16. Hangi tarım ilaçlarını kullanıyor? (/ hangi meyve-sebzeyi yetiştiriyor?) (ilaç isimleri)

.....

.....

.....

.....

17. İlaçlamayı hangi yöntemle yapıyor?

Sırt pompası:	EVET	HAYIR
Pulvarizatör:	EVET	HAYIR

18. Ailede kalıtsal bir hastalık var mı? EVET HAYIR

Varsa hastalığın adı nedir?

19. ADRES:

20. TEL:

**Ek 1.** Çalışma grubunu belirlemek için bireylere uygulanan anket formu.