

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASPIRİN VE ASETALDEHİTİN *Drosophila melanogaster*' İN
BAZI GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Duygu KESER

Anabilim Dalı: Biyoloji

Danışman: Yrd. Doç. Dr. Ayla KARATAŞ

KOCAELİ, 2010

KOCAELİ ÜNİVERSİTESİ * FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**ASPİRİN VE ASETALDEHİTİN *Drosophila melanogaster*' İN
BAZI GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE
ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Duygu KESER

Tezin Enstitüye Verildiği Tarih: 31 Ağustos 2010

Tezin Savunulduğu Tarih: 8 Ekim 2010

Tez Danışmanı

Yrd.Doç.Dr. Ayla KARATAŞ

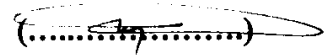
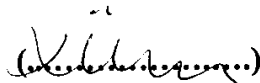


Üye

Üye

Doç. Dr. Zahide Ülya NURULLAHOĞLU

Yrd. Doç. Dr. Özlem AKSOY



KOCAELİ, 2010

ÖNSÖZ

Canlılar, genler, metabolizma, hormon, besin ve diğer çevresel faktörler ile kompleks bir ilişki içerisindedir. Dolayısı ile çevreden gelebilecek olumsuz bir etki, canlıda üreme bozuklukları, embriyojenik ve perinatal ölüm, çeşitli anormallikler, kanser gibi birtakım kötü sonuçlara neden olabilmektedir. Günlük yaşantımızda yiyecek, içecek, ilaçlar, dezenfektanlar gibi çeşitli yollar ile pek çok kimyasal maddeye maruz kalmaktayız. Asetil salisilik asit ve asetaldehitte bu maddelerden bazılarıdır. Bu nedenle bu maddelerin etkilerinin araştırılması yararlı olacaktır.

Çalışmalarım esnasında her türlü anlayış ve ilgisini gördüğüm, bilgi ve desteği ile beni bu çalışmaya yönlendiren sayın hocam Yrd. Doç. Dr. Ayla KARATAŞ' a saygı ve şükranlarımı sunarım.

Bütün hayatım boyunca ellerinden gelen her fedakarlığı gösteren ve üzerimde büyük emeği olan, annem Yadigar KESER' e, babam Erturan KESER'e, kardeşim Damla KESER'e, dayım Ramazan BAYER'e, teyzem Ayşe BAYER'e ve anneannem Fatma BAYER'e ve diğer akrabalarımaya sonsuz teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ.....	i
İÇİNDEKİLER.....	ii
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	iv
TABLolar DİZİNİ.....	v
SİMGELER.....	vi
ÖZET.....	vii
İNGİLİZCE ÖZET.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL KISIMLAR.....	4
2.1. Aspirin.....	4
2.2. Asetaldehit.....	6
2.3. <i>Drosophila melanogaster</i>	10
3. MALZEME VE YÖNTEM.....	14
3.1. Kullanılan Cihazlar.....	14
3.2. Kullanılan Kimyasallar.....	14
3.3. Kullanılan Çözücüler.....	14
3.4. Organizma.....	14
3.4.1. <i>Drosophila melanogaster</i> Kültürleri.....	14
3.5. Deneysel Çalışma.....	15
3.5.1. Maddeler için eşik değeri tespiti.....	15
3.5.2. Ergin bireylere kimyasal uygulanması.....	15
3.5.2.1. Metamorfoz süresi üzerine etkileri gözlemek amacıyla yapılan uygulama..	15
3.5.2.2. Ömür uzunluğu üzerine etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama....	16
3.5.2.3. Yumurta verimini gözlemek amacıyla yapılan uygulama.....	16
3.5.2.3. Yumurta gelişimini gözlemek amacıyla yapılan uygulama.....	16
3.5.3. Larvalara kimyasal uygulaması.....	17
3.5.4. İstatistiksel değerlendirme.....	17
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	19
4.1. Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin Ergin Bireyler Üzerine Etkileri.....	19
4.1.1. Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin metamorfoz süresi üzerine etkisi..	19
4.1.2. Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin ömür uzunluğu üzerine etkisi..	22
4.1.3. Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin yumurta verimi üzerine etkisi..	27
4.1.3. Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin yumurta gelişimi üzerine etkisi.....	30
4.2. Larvalar Üzerine Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin Etkisi.....	34
4.2.1. Bireylerin morfolojik özellikleri üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi.....	34
4.2.1.1. Dişi bireylerin morfolojik özellikleri üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi.....	34
4.2.1.2. Erkek bireylerin morfolojik özellikleri üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi.....	38
4.2.1.3. Toplam birey sayılarının morfolojik özellikleri üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi.....	41

4.2.2. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin ergin birey sayısı üzerine etkisi.....	45
4.2.3. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin eşey oranı üzerine etkileri.....	48
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	53
KAYNAKLAR.....	57
EKLER.....	66
ÖZGEÇMİŞ.....	68

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil 2.1: Aspirinin moleküler yapısı.....	4
Şekil 2.2: Asetaldehitin moleküler yapısı... ..	7
Şekil 2.3: Alkol metabolizmasında alkol dehidrogenaz yolağı.....	8
Şekil 2.4: <i>D. melanogaster</i> ' de seksual dimorfizm.....	11
Şekil 2.5: <i>D. melanogaster</i> ' in hayat döngüsü.....	12
Şekil 2.6: İmajinal disk hücrelerinin larvalardaki konumları.....	12
Şekil 4.1: F ₁ neslinde metamorfoz süresi.....	20
Şekil 4.2: F ₂ neslinde metamorfoz süresi.....	21
Şekil 4.3: Erkek bireylerde yaşam eğrisi.....	25
Şekil 4.3: Dişi bireylerin yaşam eğrisi.....	25

TABLULAR DİZİNİ

Tablo 2.1: Asetaldehitin olası etkileri.....	8
Tablo 4.1: F ₁ neslinde metamorfoz süresi.....	19
Tablo 4.2: F ₂ neslinde metamorfoz süresi.....	20
Tablo 4.3: Dişi ve erkek bireylerin konsantrasyonlara göre ömür uzunlukları.....	23
Tablo 4.4: Dişi ve erkek ömür uzunlukları ile ilgili ANOVA istatistik tablosu	24
Tablo 4.5: Dişi bireylerin ömür uzunluğu ile ilgili Duncan istatistik tablosu.....	24
Tablo 4.6: F ₁ neslinde maddelerin yumurta verimine etkileri.....	28
Tablo 4.7: F ₂ neslinde maddelerin yumurta verimine etkileri.....	29
Tablo 4.8: F ₁ neslinde maddelerin yumurta gelişimine etkileri	31
Tablo 4.9: F ₂ neslinde maddelerin yumurta gelişimine etkileri	32
Tablo 4.10: Dişi bireylerin F1 neslinde morfolojik anormallik oranı	35
Tablo 4.11: Dişi bireylerin F2 neslinde morfolojik anormallik oranı	36
Tablo 4.12: Erkek bireylerin F1 neslinde morfolojik anormallik oranı	39
Tablo 4.13: Erkek bireylerin F2 neslinde morfolojik anormallik oranı	40
Tablo 4.14: F ₁ neslinde morfolojik anormallik oranı.....	42
Tablo 4.15: F ₂ neslinde morfolojik anormallik oranı	43
Tablo 4.16: F ₁ neslinde maddelerin ergin birey sayısına etkileri.....	46
Tablo 4.17: F ₂ neslinde maddelerin ergin birey sayısına etkileri.....	47
Tablo 4.18: F ₁ neslinde maddelerin eşey oranına etkileri	49
Tablo 4.19: F ₂ neslinde maddelerin eşey oranına etkileri	50

SİMGELER

Semboller

$C_9H_8O_4$: Asetil salisilik asit
 C_2H_4O : Asetaldehit

Kısaltmalar

NSAID : Nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar
IARC : Uluslararası Kanser Araştırma Ajansı
COX : Prostaglandin H2 sentaz veya siklogenaz
NF- Kb : İnflamator sitokinlerin üretiminde kritik rol oynayan bir transkripsiyon faktörüdür.
MDA : Malondialdehit
4-HNE : Hidroksinonenal
ADH : Alkol dehidrogenaz
ALDH : Aldehit dehidrogenaz
ASA : Asetil salisilik asit
AcH : Asetaldehit

ASPİRİN VE ASETALDEHİTİN *Drosophila melanogaster*' İN BAZI GELİŞİMSEL ÖZELLİKLERİ ÜZERİNE ETKİLERİ

Duygu KESER

Anahtar kelimeler: Asetil salisilik asit, Asetaldehit, Toksik Etki, *Drosophila melanogaster*, Gelişimsel Özellikler

Bu çalışmada, *Drosophila melanogaster*' in bazı gelişimsel özellikleri üzerine asetil salisilik asit (ASA), asetaldehit (AcH) ve bu iki maddenin kombinasyonunun (ASA+AcH) etkileri araştırılmıştır. Madde uygulaması *Drosophila*' nın besiyerine karıştırılarak yapılmıştır. Uygulanan maddeler, F₁ neslinde metamorfoz süresini geciktirmiş, F₂ neslinde ise yalnızca AcH olumsuz etkisini devam ettirmiş gibi gözükmemektedir. ASA, AcH, ASA+AcH gruplarının erkek bireylerin ömür uzunluğuna bir etkisi olmazken, dişi bireylerde ASA+AcH deney gruplarının yüksek konsantrasyonlarında ömür uzunluğu artmıştır. Yumurta verimi çalışmasında, genel olarak ASA ve AcH, F₁ neslinde yumurta verimini düşürürken, F₂ neslinde ise arttırmıştır. Bu durum, maddelerin toksisitesi nedeniyle, F₁ neslindeki bireylerin, neslini tehlikeye sokmamak için bir sonraki nesilde yumurta sayısını arttırmasından kaynaklanmış olabilir. ASA+AcH kombinasyonunun F₂ neslinde canlıda direnç gelişimine neden olduğu düşünülmektedir. Yumurta gelişimindeki etkilerin yumurta verimine benzer olduğu görülmüştür. Farklı olarak, ASA+AcH kombinasyonuna karşı her iki nesilde de direnç gelişmiş olabileceği düşünülmektedir. AcH ve ASA' nın ayrı ayrı uygulanması ile her iki nesilde de, genel olarak, normal birey sayısı artarken, beraber uygulandığında azalmıştır. ASA' nın F₁ neslinde erkek bireyler üzerinde toksik etki yaratmış olabileceği düşünülmektedir. Ergin birey sayıları, morfolojik anormallik çalışmasına paralel olarak, her iki nesilde ASA ve AcH maddeleri ergin birey sayısını arttırırken, ASA+AcH kombinasyonu ise düşürmüştür. Eşey oranı çalışmasında, F₁ neslinde ASA ve AcH deney grupları, F₂ neslinde ise ASA deney grubu eşey oranını etkilemiştir. Buradaki oranların dişi lehine artmış olabileceği düşünülmektedir. Larval dönemde yapılan çalışmalarda, AcH' in olumlu sonuç vermesi, belki de bu konsantrasyonlarındaki toksik etkinin ADH-ALDH' a bağlı detoksifikasyon mekanizmasının yüksek verimli işleyişi sayesinde yok edilmesinden kaynaklanmış olabilir.

EFFECTS OF ASPIRIN AND ACETALDEHYDE ON SOME DEVELOPMENTAL STAGES OF *Drosophila melanogaster*

Duygu KESER

Key words: Acetylsalicylic acid, Acetaldehyde, Toxic Effect, *Drosophila melanogaster*, Development

The effects of acetylsalicylic acid (ASA), acetaldehyde (AcH) and the combination of these two compounds (ASA+AcH) on several developmental characteristics of *Drosophila melanogaster* were investigated in this study. Agent applications were made by mixing medium of the *Drosophila*. In the F₁ generation, metamorphosis is thought to be retarded in all groups, but in the F₂ generation only AcH's negative impact seems to be continued. Life lengths of males of ASA, AcH, ASA+AcH groups did not effect, but life lengths of females of ASA+AcH experiment groups were increased by high concentrations. In the study on fecundity, the applications of ASA and AcH groups were shown to decrease the egg efficiency in the F₁ generation whereas they increased the egg efficiency in the F₂ generation. It has been seen that the effects were nearly the same with egg development. This situation might be resulted from increasing in egg number within the next generation in order not to endanger individuals' generation in the F₁ due to the toxicity of chemicals. In the F₂ generation ASA+AcH combination is thought to be caused to development of resistance. It has been seen that the effects were nearly the same with egg development. In this part, as being different from the fecundity experiment, It has been anticipated that the resistance is developed in two generations. Generally, while normal individual numbers were increased in both generations with individual applications of AcH and ASA, but it was decreased when they were applied together. In male individuals, it has been considered that toxic effects may occur in ASA group of the F₁ generation. Adult individual numbers, as in parallel with morphologic abnormality study, were increased as ASA and AcH substance individual numbers in both generation; but decreased ASA+AcH combination. In sex rate study, ASA and AcH test groups in the F₁ generation and only ASA test group in the F₂ generation effected the sex rate. It has been anticipated that rates in here are increased in favor of females. Besides, positive results of AcH in the studies made during larval period might have been occurred due to elimination of toxic effects within these concentrations by high effective progressing of detoxification mechanism depending on ADH-ALDH.

1. GİRİŞ

İlk defa 18. yüzyılın ortalarında tanımlanan aspirin, 19. yüzyıla gelindiğinde saflaştırılmış ve daha yüz yıl bile geçmeden yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bugün ise aspirin (asetil salisilik asit), baş ve kas ağrısı, eklem iltihabı ve ateş düşürücü olarak sıklıkla tercih edilen bir ilaç olmuştur [1].

Aspirin, dünyada en yaygın kullanılan ilaçlar arasında yer alan nonsteroid anti-inflamatuvar ilaçlar (NSAID) grubundandır. Analjezik, antipiretik, antiromatik özellikleri nedeniyle sıklıkla kullanılmaktadır [2]. Ayrıca farmakolojik etkileri bakımından geniş spektrumlu bir ilaç olarak ifade edilmektedir [3]. Kalp krizi ve felci engellemesinden [4], ateşli eklem romatizmasına [5] kadar birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır.

Epidemiyolojik çalışmalarda, aspirin kullanımıyla kötü huylu tümör oranlarının düştüğü görülmüştür [6]. Ayrıca düzenli olarak aspirin kullanan bireylerin, kullanmayanlara oranla ölümcül kolon kanserine yakalanma riskinin % 40-50 daha düşük olduğu tespit edilmiştir [7]. Bazı çalışmalarda ise H₂O₂ tarafından oluşturulan DNA hasarını inhibe ettiği görülmüştür [6].

Drosophila melanogaster üzerinde yapılan araştırmalarda, aspirinin mutasyon ve kromozom rekombinasyonunu inhibe ettiği görülmüştür [8]. Ayrıca, aspirinin bazı metabolitlerinin DNA hasarını engelleyebildiği ve aspirinin sekonder kanser oluşumunu engelleyebileceği ifade edilmiştir [9].

Fakat ne yazık ki aspirinin bu kadar olumlu özelliklerinin yanında, mide kanaması, böbrek yetmezliği ve nadiren ölüm [1], ciddi kardiyovasküler olaylar, hipertansiyon ve kalp kusurlarının kötüleşmesi gibi riskleri mevcuttur [10]. Ayrıca, aspirinin çocuk ve gençlerde, Reye sendromu riski nedeniyle, bazı hastalıklarda uzun süreli kullanılmaması gerektiği de ifade edilmektedir [11]. Bunların dışında, aspirinin düşük dozlarının bile gastrointestinal toksisiteye neden olduğu bilinmektedir [12].

Aspirin çok çeşitli yerlerde kullanılmasına rağmen, metabolizmasıyla ilgili enzimler hakkında bilimiz hala oldukça kısıtlıdır [13].

Asetaldehit ise, endüstride geniş yelpazesi bulunan organik bir maddedir. Sentetik tatlandırıcı, kağıt endüstrisi, anil boyaların yapımı gibi pek çok alanda kullanılmaktadır [14]. Ayrıca asetaldehit, alkol tüketimi sonucunda (ethanolün oksidasyonu sonucu) vücutta oluşabilmekte [15] ve sigara dumanı [16] yoluyla da vücuda girebilmektedir. Kısacası, birçok yönden vücudumuz asetaldehit ile karşı karşıya gelmekte ve bunun sonucu olarak da olumsuz etkilere maruz kalmaktadır.

Yapılan araştırmalarda, asetaldehidin oldukça toksik bir madde olduğu, uzun periyotlarda maruz kalındığında ise tahriş edici olduğu ve bronşiyal tümör, oral kavite karsinomaları gibi çeşitli kanser tiplerini meydana getirebileceği ifade edilmiştir [17]. Ayrıca, nasal epitelyumda hiperplasya ve solunum epitelinde ise proliferasyonu teşvik ettiği görülmüştür [18]. Bunların dışında asetaldehitin, kromozom sapmaları, mikronüklei gibi birtakım genetiksel olaylara neden olduğu görülmüştür [19]. Fazla miktarda alkol tüketen insanların bazı kan hücrelerinde asetaldehitin DNA' ya bağlandığı gözlenmiştir [20]. Aynı zamanda, bu maddenin embriyoda teratojenik etkilere neden olduğu ve gelişim periyodunu olumsuz olarak etkilediği görülmüştür [21]. Asetaldehitin asetik aside çevriminde rol alan mitokondriyal aldehit dehidrogenaz 2 (ALDH2) aktivitesinin eksikliğinde, Alzhemier hastalığı riskinin artabileceği ifade edilmiştir [22]. Asetaldehitin karsinojenitesi hakkında deney hayvanlarında yeteri derecede çalışma olmasına rağmen, insanlarda olmaması nedeni ile asetaldehit IARC (Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı) tarafından, insanlarda kanser yapabilen maddeler anlamına gelen Grup B grubuna dahil edilmiştir [14].

D. melanogaster' de yapılan cinsiyete bağlı resesif mutasyon testinde, asetaldehitin erkek bireylerin mayotik ve post mayotik germ hücre evrelerinde resesif mutasyonları uyardığı [23], başka bir çalışmada ise, oositlerdeki X kromozomlarında ayrılma olayını etkilemediği görülmüştür. Bunların dışında, 2-kloro-asetaldehitin ise DNA' da çapraz bağlara neden olabileceği görülmüştür [24].

D. melanogaster, ilk defa 1910 yılında Thomas Morgan tarafından genetik dünyasına tanıtılmış ve o zamandan beri genetik çalışmalarda önemli bir yer tutmuştur. Kolayca üreyebilmesi, çok sayıda yavru meydana getirebilmesi, kısa jenerasyon süresinin oluşu, cinsiyet ve diğer fenotipik karakterlerinin kolaylıkla incelenebilmesine olanak vermesi, birçok mutant karakterinin bulunması [25], genetik kodlarının insanlara benzemesi gibi birçok önemli özelliği nedeniyle de oldukça tercih edilen bir deney organizmasıdır [26].

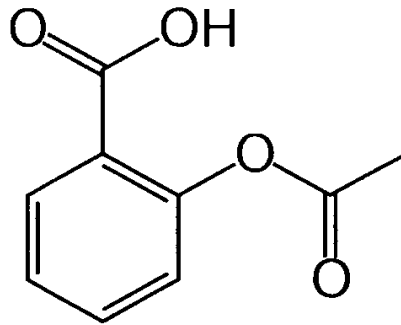
Bu araştırmada, dünyada çeşitli tedavilerde sıklıkla tercih edilen ‘aspirin’ ve ‘asetaldehit’ gibi oldukça toksik ve genotoksik bir maddenin, insanlarla genetik kodlar açısından benzerlik gösteren *D. melanogaster*’ in bazı gelişimsel özellikleri üzerine etkileri araştırılmıştır. Ayrıca, aspirinin toksik bir madde olan asetaldehitin toksisitesi üzerine olumlu bir etkisi olup olmadığı da incelenmiştir.

2. GENEL KISIMLAR

2.1. Aspirin

Aspirin, baş ve kas ağrısı, eklem iltihabı ve ateş gibi rahatsızlıkları gidermek için tüketilen bir ilaçtır. Aspirinin ilaç özellikleri ilk kez 1763 yılında, İngiltere'den Edmund Stone'un *Salix alba* (söğüt ağacı)'nın dış kabuğunun, ateşe ve ağrılara karşı etkili olduğunu açıklamasıyla tanımlanmıştır. 1830' lara gelindiğinde ise Alman kimyacılar söğüt ağacından ve salisilatlarca zengin diğer bir bitki olan *Spiraea ulmaria* (erkeç sakalı)'dan aktif bileşenleri saflaştırmış ve daha yüzyıl bile tamamlanmadan yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır [1]. Şu anda ise her yıl dünyada kırk bin ton aspirin tüketildiği tespit edilmiştir [27].

Aspirin, asetil salisilik asit (ASA) olarak da bilinmektedir (Şekil 2.1). Non-steroidal anti-İnflammatuvar ilaçlar (NSAİDler) grubunda yer alan salisilat tipi bir ilaçtır ve yüz yıldan fazla zamandır soğuk algınlığında kullanılmaktadır. Aynı zamanda, baş ağrısı, huzursuzluk gibi şikayetlerin giderilmesine de yardımcı olmaktadır. Ayrıca terleme ve gastrointestinal sistemdeki yan etkileri dışında parasetamolle aynı derecede olumlu etkilere sahiptir [28].



Şekil 2.1: Aspirinin moleküler yapısı (C₉H₈O₄)

Aspirinin, sahip olduğu çeşitli özellikler nedeniyle oluşabilecek kalp krizi, felç ve kan pıhtısı oluşumlarını engellemek için düşük dozlarda ve uzun süreli olarak

kullanılmaktadır [4]. Ayrıca, bir kalp krizinin hemen sonrası, kalp dokularının ölümünün veya bir başka kalp krizi geçirme riskinin azaltılması için de kullanılabileceği saptanmıştır [29, 30]. Bunların dışında, aspirinin, migrenin tedavisinde başvurulmuş en önemli ilaçlardan birisidir [32]. Yüksek dozlarda ise ateşli eklem romatizmasının ateş ve ağrısına oldukça iyi cevap verdiği görülmüştür [33].

Aspirin, kalp zarı iltihabı, koroner arter hastalığı ve akut miyokardiyal damar infarksiyonu tedavisinde de kullanılmaktadır [30]. Yapılan bir araştırmada, karaciğer hasarını önleyebileceği ve hepatositleri koruyucu etkilerinin olabileceği saptanmıştır [31].

Yapılan çalışmalarda, aspirinin çeşitli kanser tiplerini (kolon, dil, özefagus, pankreas, mesane, göğüs, karaciğer tümörleri, çeşitli sarkomalar) inhibe ettiği gösterilmiştir [34]. Bu inhibisyonun inflamasyonu engelleyici etkisi sayesinde olduğu tahmin edilmektedir. [35]. Bazı araştırmalarda, kemirgen kolonlarındaki denemelerde, radyasyonun neden olduğu tümörlerin boyutları ve sayısını azalttığı görülmüştür [36]. Ayrıca, H₂O₂ tarafından oluşturulan DNA hasarının inhibe ettiği tespit edilmiştir [6].

D. melanogaster üzerinde yapılan çalışmalarda, aspirinin güçlü bir antimutajenik bir madde olduğu, ayrıca kromozom rekombinasyonunu inhibe ettiği görülmüştür [8]. Yapılan bir başka çalışmada aspirinin bazı metabolitlerinin DNA hasarını engeleyebildiği ve aspirinin sekonder kanser oluşumunu engelleyebileceği ifade edilmiştir [2].

Aspirinin olumlu etkilerine rağmen, mide kanaması, böbrek yetmezliği ve ekstrem durumlarda ölüm gibi ciddi yan etkileri de vardır [1]. Ayrıca düşük dozlarının bile gastrointestinal toksisiteye neden olduğu bilinmektedir. Bu nedenle, risksiz olan herhangi bir dozu mevcut görünmemektedir. Bu etkileri hafifletmek için aspirinin kaplama veya tamponlama çabaları, komplikasyonları henüz azaltmamıştır [12]. Aspirinin, çocuk ve gençlerde, Reye sendromu riski nedeniyle, grip benzeri semptomlarda, suçiçeği ve diğer viral hastalıklarda uzun süreli kullanılmaması gerektiği de ifade edilmektedir [11]. Ayrıca, aspirin çok çeşitli yerlerde

kullanılmasına rağmen, metabolizmasıyla ilgili enzimler hakkında bilginiz oldukça kısıtlıdır [13]. Ayrıca aspirin ciddi kardiyovasküler olaylar, hipertansiyon ve kalp kusurlarının kötüleşmesine neden olur [10].Yüksek dozda salisilat, bir aspirin metabolitidir, farelerde aroşinik asit ve N-metil- D-aspartat reseptör kaskadların aktive olması yolu ile kulak çınlamalarına neden olduğu bulunmuştur [37].

2.2. Asetaldehit

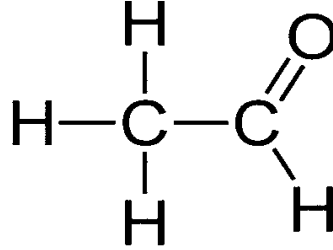
Asetaldehit (Şekil 2.2), asetik asit, asetik anhidrit, selüloz asetat, vinil asetat reçinesi, asetat esterleri, pentaeritritol, sentetik piridin türevleri, tereftalik asit ve perasetik asitin üretiminde ara madde olarak kullanılmaktadır [38]. Ayrıca, aynaların gümüşlenmesi, derinin tabaklanması, alkolün denatürasyonu, yakıt karışımları, jelatin fiberlerinin sertleştirilmesi, tutkal ve kazein ürünlerinde, kağıt endüstrisinde, sentetik aroma ajanı olarak, makyaj malzemesi yapımında, anilin boya, plastik ve sentetik kauçuk yapımında da tercih edilmektedir. Bunların dışında, dezenfektan üretiminde, ilaç, parfüm, patlayıcılar, vernik ve cila, fenolik ve üre reçinelerinde, oda deodorantlarında kullanılan bir madde olmakla beraber pestisit ara maddesidir [14].

Verilere göre 1989'da ABD'de yılda 443 000 ton asetaldehit üretilmektedir [38]. 1995 yılındaki bir araştırmada ise 16 ülkede bu maddenin üretilmekte olduğu tespit edilmiştir. 1981-83 yıllarına bakıldığında ise, ABD'de yaklaşık 220 000 çalışanın asetaldehite yüksek oranda maruz kaldığı görülmektedir [14].

Asetaldehit, genellikle atmosferde bulunan hidrokarbonların tutuşma ve oksidasyonu sonucu oluşan doğal bir üründür. Ayrıca, asetaldehit kimya endüstrisinde önemli bir maddedir ve üretimi veya kullanımı sırasında atık sulara ve havaya karışabilmektedir. Açık ve kapalı alanlardan alınan hava örnekleri, egzoz, içme, yüzey ve yağmur sularında ve ayrıca akıntılarda düşük seviyelerde tespit edilmiştir. Bunların dışında fotokimyasal olarak da yüzey sularında üretildiği bulunmuştur.

Tütün dumanı, fırınlanmış kahve, bira, şarap gibi bütün alkollü içeceklerde, bitki özsuğunda ve esansiyel yağlarda asetaldehitin düşük miktarlarda bulunduğu tespit

edilmiştir. İnsanlarda ise etanol ve şeker metabolizması sonucunda ara ürün olarak oluştuğu ve kanda eser miktarda bulunduğu görülmüştür [16].



Şekil 2.2: Asetaldehitin moleküler yapısı (C₂H₄O)

Asetaldehitin insan üzerinde çeşitli etkileri bulunmaktadır. Örneğin, uzun periyotlarda derinin asetaldehit ile teması sonucunda, kızarıklık ve yanma meydana gelmekte, temasın devam etmesi durumunda ise deri iltihabı oluşabilmektedir. Ayrıca asetaldehitin buharı burun, boğaz ve gözde yanmaya, öksürüğe neden olurken, sıvı haline maruz kalma durumunda ise, yanma hissi, gözde yaşarma, bulanık görme meydana gelmektedir [39].

Oksidatif stres oluşumunda rol alan ve birçok araştırmacı tarafından deneysel olarak karaciğer hasarı oluşturduğu tespit edilen kimyasallardan biri alkoldür [40]. Alkol, etkisini, yıkım ürünü asetaldehite bağlı olarak, çeşitli mekanizmalarla ve önemli olarak da lipit peroksidasyonu ve serbest radikal artışı yaparak gösterir. Serbest radikaller ile lipit peroksidasyonu, hücre hasarı ve hücre zar yapısı bozulmasında birincil mekanizma olarak rol oynar [41, 42].

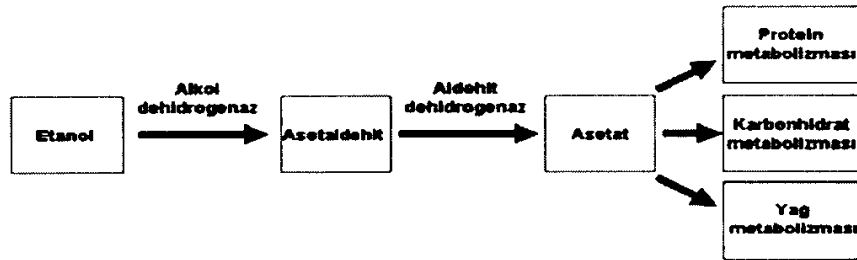
Asetaldehit, metabolik olarak son derece reaktif ve toksiktir. Proteinlere ve diğer makromoleküllere bağlanır ve bu bileşiklere karşı antikor oluşumuna neden olur. Dolayısıyla alkolik karaciğer hastalığı olanların serumlarında genellikle bu antikorlara rastlanır [43, 44]. Hücrelerdeki mikrotübüler sistem, asetaldehit tesiriyle bozulur ve protein atılımı durur. Tutulan proteine eş miktarda su da tutulur ve bundan dolayı karaciğer hücreleri şişer. Asetaldehit, glutatyonun 3 aminoasidinden biri olan L-sistein ile hemiasetal bir yapı oluşturarak glutatyon kaybına yol açar. Ayrıca, aldehit oksidaz tarafından okside edilerek, demir varlığında serbest radikal oluşumuna neden olur. Yine, serbest radikallerin yol açtığı lipid peroksidasyon ürünleri olan, malondialdehit (MDA) ve hidroksinonenal (4-HNE) ile kompleksler

teşkil ederek sitokrom P 450 sistemine bağlanır ve hücre yüzeyinde antijenik yapılar oluşturur [45].

Tablo 2.1: Asetaldehitin olası toksik etkileri [45].

1. Metabolik	<ul style="list-style-type: none">- Mitokondrial oksidatif fosforilasyonun bozulması- Lizil ve diğer serbest amino asitlere bağlanarak enzim inhibisyonu- Mikrotübüler protein atılımında bozulma
2. Oksidatif	<ul style="list-style-type: none">- Glutasyon ve antioksidan mekanizmalarda bozulma- Lipid peroksidasyonu ve serbest radikal artışı- Toksik lipid aldehytlerde birikim
3. İmmunotoksik	<ul style="list-style-type: none">- Protein + asetaldehit antijenitesi
4. Proinflamatuvar ve Profibrotik	<ul style="list-style-type: none">- Liposit kollajen üretiminin aktivasyonu- Sitokin salımında artma

Asetaldehit, karaciğere esas toksik etki gösteren maddedir. Alkol alımını takiben gelişebilen yüzde kızarma, çarpıntı, baş ağrısı, kusma, terleme gibi belirtilerin ortaya çıkmasından da sorumludur. Alkol dehidrogenaz (ADH) enzimi etanolü ne kadar hızlı asetaldehite dönüştürürse ve/ veya Aldehit dehidrogenaz (ALDH) enzimi asetaldehiti ne kadar yavaş asetata dönüştürürse, ortamdaki asetaldehit miktarı daha çok artacak ve bunun sonucunda 'kızarma, çarpıntı, başağrısı, kusma ve terleme' gibi belirtiler daha belirgin hale gelecektir (Şekil 2.3) [15].



Şekil 2.3: Alkol metabolizmasında alkol dehidrogenaz yolu

Alkol kullanımına bağlı kronik karaciğer hastalığı net olarak anlaşılamamıştır. Fakat kronik alkol kullanımı, bozulmuş protein sentez ve sekresyona, mitokondriyal

hasara, lipid peroksidasyonuna, asetaldehit oluşumuna ve oluşan asetaldehitin selüler membran ve lipidleriyle etkileşerek hücrenel hipoksiye neden olmaktadır [46].

Hayvanlar üzerinde yapılan çalışmalarda, asetaldehitin nasal epitelyumda hiperplasya ve solunum epitelinde ise proliferasyonu teşvik ettiği görülmüştür [18]. Genetik olarak bakıldığında ise, asetaldehitin memeli kültür hücrelerinde kardeş kromatit değişimleri, kromozom sapmalarına ve DNA arası çapraz bağlara neden olduğu bulunmuştur [47]. Gelişimsel periyoddaki (gebelik döneminde) etkilere bakıldığında ise asetaldehitin, iskelet oluşumunun gecikmesi, yüz, iskelet ve uzuvlarda anomaliler, büyümenin yavaşlaması gibi etkileri olduğu gözlemlenmiştir [17].

İnsan karsinogenisitesi açısından bakıldığında ise, kimya sektöründe çalışan ve çeşitli aldehitlere maruz kalan işçiler üzerinde yapılan bir çalışmada, oral kavite ve bronşiyal tümörlere rastlanmıştır [17]. Asetaldehidin karsinogenitesi hakkında yeterli derecede çalışma olmasına rağmen insanlarda yeterli miktarda çalışma mevcut olmadığından dolayı asetaldehit, IARC (Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı) tarafından, insanlarda kanser yapabilen maddeler anlamına gelen Grup B sınıfına dahil etmiştir [14].

D.melanogaster' de yapılan çalışmalara bakıldığında ise, yapılan cinsiyete bağlı resesif mutasyon testinde, asetaldehitin enjeksiyon ile uygulanması sonucu, erkek bireylerin mayotik ve post mayotik germ hücre evrelerinde cinsiyete bağlı resesif mutasyonları uyardığı görülmüştür. Ancak asetaldehitin beslenme ile uygulanması sonucu bireylerin etkilenmediği de görülmüştür [23]. Dişilerde yapılan bir çalışmada ise asetaldehitin oositlerde X kromozomunda ayrılma olayını etkilemediği, bu olayın ise ADH-ALDH' a bağlı detoksifiye mekanizmasının yüksek bir verimle çalışmasından kaynaklanmış olabileceği ifade edilmiştir [48]. Bunların dışında, asetaldehitin şok-protein cevabını uyarmadığı, 2- kloro- asetaldehitin ise çapraz bağlar neden olabileceği görülmüştür [24].

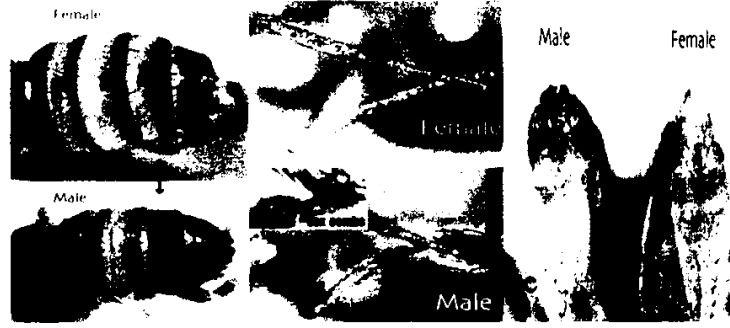
2.3. *Drosophila melanogaster*

D. melanogaster, 19. yy' da Dipteryoloji'nin babası olarak bilinen Johann Wilhem Meigen (1764–1845) tarafından 1830 yılında tanımlanmıştır [49]. Meyve sineği ya da sirke sineği olarak bilinmektedir ve genetik çalışmalarda model organizma olarak sıkça kullanılmaktadır [25].

Kingdom: *Animalia*
Phylum: *Arthropoda*
Class: *Insecta*
Order: *Diptera*
Familia: *Drosophilidae*
Genus: *Drosophila*
Species: *D. melanogaster*

D. melanogaster' in genel özellikleri, kiremit kırmızısı göz, sarı- kahverengi renk ve abdomende enine ve birbirine paralel olarak dizilmiş siyah çizgilerdir. Seksual dimorfizm gösterirler. Dişinin abdomeni yedi segmentli olup uzundur ve ucu sivridir. Oysa erkeğinki kısmen kısa, beş segmentli ve ucu küttür. Ayrıca dişinin yaşlanması ve devamlı yumurta gelişimi dolayısıyla abdomen genişler. Birçok soylarda tüm abdomen arkası erkek sineklerde siyah, dişide açık ve koyu bantlar uç kısma kadar uzanır. Mikroskopta dış genital yapıda farklılık gözlenir. Erkeğin mikroskop altındaki diğer belirgin işareti birinci çift bacakların tarsus segmentinin bazal tarafında siyah ve kalın bir seri kılın teşkil ettiği 'eşey tarağı' (sex comb) denilen yapının bulunuşudur (Şekil 2.4.). Dişiler bu yapıdan yoksundur [25].

D. melanogaster, diploid kromozom sayısına sahiptir ve dört çift kromozom taşımaktadır. Bunlardan üç çifti otozomal kromozom, bir çifti ise cinsiyet kromozomlarıdır. Kromozomları X, Y, 2, 3, 4 şeklinde numaralandırılır [25]. İnsanlarla *Drosophila* arasında genetik açıdan oldukça benzerlik bulunmaktadır. Yapılan bir araştırmada, bilinen insan hastalık genlerinin % 75' i meyve sineklerinin genetik kodlarıyla önemli ölçüde eşleştiği tespit edilmiştir [50].



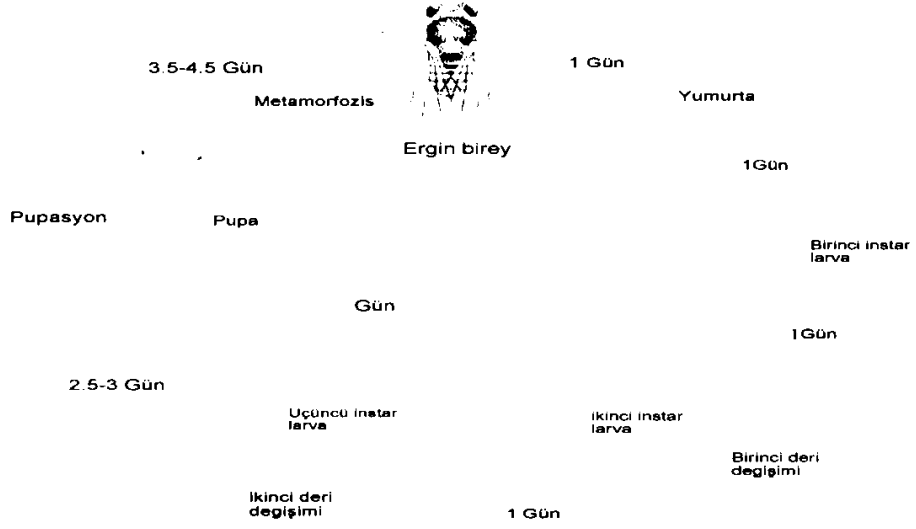
Şekil 2.4: *D. melanogaster*' de seksual dimorfizm

(a) Abdomen farkı, (b) seks tarakları, (c) koyu pigmentli halkalar

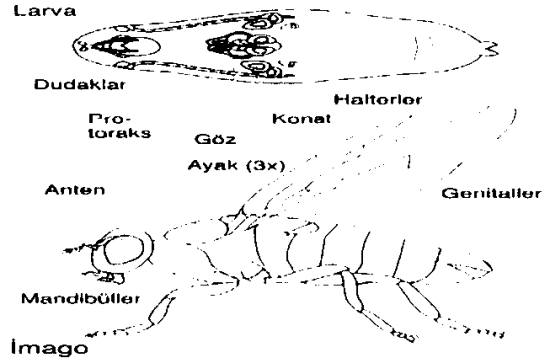
D. melanogaster' in gelişimsel periyodu sıcaklığa göre değişmektedir, yani ektodermik bir canlıdır. 30 °C'de 11 gün, 18 °C'de 19 gün, 12 °C ise 50 gündür ve en uygun sıcaklık derecesi 25 °C' dir [60, 61]. 25 °C ve % 60 bağıl nem altında 9-11 gün arasında değişmektedir (Embriyonik gelişim, 1. ve 2. larvada birer gün, 3. larvada 2 gün, prepupada 4 saat, pupada ise 4,5 gün).

Kültüre alınan bireyler besin üzerine yumurta bırakırlar (Şekil 2.5). Bir gün sonra yumurtalar açılır ve larvalar besin içerisinde beslenmeye başlarlar. Larvalar üçüncü evreye ulaştıklarında yaşama ortamlarında kuru bir yer bularak pupa evresine geçerler [51, 52]. Pupa içerisinde metamorfoz geçirir ve imajinal disklerden kanat, göz, bacak gibi yapılar gelişir (Şekil 2.6). 9- 11. gün sonunda ise ergin, pupanın üst kısmını delerek dışarıya çıkar. İlk çıkan bireylerin kanatları kıvrıktır, fakat ilerleyen saatlerde normal kanat boy ve şekline ulaşmaktadır.

D. melanogaster' in erkek bireyleri pupadan çıktıklarında eşeyssel olgunluğa erişmiş olduğu halde dişi bireylerin eşeyssel olgunluğa erişmesi 6–12 saat gibi bir zaman diliminde gerçekleşir. Bu dönemdeki dişi bireyler henüz döllenme yeteneğinde değildirler. Ergin bireylerin ortalama yaşam süreleri 40–50 gün arasında olmasına karşın 80–90 gün yaşayan bireyler de tespit edilmiştir [53].



Şekil 2.5: *D. melanogaster*' in hayat döngüsü



Şekil 2.6: İmajinal disk hücrelerinin larvadaki konumları

Son yıllarda yapılan birçok çalışma, insan hastalıklarında *Drosophila melanogaster*' in model organizma olarak kullanılmasını desteklemektedir. *Drosophila melanogaster*' in bu testler için kullanılması 1927'de Müller' in eşeye bağlı resesif letal mutasyon testini bulmasıyla başlamıştır [54].

Drosophila melanogaster' in model organizma olarak seçilmesinin birçok sebebi vardır. Bunlar;

- 1-) Basit bir diyetlerinin olmasıdır. Bu sayede çok fazla sayıda bireyi ucuz bir şekilde üretmek mümkündür.
- 2-) Yaşam döngüleri kısadır.
- 3-) Çok fazla sayıda yumurta üretimi olmaktadır.
- 4-) Politen kromozomlara sahiptirler. Bu yapıların açık ve koyu renkli bantları, genlerin doğru bir şekilde haritalanmasını sağlar.
- 5-) Genetik kodları, insanlara benzemektedir (Ör: Biyoaktivasyondan sorumlu enzim sistemleri) [55, 56].
- 6-) Genetik çalışmalar için kullanılacak birçok mutanta sahiptir ve rahat çalışılacak büyüklüktedir [57].
- 7-) *Drosophila* genom dizi analizi, insan hastalıklarında belirlenen genlerin % 60'ından fazlasının *Drosophila* ortoloğu olduğunu göstermiştir. Kansere, nörolojik hastalıklar, metabolizma bozuklukları, yapısal bozuklukları ve renal hastalıkları belirleyen genlerin büyük olasılıkla *Drosophila*'da kopyaları mevcuttur [58]. *Drosophila* ve insan hücre döngülerinin ve düzenleyici yollarının benzerliği, tümör genезis esnasında çoğalma süreci çalışmalarında bir model olarak hizmet eder [59].

Bütün bu avantajlar göz önüne alındığında *D. melanogaster*, çok uygun bir organizmadır. Bu nedenle bu çalışmada, dünyada çok yaygın olarak kullanılan aspirin ve asetaldehitin hem ayrı hem de kombine etkileri *D. melanogaster*'de araştırılmıştır.

3. MALZEME VE YÖNTEM

3.1 Kullanılan Cihazlar

- İnkübatör (Nüve cooled ES 110)
- Stereo mikroskop (Olympus SZ 51 sterio microscope)

3.2. Kullanılan Kimyasallar

- Asetil salisilik asit (ASA - $C_9H_8O_4$) – 300 mg ASA
- Asetaldehit (AcH - C_2H_4O) – 10mM AcH, 20mM AcH, 30mM AcH

3.3. Kullanılan Çözücüler

- Çözücü olarak distile su kullanılmıştır.

3.4. Organizma

- Bu araştırmada *D. melanogaster* (Diptera: *Drosophilidae*)' in yabanıl tip Oregon-R soyu kullanılmıştır.

3.4.1. *D. melanogaster* kültürleri

Çalışmalarda ileri derecede kendileşmiş, *D. melanogaster* (Diptera: *Drosophilidae*)' in yabanıl tip Oregon-R soyu kullanılmıştır. Çalışmalarda kullanılan *D. melanogaster* kültürü, Hacettepe Üniversitesi Biyoloji Bölümünden getirilmiştir.

Deneylerde kullanılan kültürler, 50 ml'lik besi yeri (EK-1) içeren kültür şişeleri içerisinde, sürekli karanlık koşulda 25 ± 1 ° C' ye ayarlanmış soğutmalı inkübatörde yaşatılmıştır. Kültür şişesi olarak, sık sık steril edilen 250 ml' lik süt şişeleri kullanılmıştır (Ek-2).

3.5. Deneysel Çalışma

3.5.1. Maddeler için eşik değer tespiti

Çalışmalarda kullanılan ASA ve AcH için eşik konsantrasyon tespiti yapılmıştır. Bu amaçla ASA için Dünya Sağlık Örgütü (WHO)' nün sivrisinekler için yapılan duyarlılık deneylerinde Busvine ve Nash tarafından geliştirilen metod deney şartlarına uyarlanmıştır.

Bunun için besiyerlerine 250 mg-10.000 mg ASA eklenmiş ve her bir besiyerine 100 ergin birey eklenmiştir. 24 saat beklendikten sonra ölen ve canlı kalan birey sayıları not edilmiş ve ölüm yüzdeleri hesaplanmıştır. Buna göre ASA' nın letal doz (LD₅₀) değeri 500 mg ile 600 mg arasında tespit edilmiş ve deneylerde 300 mg olarak kullanılmıştır.

AcH' in letal konsantrasyon (LC₅₀) tespiti için yapılan denemelerde oldukça yüksek konsantrasyonlarında ölüm gerçekleşmemiş, bu nedenle literatür dikkate alınmıştır [23]. Bunun göre 10mM AcH, 20mM AcH ve 30mM AcH olmak üzere üç farklı konsantrasyon denenmiştir.

3.5.2. Ergin bireylere kimyasalların uygulanması

3.5.2.1. Metamorfoz süresi üzerine etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Bu uygulamada, deney grubu besiyerlerine 300 mg asetil salisilik asit (ASA) kristal halde, 10 mM, 20 mM, 30 mM asetaldehit (AcH) ise çözelti (distile su ile hazırlanmıştır) halinde ilave edilmiştir. Deney ve kontrol gruplarına ait kültür şişelerine 20 dişi ve 20 erkek birey ilave edilmiştir. Bu şişeler her gün kontrol edilerek, yumurta, larva, pupa ve erginlerin ilk olarak ortaya çıktıkları gün kaydedilmiştir. F₁ nesline ait metamorfoz süreleri kontrol ve deney grupları arasında karşılaştırılmıştır. F₁ neslinden elde edilen ergin bireyler ise kimyasal madde

içermeyen besiyerlerine aktarılarak F₂ nesli elde edilmiş ve gözlemler F₂ neslinde de kaydedilmiştir.

3.5.2.2. Ömür uzunluğu üzerine etkilerini gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Kontrol ve deney gruplarında ergin bireylerin ömür uzunluğu erkek ve dişi popülasyonlarda ayrı ayrı çalışılmış, virjin dişi ve aynı yaşta erkek bireyler kullanılmıştır [60]. Deney grubu besiyerlerine 300 mg asetil salisilik asit (ASA), 10 mM, 20 mM, 30 mM asetaldehit (AcH) ilave edilmiştir. Her bir besiyerine 50 dişi veya 50 erkek birey konulmuş ve her grup için en az 100 bireylik popülasyonlar oluşturulmuştur. Bütün şişeler her gün kontrol edilmiştir. Bireyler 2-3 günlük periyotlarla yeni besiyerine bayıltılmadan transfer edilmiştir. Her grupta bütün bireyler ölene dek transferler sürdürülmüş ve grupların ortalama ömür uzunlukları belirlenmiştir.

3.5.2.3. Yumurta verimini gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Deneysel çalışmanın bu aşamasında, petri yöntemi kullanılarak yumurta verimi gözlenmiştir. Kontrol ve deney gruplarına (300 mg ASA, 10 mM, 20 mM, 30 mM AcH) ait besiyerlerine 20' şer dişi ve erkek birey konularak beş gün bekletilmiştir. Daha sonra bu dişi bireyler normal besiyeri içeren petrilere 20' şer adet aktarılmıştır. Bir günlük inkübasyondan sonra yumurta sayımı yapılmıştır. Bu sayımı kolaylaştırmak amacıyla, petrideki besiyeri toplu iğne yardımı ile sekiz parçaya bölünerek stereo mikroskop altında yumurtaların sayımı yapılmıştır. Her deney beş kez tekrarlanmıştır. Olası etkilerin F₂ neslinde devam edip etmediğini görmek için aynı gözlemler F₂ neslinde de yapılmıştır. Ayrıca deney süresi bireylerin yaşamının ilk on günü kapsayacak şekilde yapılmıştır. Çünkü bu organizmanın yaşamındaki yumurta üretimini gösteren en iyi dönem ilk on günlük periyottur [61, 62].

3.5.2.4. Yumurta gelişimini gözlemek amacıyla yapılan uygulama

Gelişimi gözlenecek yumurtalar, bir önceki yöntemle göre toplanmıştır. Farklı olarak, bırakılan yumurtaların üçüncü instar larva dönemine kadar olan gelişim

periyodu izlenmiştir. Bu periyodun sonunda bırakılan yumurtaların ne kadarının geliştiğini görmek amacıyla, besiyeri ortalama beş gün etüvde tutulmuş ve daha sonra, siyah kap içerisinde bulunan az miktarda suya, besi yeri aktarılarak larvalar sayılmış ve başlangıçtaki yumurta sayısı ile üçüncü instar larva sayısı karşılaştırılmıştır.

3.5.3. Larvalara kimyasalların uygulanması

Deneyin bu aşamasında, ilk olarak aynı yaşta olan larvalar elde edilmiştir. Bu işlemlerde, öncelikle 50 erkek ve 50 dişi birey besiyerlerine aktararak çaprazlama yapılmıştır. Bu bireyler en az bir gün aynı ortamda bırakılarak döllenme ve embriyogenezin gerçekleşmesi sağlanmıştır. Daha sonra bireyler yeni bir besin ortamına alınarak sekiz saat boyunca yumurta bırakmaları sağlanmıştır [63]. Bu yumurtalardan gelişen aynı larval evredeki bireylerden, hem deney (300mg ASA, 10 mM, 20, 30mM AcH) hem de kontrol grubu olmak üzere, elliser tane larva besiyerlerine aktarılmış ve aynı işlem beş kez tekrarlanmıştır. Şişeler günde iki defa kontrol edilerek, larvaların kaçının erginleşebildiği, pupalaşamayan larva, ergin hale geçemeyen pupa ve gelişimini tamamlayamayan bireyler sayılmıştır. Erginleşen bireyler ise stereo mikroskop altında fenotipleri incelenerek not edilmiş ve şişeden uzaklaştırılmışlardır. Larva gelişimi F₂ neslinde de gözlenmiştir. Bu aşamada da aynı yöntem kullanılmıştır.

3.5.4. İstatistiksel değerlendirme

Yumurta verimi, gelişimi ve larval gelişiminin değerlendirilmesinde z-testi kullanılmıştır. Her karşılaştırma sonunda yer alan p değeri, 0,05 veya 0,001' den küçük olması durumunda karşılaştırılan iki oran arasındaki fark önemli olarak kabul edilirken, aksi durumda ise fark önemsiz sayılmıştır.

Ömür uzunluğu çalışmasının değerlendirilmesinde Tek Yönlü Varyans Analizi (One-way ANOVA), Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi (Duncan's Multiple Comparison Test) kullanılmıştır. ANOVA' da, p değeri, 0,05'den küçük olması durumunda karşılaştırılan iki oran arasındaki fark önemli olarak kabul edilirken, aksi durumda

ise fark önemsiz sayılmıştır. Sadece dişi bireylerdeki ANOVA değerlendirmesinde, fark önemli bulunmuştur. Bu nedenle hangi iki ortalama arasındaki farkın önemli olduğunun belirlenmesi için Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi uygulanmıştır. Öncelikle alfa değeri 0,05' e eşit olan ortalamalar aynı alt grupta toplanmıştır. Buna göre, aynı grupta yer alan ortalamalar arasında fark önemsiz sayılırken, farklı alt gruplarda yer alan ortalamalar arasında fark önemli olarak kabul edilmiştir. Bu sonuçlara göre gerekli harflendirmeler yapılmıştır.

4. BULGULAR VE TARTIŞMA

4.1. Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin Ergin Bireyler Üzerine Etkileri

4.1.1. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin metamorfoz süresi üzerine etkisi

Yapılan gözlemlerde, yumurtadan itibaren tüm evreler gözlenmiştir. Buna göre, F₁ neslinin kontrol ve deney gruplarında bireylerin, 3. instarın 2. evresine geçişe kadar normal yaşam döngülerine devam ettikleri görülmüştür (Tablo 4.1. ve 4.2.).

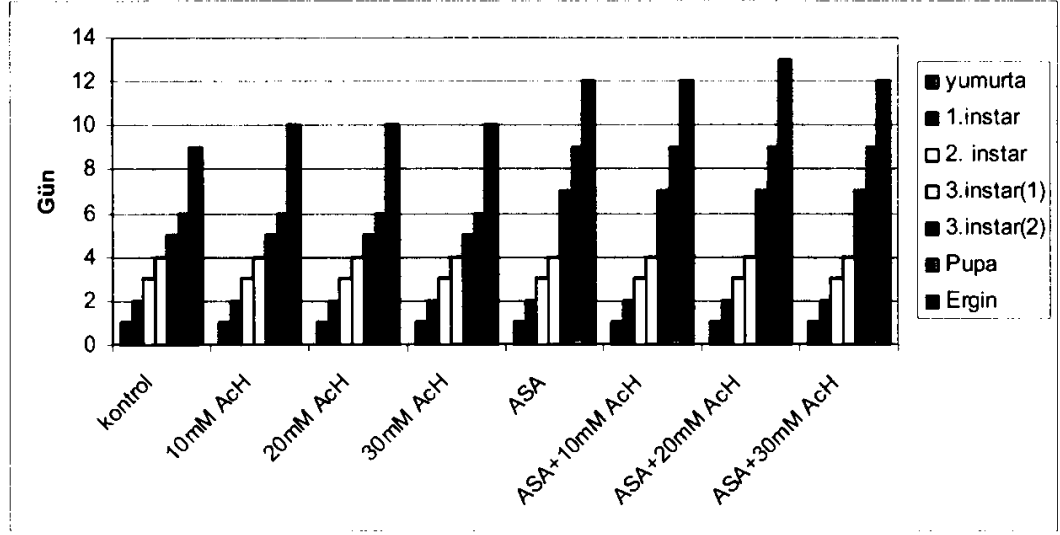
Ancak, ASA ve ASA+AcH deney gruplarında, 3. instarın 2. evresine geçiş iki gün, pupaya geçiş ise bir gün gecikmiştir.

AcH deney grubunda ise ergin evreye geçiş bir gün gecikmiştir.

F₂ neslinde, kontrol ve deney gruplarındaki bireyler pupa evresine kadar normal yaşam döngülerine devam etmiştir (Tablo 4.2). Fakat pupadan ergin evresine geçiş,

Tablo 4.1: F₁ neslinde metamorfoz süresi

Gruplar	Yumurta	1. instar	2. instar	3. instar (1. evre)	3. instar (2. evre)	Pupa	Ergin
Kontrol	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	5 gün	6 gün	9 gün
10mM AcH	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	5 gün	6 gün	10 gün
20mM AcH	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	5 gün	6 gün	10 gün
30mM AcH	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	5 gün	6 gün	10 gün
ASA	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	7 gün	9 gün	12 gün
ASA+10mM AcH	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	7 gün	9 gün	12 gün
ASA+20mM AcH	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	7 gün	9 gün	13 gün
ASA+30mM AcH	1 gün	2 gün	3 gün	4 gün	7 gün	9 gün	12 gün



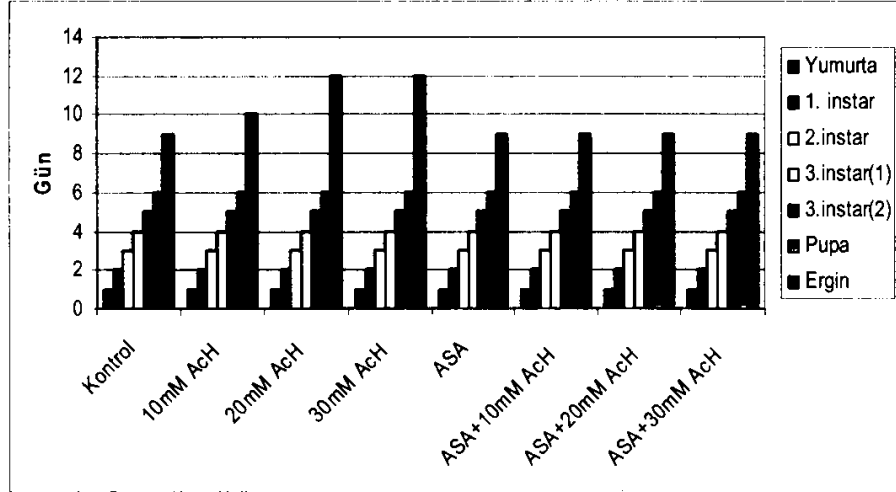
Şekil 4.1: F₁ neslinde metamorfoz süresi

Tablo 4.2: F₂ neslinde metamorfoz süresi

Gruplar	Yumurta	1. instar	2. instar	3. instar (1. evre)	3. instar (2. evre)	Pupa	Ergin
Kontrol	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	9. gün
10mM AcH	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	10. gün
20mM AcH	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	12. gün
30mM AcH	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	12. gün
ASA	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	9. gün
ASA+10mM AcH	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	9. gün
ASA+20mM AcH	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	9. gün
ASA+30mM AcH	1. gün	2. gün	3. gün	4. gün	5. gün	6. gün	9. gün

10mM AcH deney grubunda bir gün, diğer AcH konsantrasyonlarda ise üç gün gecikmiştir. Bu durumda, AcH, F₂ neslinde gelişimi geriletmiştir.

ASA ve ASA+AcH gruplarında normal yaşam döngüsü görülmüş ve F₁ neslinde gözlenen gecikmeler F₂ neslinde devam etmemiştir.



Şekil 4.2: F₂ neslinde metamorfoz süresi

Sonuç olarak, ASA, F₁ neslinde metamorfoz süresini olumsuz olarak etkilemiş gibi gözükmektedir. Bu durumu destekleyen birçok çalışma mevcuttur. Yapılan araştırmalarda sıçan embriolarında salisilatların fetal ölüm, büyümede gecikme ve doğuştan anormalliklere neden olduğu görülmüştür [64]. Başka bir çalışmada, aspirin farelere gebelik dönemlerinde uygulanmış ve fetüs üzerindeki etkileri gözlenmiştir. Buna göre ASA'nın teratojenik etkilerine (karıncık, arta hatta ve diyaframda kusurlar) rastlanmıştır [65]. Ayrıca, kedi ve maymunlarda da benzer etkilere göstermiştir. Farelerde yapılan başka bir çalışmada ise ASA'nın etkisini araştırmış, büyüme ve gelişme parametrelerinin tamamının olumsuz etkilendiği tespit edilmiştir [64]. Fakat ASA'nın toksik etkisi F₂ neslinde devam etmemiştir.

AcH, hem F₁ hem de F₂ neslinde, metamorfoz süresini geciktirmiş gibi gözükmektedir. Yapılan bir araştırmada, embriyo kültürlerinde, asetaldehitin büyüme ve gelişimi, doza bağlı olarak yavaşlattığı görülmüştür [66]. Başka bir çalışmada ise, AcH gebeliğin 9,5 veya 10. gününde eksplante edilmiş sıçanlara uygulanmış ve AcH'in embriyoletalik ve teratojenik etkilere neden olduğu görülmüştür [67]. Bu çalışmalar, AcH'in gözlenen gelişimi geriletici etkisine benzerlik göstermektedir. Ayrıca AcH, genetik bir takım değişikliklere de neden olabilmektedir. Örneğin, yapılan bir çalışmada, insan lenfositlerinde AcH'in gen mutasyonlarına neden olduğu gösterilmiştir [68]. Başka bir çalışmada ise, memeli kültür hücrelerinde kardeş kromatit değişimleri ve kromozom sapmalarına neden olduğu bulunmuştur. [47]. *D. melanogaster*'de yapılan bir çalışmada ise, 2- kloro- asetaldehitin ise çapraz bağlar neden olabileceği görülmüştür [24]. AcH'in etkisi ile gözlenen

gerileme, bu ve benzeri genetik etkilerin *D. melanogaster*' in gelişimini olumsuz etkilemesi nedeniyle ortaya çıkmış olabilir.

ASA+AcH kombinasyonu, F₁ neslinin metamorfoz süresini olumsuz etkilemiş gibi gözükmektedir. F₂ neslinde ise bu etki kaybolmuştur.

4.1.2. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin ömür uzunluğu üzerine etkisi

Yapılan çalışmada, kontrol ve deney gruplarından elde edilen sonuçlar erkek ve dişi bireyler için ayrı değerlendirilmiş, ortalama ömür uzunlukları, konsantrasyonlar arasındaki farklılıklar ve ayrıca en uzun ve en kısa ömür uzunlukları tablolarda ayrıntılı olarak verilmiştir (Tablo 4.3, 4.4, 4.5)

Kontrol ve deney gruplarında, erkek bireylerin ömür uzunluğu değerlerinin birbirine yakın olduğu görülmüştür (Tablo 4.3). Fakat erkek bireylerin konsantrasyonlara göre ömür uzunluğu ortalamaları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.4). Bu durum ASA, AcH ve ASA+AcH deney gruplarının, erkek bireylerin ömür uzunluğu üzerinde, olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisinin olmadığını göstermektedir.

Dişi bireylerin bazı konsantrasyon grupları arasında ortalama ömür uzunlukları açısından farklılıkların olduğu görülmüş (Tablo 4.3) ve bu farklılığı teyit etmek için Tek Yönlü Varyans Analizi uygulanmıştır (Tablo 4.4). Bu analiz sonucunda, en az iki konsantrasyon arasında farklılığın olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Farklılığın hangi konsantrasyonlar arasında olduğunu belirlemek için ise Duncan Çoklu Karşılaştırma Testi yapılmıştır (Tablo 4.5).

Duncan testi sonucunda, kontrol grubu ile sadece ASA+20mM AcH ve ASA+30mM AcH deney grupları arasındaki fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmış ($\alpha\neq 0,05$) ve bu konsantrasyonların ömür uzunluğunu arttırdığı gözlenmiştir.

AcH grubundaki karşılaştırmada ise, konsantrasyonlar arasında istatistiksel olarak farka rastlanmamıştır ($\alpha=0,05$).

Tablo 4.3: Dişi ve erkek bireylerin konsantrasyonlara göre ömür uzunlukları

Cinsiyet	Konsantrasyon	Ortalama Ömür	Standard Hata (\pm)	Standard Sapma	En yüksek	En düşük
Erkek	Kontrol	65,5	1,5	2,1	67	64
	10mM AcH	59,0	0,0	0,0	59	59
	20mM AcH	58,5	7,5	10,6	66	51
	30mM AcH	71,5	3,5	4,9	75	68
	ASA	66,0	2,0	2,8	68	64
	ASA+10mM AcH	65,0	1,0	1,4	66	64
	ASA+20mM AcH	57,0	7,0	9,9	64	50
	ASA+30mM AcH	63,0	0,0	0,0	63	63
Dişi	Kontrol	59,0	8,0	11,3	67	51
	10mM AcH	65,0	0,0	0,0	65	65
	20mM AcH	70,5	4,5	6,4	75	66
	30mM AcH	63,0	7,0	9,9	70	56
	ASA	72,5	3,5	4,9	76	69
	ASA+10mM AcH	70,0	0,0	0,0	70	70
	ASA+20mM AcH	79,0	4,0	5,7	83	75
	ASA+30mM AcH	85,5	0,5	0,7	86	85

ASA ile deney grupları arasında istatistiksel olarak farka rastlanmamıştır (alfa=0,05).

Sonuç olarak, ASA ve AcH ayrı ayrı uygulandıklarında dişi bireylerin ömür uzunlukları üzerine etkisi olmazken, beraber uygulandıklarında yüksek konsantrasyonlarda ömür uzunluklarını arttırmıştır. Erkek bireylerde ise uygulanan maddelerin ömür uzunluğuna herhangi bir etkisi olmamıştır.

Tablo 4.4: Dişi ve erkek ömür uzunlukları ile ilgili ANOVA istatistik tablosu

Cinsiyet		KT	sd	KO	F	p
Erkek	Gruplar arası	326,938	7	46,705	1,498	0,291
	Grup içi	249,500	8	31,188		
	Toplam	576,438	15			
Dişi	Gruplar arası	1040,438	7	148,634	3,676	0,044*
	Grup içi	323,500	8	40,438		
	Toplam	1363,938	15			

*p: Önem ve $p < 0,05$ ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

**sd : Serbestlik Derecesi,

F : F-İstatistiği

KT : Kareler toplamı

KO : Ortalama kare

Tablo 4.5: Dişi bireylerin ömür uzunluğu ile ilgili Duncan istatistik tablosu

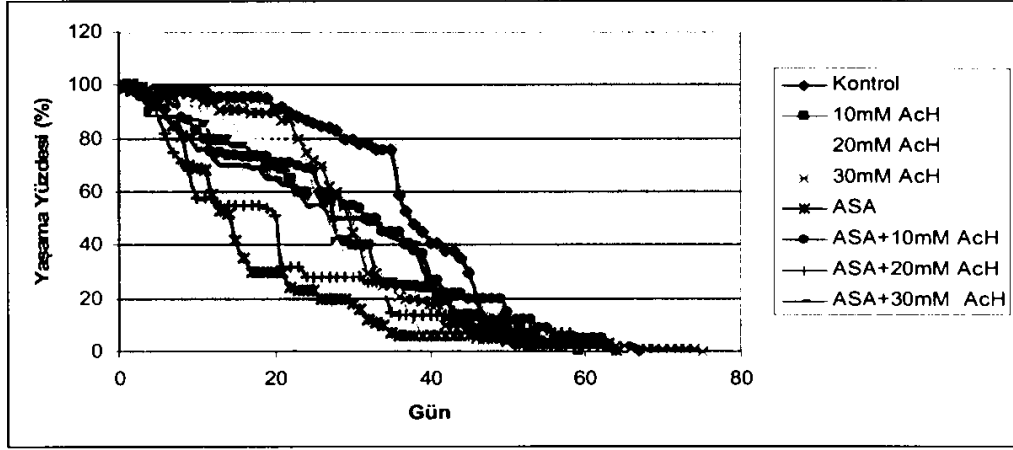
Konsantrasyon	n	Ortalama ömür uzunlukları
Kontrol	2	59,00 ^a
30mM AcH	2	63,00 ^a
10mM AcH	2	65,00 ^{ab}
ASA+10mM AcH	2	70,00 ^{abc}
20mM AcH	2	70,50 ^{abc}
ASA	2	72,50 ^{abc}
ASA+20mM AcH	2	79,00 ^{bc}
ASA+30mM AcH	2	85,50 ^c

* Aynı harfi taşıyan değerler arasındaki fark istatistiksel olarak önemsizdir (alfa=0.05)

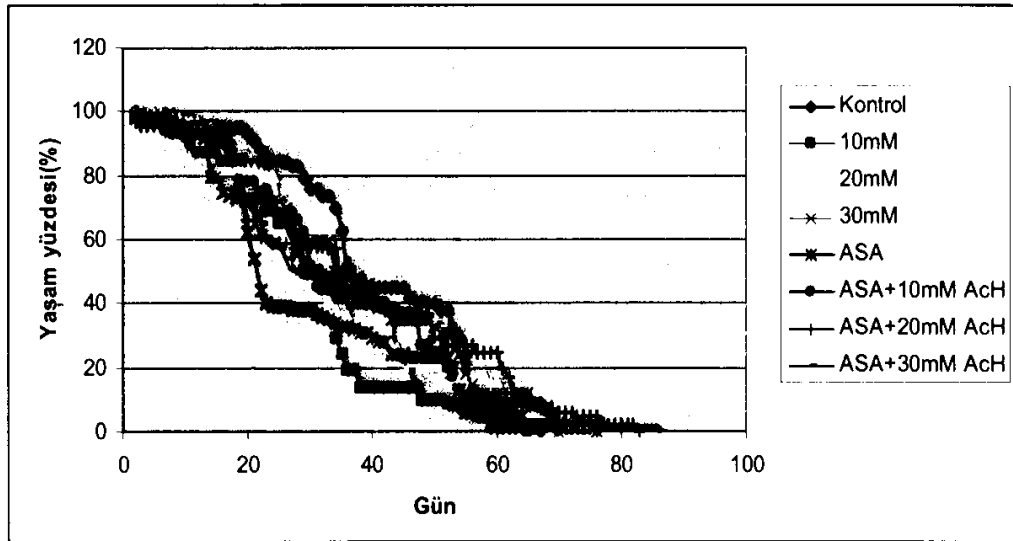
** n: Deneme sayısı

Uygulanan maddelerin erkek bireylerin yaşam yüzdeleri üzerine etkileri incelendiğinde, yaklaşık olarak altıncı günden sonra kontrol grubuna göre farklılık gözlenmeye başlanmıştır. Yaşam eğrilerinde, ASA ve ASA+20mM AcH kombinasyonunun birey sayısını diğerlerine göre daha hızlı düşürdüğü görülmektedir (Şekil 4.3). Yaşama yüzdesinin % 50 olduğu günler, kontrol grubunda 37. gün iken, 10mM' da 28. gün, 20mM AcH' da 26. gün, 30mM AcH' da ise 30. gün, ASA+10mM AcH' da 32. gün, ASA+20mM AcH' da 20. gün, ASA+30mM AcH'da ise 31. gün, ASA grubunda ise 14. gün olduğu tespit edilmiştir (Tablo 3.7). Bu

değerlere bakıldığında aspirinin birey sayısı üzerinde olumsuz etkisi olduğu görülmektedir.



Şekil 4.3: Erkek bireylerde yaşam eğrisi



Şekil 4.4: Dişi bireylerin yaşam eğrisi

Dişi bireylerin yaşam yüzdelerine ait veriler Şekil 4.4.' de verilmiştir. Buna göre kontrol grubunda 36. günde bireylerin %50' si hayatta kalırken, 10mM AcH'ta 29. günde, 20mM AcH'ta 27. günde, 30mM AcH'ta 34. günde, ASA'da 21. günde, ASA+10mM AcH'ta 30. günde, ASA+20mM AcH' ta 38. günde, ASA+30mM AcH grubunda ise 27. günde hayatta kalmıştır. Bu durumda, aspirinin birey sayısını olumsuz etkilediği düşünülebilir.

Aslında her ne kadar yaşlanma ve ömür uzunluğunun temel mekanizmaları henüz tam olarak anlaşılammış olsa da, bu sürecin ertelenebileceği savunulmaktadır [69].

Bu çalışmada, ASA bireylerin yaşam yüzdelerini olumsuz etkilemiş gibi gözükse de erkek ve dişi bireylerin ömür uzunluğu üzerinde olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkiye neden olmamıştır. Fakat yapılan çalışmalarda, değişik sonuçlara rastlanmıştır. Örneğin, insanlar üzerinde yapılan bir araştırmada, oldukça yaşlı bireyler beş yıl takip edilmiş ve günlük aspirin kullanan bireylerin ömür uzunluğunun kullanmayanlara göre arttığı bulunmuştur [70]. Bir başka çalışmada, aspirinin insanların kolon kanseri, kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi çeşitli hastalıklar nedeni ile ölüm oranını düşürdüğü gözlenmiştir [71]. Diğer bir çalışmada, aspirinin erkek farelerin ömür uzunluğunu arttırdığı görülmüştür [72]. Sandoff hastası olan farelere aspirin verilmesi sonucunda ise, yaşam süresinin arttığı ve hastalık gelişiminin azaldığı ifade edilmiştir [73]. Fakat diyabetli hastalarda yapılan bir araştırmada, aspirin kullanan bireylerde mortalitenin arttığı görülmüştür [74].

Bu çalışmada erkek ve dişi bireylere AcH uygulandığında ömür uzunluğunun değişmediği görülmüştür. Fakat diğer çalışmalarda olumlu ya da olumsuz çeşitli sonuçlara rastlanmıştır. Bir araştırmada dayanıklı bazı tohumlarda (*Ligustrum japonicum*, *Quercus serrata*, *Quercus myrsinaefolia* and *Camellia japonica*), eksojen olarak düşük dozda asetaldehit uygulanması sonucunda bütün tohumların canlılığın kaybolduğu, yüksek dozda ise *Quercus myrsinaefolia* and *Camellia japonica*' da ölüm gerçekleştiği görülmüştür [75]. Sıçanlar üzerinde yapılan bir denemede ise AcH' in mortaliteyi arttırdığı gözlenmiştir [76]. Fakat karanfiller üzerinde yapılan bir çalışmada asetaldehitin vazo ömrünü oldukça arttırdığı gözlenmiştir [77].

ASA+AcH kombinasyonun, erkek bireylerin ömür uzunluğu üzerinde herhangi bir etkisi olmamış, dişi bireylerde ise yüksek konsantrasyonlarda ömür uzunluğunu arttırmıştır.

4.1.3. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin yumurta verimi üzerine etkisi

Maddelere maruz bırakılan bireylerin F_1 ve F_2 nesillerinde bıraktıkları yumurta sayıları ve bu sayıların karşılaştırılmalarını içeren istatistikler tablo 4.6 ve 4.7' de verilmiştir. Buna göre F_1 neslinin bütün deney gruplarında yumurta verimi düşmüştür ($p<0,001$).

ASA ve ASA+AcH deney grupları arasında istatistiksel olarak bir fark bulunmamıştır ($p>0,05$). Ayrıca bu deney gruplarının yumurta verimi, AcH deney grubuna göre daha düşük çıkmıştır ($p<0,001$). Bu durumda ASA ve ASA+AcH deney gruplarının, AcH deney grubuna göre daha toksik olduğu düşünülebilir.

F_2 neslinde, tüm deney gruplarının yumurta sayıları, kontrol grubuna göre daha yüksek çıkmıştır ($p<0,001$). Bu durum, maddelerin toksisitesi nedeni ile F_1 neslindeki bireylerin, neslini tehlikeye sokmamak için, bir sonraki nesilde yumurta sayısını arttırmasından kaynaklanmış olabilir.

ASA ile AcH' in yüksek konsantrasyonları arasındaki fark anlamlı çıkmamıştır ($p>0,05$).

ASA+AcH deney grubunun yumurta verimi, genel olarak, ASA ve AcH gruplarına göre yüksek çıkmıştır ($p<0,05$, $p<0,001$). Ayrıca, ASA+AcH' in yumurta verimi kontrol grubuna göre de oldukça fazladır. Bu nedenle, bu maddelere karşı F_2 neslinde direnç geliştirmiş olduğu düşünülebilir.

Sonuç olarak, ASA ve AcH uygulamaları, F_1 neslinde yumurta verimini düşürmüş, F_2 neslinde ise yükseltmiştir. Yapılan bir araştırmada, ASA tavuklar üzerinde denenmiş ve bunun sonucunda aspirinin doğurganlığı azalttığı bulunmuştur [78]. AcH' in gelişim üzerine etkileri bazı araştırmacılar tarafından incelenmiştir. Sıçanlarda yapılan bir çalışmada, büyümede gecikme, fetal rezorpsiyon ve çeşitli malformasyonlara rastlanmıştır [79]. Başka bir çalışmada, asetaldehit uygulanan sıçanlarda embriyoletal etkiler görülmüştür. Bu etkilerin ise kromozomal sapmalar ve gelişimsel anormallikler nedeniyle oluştuğu ifade edilmiştir [80]. *D. melanogaster*'

Tablo 4.6: F₁ neslinde maddelerin yumurta verimine etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Yumurta sayısı	Zdeğeri (yumurta)	p değeri(dişi)
F ₁	Kontrol (G1)	1662	(G1-G2) 16.098 (G1-G3) 11.460 (G1-G4) 13.368 (G1-G5) 23.850 (G1-G6) 23.510 (G1-G7) 22.892 (G1-G8) 22.419	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**
	10mM AcH (G2)	925	(G2-G3) -4.650 (G2-G4) -2.740 (G2-G5) 7.868 (G2-G6) 7.519 (G2-G7) 6.886 (G2-G8) 6.403	0.00000** 0.00307* 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**
	20mM AcH (G3)	1120	(G3-G4) 1.911 (G3-G5) 12.486 (G3-G6) 12.139 (G3-G7) 11.511 (G3-G8) 11.031	0.02801* 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**
	30mM AcH (G4)	1038	(G4-G5) 10.591 (G4-G6) 10.243 (G4-G7) 9.613 (G4-G8) 9.131	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**
	ASA (G5)	632	(G5-G6) -0.351 (G5-G7) -0.988 (G5-G8) -1.474	0.36261 0.16151 0.07027
	ASA+10mM AcH (G6)	644	(G6-G7) -0.637 (G6-G8) -1.122	0.26213 0.13085
	ASA+20mM AcH (G7)	666	(G7-G8) -0.486	0.31362
	ASA+30mM AcH (G8)	683		

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

Tablo 4.7: F₂ neslinde maddelerin yumurta verimine etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Yumurta sayıları	Z değeri	p değeri (Dişi)
F ₂	Kontrol (G9)	461	(G9-G10) -16.068 (G9-G11) -9.244 (G9-G12) -8.951 (G9-G13) -9.244 (G9-G14) -15.606 (G9-G15) -10.937 (G9-G16) -32.305	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**
	10mM AcH (G10)	1048	(G10-G11) 6.939 (G10-G12) 7.234 (G10-G13) 6.939 (G10-G14) 0.473 (G10-G15) 5.227 (G10-G16) -16.546	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.31817 0.00000** 0.00000**
	20mM AcH (G11)	771	(G11-G12) 0.297 (G11-G13) 0.000 (G11-G14) -6.467 (G11-G15) -1.716 (G11-G16) -23.432	0.38337 0.50000 0.00000** 0.04309* 0.00000**
	30mM AcH (G12)	760	(G12-G13) -0.297 (G12-G14) -6.763 (G12-G15) -2.012 (G12-G16) -23.723	0.38337 0.00000** 0.02208* 0.00000**
	ASA (G13)	771	(G13-G14) -6.467 (G13-G15) -1.716 (G13-G16) -23.432	0.00000** 0.04309* 0.00000**
	ASA+10mM AcH(G14)	1028	(G14-G15) 4.755 (G14-G16) -17.017	0.00000** 0.00000**
	ASA+20mM AcH(G15)	836	(G15-G16) -21.742	0.00000**
	ASA+30mM AcH (G16)	1840		

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

de cinsiyete bağlı resesif letalite testi test denemesi yapılmış ve sonuç pozitif çıkmıştır [23]. Sözü edilen araştırmalar, bu çalışmadaki ASA ve AcH' in olası toksisitesini destekleyebilecek niteliktedir.

ASA+AcH kombinasyonunda F₁ neslinde yumurta verimi düşerken, F₂ neslinde artmıştır. Direkt bu iki madde ile yapılmış bir çalışma bulunmasa da ASA'nın etanol (asetaldehit etanolün en önemli metabolitidir) zerinde etkilerini inceleyen bira çalışma bulunmaktadır. Yapılan bir çalışmada etanolün sperm yoğunluğu, sperm hareketlilik yüzdesini düşürdüğü gözlenmiştir. n denemede uygulanan ASA'nın etanolün etkisini yok edemediği grlmştir. Fakat ayrı ayrı ve kronik olarak uygulanan bu maddelerin sıçanların spermlerinde toksik etki yaratırken, iftleşmelerinde bozukluklar meydana geldiği grlmştir [81]. Bu alışma, ASA+AcH' in F₁ neslindeki toksisitesini, ayrıca ASA ve AcH' in da olumsuz etkilerini, destekler niteliktedir.

4.1.4. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin yumurta gelişimi üzerine etkisi

F₁ ve F₂ nesillerinde maddelere maruz kalan bireylerin yumurta sayıları, bu yumurtalardan oluşan larva sayıları ve bu sayıların karşılaştırılmalarını içeren istatistikler tablo 4.8 ve 4.9'da verilmiştir. Buna göre F₁ neslinde gelişen larva sayısı, bütün deney gruplarında dşmştir (p<0.001).

Deney grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında, AcH deney grubunda larva gelişimi, genel olarak ASA ve ASA+AcH gruplarına göre daha yüksektir (p<0,001).

ASA+AcH'in yüksek konsantrasyonlarında larva sayısının ASA'ya göre yüksek olduğu grlmştir (p<0,001). Bu artış gelişim yüzdesinde de görülmektedir. Ayrıca ASA+AcH' in yüksek konsantrasyonlarındaki gelişim yüzdesinin kontrol grubuna göre de oldukça fazla arttığı grlmştir. Sonuç olarak, uygulanan bütün maddelerin, ASA+AcH' in yüksek konsantrasyonları hariç, F₁ neslinde (zellikle ASA) toksik etki yaptığı söylenebilir. ASA+AcH deney grubunda ise larvaların bu kombinasyona karşı direnç göstermiş olabileceği düşünülebilir.

Tablo 4.8: F₁ neslinde maddelerin yumurta gelişimine etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Yumurta sayısı	Zdeğeri (yumurta)	p değeri dişi	Larva sayısı	Zdeğeri (larva)	p değeri (larva)	Gelişim yüzdesi
F ₁	Kontrol (G1)	1662	(G1-G2) 16.098 (G1-G3) 11.460 (G1-G4) 13.368 (G1-G5) 23.850 (G1-G6) 23.510 (G1-G7) 22.892 (G1-G8) 22.419	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	1295	(G1-G2) 16.424 (G1-G3) 10.648 (G1-G4) 10.990 (G1-G5) 22.561 (G1-G6) 22.695 (G1-G7) 17.398 (G1-G8) 16.307	0.00000** 0.00000 ** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	77,91
	10mM AcH (G2)	925	(G2-G3) -4.650 (G2-G4) -2.740 (G2-G5) 7.868 (G2-G6) 7.519 (G2-G7) 6.886 (G2-G8) 6.403	0.00000** 0.00307* 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	643	(G2-G3) -5.802 (G2-G4) -5.460 (G2-G5) 6.484 (G2-G6) 6.422 (G2-G7) 0.987 (G2-G8) -0.118	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.16172 0.45297	69,51
	20mM AcH (G3)	1120	(G3-G4) 1,911 (G3-G5) 12,486 (G3-G6) 12,139 (G3-G7) 11,511 (G3-G8) 11,031	0.02801* 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	852	(G3-G4) 0,342 (G3-G5) 12,036 (G3-G6) 12,173 (G3-G7) 6,786 (G3-G8) 5,684	0.36611 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	76,07
	30mM AcH (G4)	1038	(G4-G5) 10,591 (G4-G6) 10,243 (G4-G7) 9,613 (G4-G8) 9,131	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	839	(G4-G5) 11,698 (G4-G6) 11,835 (G4-G7) 6,445 (G4-G8) 5,342	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	80,83
	ASA (G5)	632	(G5-G6) -0,351 (G5-G7) -0,988 (G5-G8) -1,474	0.36261 0.16151 0.07027	446	(G5-G6) 0,140 (G5-G7) -5,301 (G5-G8) -6,401	0.44444 0.00000** 0.00000**	70,57
	ASA+10mM AcH (G6)	644	(G6-G7) -0,637 (G6-G8) -1,122	0.26213 0,13085	442	(G6-G7) -5,440 (G6-G8) -6,540	0.00000** 0.00000**	68,63
	ASA+20mM AcH (G7)	666	(G7-G8) -0,486	0.31362	610	(G7-G8) -1,106	0.13446	91,59
	ASA+30mM AcH(G8)	683			647			94,73

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

Tablo 4.9: F₂ neslinde maddelerin yumurta gelişimine etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Yumurta sayısı	Zdeğeri (yumurta)	p değeri (dişi)	Larva sayısı	Zdeğer, (larva)	p değeri (larva)	Gelişim yüzdesi
F2	Kontrol (G9)	461	(G9-G10) -16.068 (G9-G11) -9.244 (G9-G12) -8.951 (G9-G13) -9.244 (G9-G14) -15.606 (G9-G15) -10.937 (G9-G16) -32.305	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	383	(G9-G10) -8.422 (G9-G11) -5.980 (G9-G12) -9.488 (G9-G13) -5.980 (G9-G14) -11.945 (G9-G15) -10.081 (G9-G16) -34.750	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.00000**	83.08
	10mM AcH (G10)	1048	(G10-G11) 6.939 (G10-G12) 7.234 (G10-G13) 6.939 (G10-G14) 0.473 (G10-G15) 5.227 (G10-G16) 16.546	0.00000** 0.00000** 0.00000** 0.31817 0.00000** 0.00000**	640	(G10-G11) 2.465 (G10-G12) -1.080 (G10-G13) 2.465 (G10-G14) -3.576 (G10-G15) -1.681 (G10-G16) -26.651	0.00685* 0.14008 0.00685* 0.00017** 0.04635* 0.00000**	61.07
	20mM AcH (G11)	771	(G11-G12) 0.297 (G11-G13) 0.000 (G11-G14) -6.467 (G11-G15) -1.716 (G11-G16) 23.432	0.38337 0.50000 0.00000** 0.04309* 0.00000**	559	(G11-G12) -3.544 (G11-G13) 0.000 (G11-G14) -6.035 (G11-G15) -4.144 (G11-G16) -29.065	0.00020** 0.50000 0.00000** 0.00002** 0.00000**	72,5
	30mM AcH (G12)	760	(G12-G13) -0.297 (G12-G14) -6.763 (G12-G15) -2.012 (G12-G16) 23.723	0.38337 0.00000** 0.02208* 0.00000**	677	(G12-G13) -3.544 (G12-G14) 0.0000 (G12-G15) -6.035 (G12-G16) -4.144	0.00020** 0.50000 0.00000** 0.00002**	89.08
	ASA (G13)	771	(G13-G14) -6.467 (G13-G15) -1.716 (G13-G16) 23.432	0.00000** 0.04309* 0.00000**	559	(G13-G14) -6.035 (G13-G15) -4.144 (G13-G16) -29.065	0.00000** 0.00002** 0.00000**	72.5
	ASA+10mM AcH (G14)	1028	(G14-G15) 4.755 (G14-G16) 17.017	0.00000** 0.00000**	766	(G14-G15) 1.896 (G14-G16) -23.102	0.02901* 0.00000**	74,51
	ASA+20mM AcH (G15)	836	(G15-G16) -21.742	0.00000**	698	(G15-G16) -24.988	0.00000**	83,49
	ASA+30mM AcH(G16)	1840			1780			96,74

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

F₂ neslinde, larva sayısı bütün deney gruplarında kontrol grubuna göre artmıştır (p<0,001). Gelişim yüzdesi tüm gruplarda -ASA+AcH deney grubunun yüksek konsantrasyonları hariç- ortalama olarak yakın çıkmıştır. Bu nedenle gelişim oranı açısından deney grupları arasında fark yoktur.

ASA+AcH deney grubunda yüksek konsantrasyonlardaki gelişim yüzdesi F₁ nesli ve yumurta verimi çalışmasına paralel olarak oldukça yüksek çıkmıştır. Bu durumda canlının bu iki maddenin kombinasyonuna karşı bu nesilde de direnç devam etmiş olabileceği söylenebilir.

Sonuç olarak, her iki nesilde, ASA+AcH' in yüksek konsantrasyonları hariç, gelişim oranı açısından fark olmadığı ifade edilebilir. Buradaki sonuçlar, yumurta verimindeki sonuçlarla benzer çıkmıştır. Bu durum, maddelerin toksik etkisi nedeni ile türün yok olmasını engellemek amacıyla F₂ neslinde yumurta verimini arttırdığı, buna bağlı olarak larva sayısında artış olduğu, ancak gelişim oranı açısından ise farklılık çıkmamıştır denilebilir. ASA+AcH' in yüksek konsantrasyonlarının ise canlıda direnç oluşumuna neden olduğu söylenebilir.

ASA ile yapılan bazı çalışmalarda, aspirinin ana metabolitleri olan o-hidroksipürik asit *Daphnia* üzerinde denenmiş ve bu maddenin kronik uygulamada yeni oluşan yavrularda anormallikler gözlenmiştir. Salisilik asit ve gentisik asit bireylerin normal gelişim ve üremesinde bazı değişikliklere neden olmuştur [82]. Yapılan başka bir çalışmada, asetil salisilik asitin sıçan embriyoları üzerine etkisi araştırılmış ve embriyoların boy uzunluğu ve protein içeriklerinde azalma görülmüştür. Oluşan kusurlar ise ödemli yüz malformasyonları ve kuyruk anormalliği olarak tespit edilmiştir [83]. Bu çalışmalar ise ASA' nın neden olduğu olumsuz etkisiyi destekler niteliktedir.

AcH ile yapılan birçok çalışmada asetaldehitin canlıların gelişimine olumsuz etkiler gösterdiği görülmüştür. Örneğin asetaldehit, üç farklı tavuk ırkı üzerine etkisi araştırılmış ve kullanılan konsantrasyonlarda embriyonik ağırlığın azaldığı, yaşama ve büyümede teratojenik etkileri olduğu görülmüştür [84]. Bir başka çalışmada

asetaldehit uygulanan fare fetüslerinin uygulanmayanlara göre daha küçük ve boylarının daha kısa olduğu görülmüştür [85]. Sözü edilen araştırmalar, bu çalışmada görülen AcH' in olumsuz etkisini desteklemektedir.

Bu çalışmada, yumurta verimi gibi yumurta gelişiminde de ASA+AcH' in *D. melanogaster*' de direnç gelişimine neden olduğu düşünülmektedir. Bu durumu destekleyen çalışmalar bulunmaktadır. Örneğin, *D. melanogaster*' in sahip olduğu değişken birtakım özellikleri sayesinde adaptasyonun moleküler temellerinin karakterizasyonu için oldukça avantajlı bir organizma olduğu bilinmektedir [86, 87]. Ayrıca, bira ve sirke kadar fazla miktarda etanol içeren meyvelerle beslenme eğiliminde olan *D. melanogaster*, etanol direnci için oldukça önemli bir bilgi kaynağı olarak kabul edilmektedir. Yapılan araştırmalarda, farklı kıtalardan toplanan *D. melanogaster* ırklarında, etanol direnci ile tolerans arasında pozitif bir korelasyon olduğu tespit edilmiştir [88]. Günümüzde tedavi amacıyla sıklıkla kullanılan aspirinin ise insanda standart kullanımdaki antitrombotik dozlarında % 10- 40 arasında değişen sıklıkta direnç geliştirebileceği bildirilmiştir [89]. Başka bir çalışmada da salisilatların etkisiyle *Escherichia coli*' de bazı antibiyotiklere karşı direnç oluştuğu saptanmıştır [90]. Bunların dışında salisilatların bitkilerde patojenlere karşı savunmada fitohormon olarak görev yaptığı da bilinmektedir [91]. Bu nedenlerle ASA+AcH yüksek konsantrasyonlarda *D. melanogaster*' de direnç gelişimine neden olmuş olabilir.

4.2. Larvalar Üzerine Asetil Salisilik Asit ve Asetaldehitin Etkisi

4.2.1. Bireylerin morfolojik özellikleri üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi

4.2.1.1. Dişi bireylerin morfolojik özellikleri üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi

Madde içeren besiyerinde gelişen bireylerde çeşitli morfolojik anormallikler gözlenmiştir. Bu anormallikler, kıvrık kanatlılık, mızrak kanatlılık, püskül kanatlılık,

Tablo 4.10: Dişi bireylerin F₁ neslinde morfolojik anormallik oranları

Nesil	Konsantrasyon	Normal dişi birey sayısı	Anormal dişi birey sayısı	Anormal dişi birey yüzdesi	Z değeri	p değeri
F ₁	Kontrol (G1)	86	0	0	(G1-G2) -1.317 (G1-G3) -3.629 (G1-G4) -1.759 (G1-G5) -2.681 (G1-G6) 1.349 (G1-G7) 1.261 (G1-G8) -1.686	0.09393 0.00014** 0.03932* 0.00367* 0.08871 0.10370 0.04592*
	10mM AcH (G2)	103	0	0	(G2-G3) -2.317 (G2-G4) -0.442 (G2-G5) -1.366 (G2-G6) 2.662 (G2-G7) 2.574 (G2-G8) -0.369	0.01025* 0.32915 0.08589 0.00389* 0.00503* 0.35596
	20mM AcH (G3)	136	1	0.73	(G3-G4) 1.875 (G3-G5) 0.951 (G3-G6) 4.962 (G3-G7) 4.875 (G3-G8) 1.948	0.03037* 0.17070 0.00000** 0.00000** 0.02569*
	30mM AcH (G4)	109	5	4,39	(G4-G5) -0.924 (G4-G6) 3.101 (G4-G7) 3.014 (G4-G8) 0.073	0.17763 0.00096** 0.00129* 0.47091
	ASA (G5)	122	2	1.64	(G5-G6) 4.019 (G5-G7) 3.932 (G5-G8) 0.997	0.00003** 0.00004** 0.15928
	ASA+10mM AcH (G6)	70	3	4,29	(G6-G7) -0.088 (G6-G8) -3.029	0.46487 0.00123*
	ASA+20mM AcH (G7)	71	2	2,82	(G7-G8) -2.941	0.00163*
	ASA+30mM AcH (G8)	108	2	1,85		

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

Tablo 4.11: Dişi bireylerin F₂ neslinde morfolojik anormallik oranları

Nesil	Kontrasyn	Normal dişi birey sayısı	Anormal dişi birey sayısı	Anormal dişi birey yüzdesi	Z değeri	p değeri
F ₂	Kontrol (G9)	96	1	1,04	(G9-G10) -0.677 (G9-G11) -1.612 (G9-G12) -1.682 (G9-G13) -2.370 (G9-G14) -0.824 (G9-G15) 2.850 (G9-G16) -0.077	0.24919 0.05346 0.04626* 0.00891* 0.20496 0.00219* 0.46949
	10mM AcH (G10)	105	2	1,87	(G10-G11) -0.936 (G10-G12) -1.006 (G10-G13) -1.694 (G10-G14) -0.147 (G10-G15) 3.521 (G10-G16) 0.601	0.17473 0.15727 0.04516* 0.44155 0.00021** 0.27408
	20mM AcH (G11)	118	6	4,84	(G11-G12) -0.070 (G11-G13) -0.759 (G11-G14) 0.789 (G11-G15) 4.446 (G11-G16) 1.536	0.47204 0.22407 0.21516 0.00000** 0.06230
	30mM AcH (G12)	119	5	4,03	(G12-G13) -0.688 (G12-G14) 0.859 (G12-G15) 4.515 (G12-G16) 1.606	0.24560 0.19523 0.00000** 0.05416
	ASA (G13)	129	6	4,44	(G13-G14) 1.547 (G13-G15) 5.194 (G13-G16) 2.293	0.06095 0.00000** 0.01092*
	ASA+10mM AcH (G14)	107	6	5,61	(G14-G15) 3.666 (G14-G16) 0.748	0.00012** 0.22738
	ASA+20mM AcH (G15)	62	3	4,84	(G15-G16) -2.926	0.00172*
	ASA+30mM AcH (G16)	97	3	3,09		

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

abdominal bozukluk ile birlikte kanat körelmesi ve tibia da körelme şeklindeki fenotipik bozukluklardır. Genel olarak, F₁ ve F₂ neslinde bütün deney gruplarının anormal birey yüzdesi artmıştır.

F₁ neslinde, ASA ve AcH deney gruplarında normal birey sayısı artmıştır (p<0,001 ve p<0,05) (Tablo 4.10).

ASA+AcH deney grubunun düşük konsantrasyonlarında normal birey sayısı düşmüştür. Fakat istatistiksel olarak fark anlamlı çıkmamıştır (p>0,05). ASA+30 mM AcH' ta ise normal birey sayısı artmıştır (p<0,05). Bu durum, düşük konsantrasyonlarda ASA+AcH deney grubunun normal birey sayısını düşürmüş olabileceğini düşündürmektedir.

F₂ neslinde, AcH deney grubunun normal birey sayısını arttırdığı görülmüştür. Fakat bu konsantrasyonlardan sadece 30mM AcH' taki artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05) (Tablo 4.11).

ASA' nın kontrol grubuna göre normal birey sayısını arttırdığı görülmüş ve bu artış istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (p<0,05).

ASA+AcH deney grubu genel olarak normal birey sayısını etkilememiştir. Ancak, ASA+20mM AcH' in normal birey sayısını oldukça düşürmüştür (p<0,05). Bu durum, ASA+AcH deney grubu normal birey sayısını olumsuz etkilemiş olabileceğini düşündürmektedir.

Sonuç olarak, ASA ve AcH' in ayrı ayrı kullanımı her iki nesilde de normal birey sayısını arttırmıştır. ASA ve AcH' in birlikte uygulanması ile bu olumlu etki kaybolmuş gibi gözükmemektedir.

4.2.1.2. Erkek bireylerin morfolojik anormallik oranları üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi

Deney gruplarında bir takım morfolojik anormalliklere rastlanılmıştır. Bu anormallikler, püskül kanatlılık, kıvrık kanatlılık, bacakta segment eksikliği ve abdomen bozukluğu şeklindedir.

F₁ neslinde, AcH konsantrasyonları, normal birey sayısında istatistiksel olarak bir farka neden olmamıştır ($p>0,05$).

ASA içeren deney grubunda normal birey sayısının düştüğü görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmamıştır ($p>0,05$).

ASA+AcH deney gruplarında ise normal birey sayısının düştüğü görülmüştür. Ancak istatistiksel olarak sadece düşük kombinasyonlarındaki fark anlamlı bulunmuştur ($p<0,01$ ve $p<0,05$).

Bütün deney gruplarında -10 mM AcH hariç- anomal birey yüzdesi artmıştır. Bu artışın en fazla ASA+ AcH' in yüksek kombinasyonlarında olduğu görülmüştür.

F₂ neslinde AcH konsantrasyonları normal birey sayısını arttırmıştır. Fakat bu artış, yalnızca 10mM AcH' ta anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$).

ASA normal birey sayısında herhangi bir değişikliğe neden olmamıştır ($p>0,05$).

ASA+AcH kombinasyonları, genel olarak, normal birey sayısını etkilememiştir ($p>0,05$). Ancak ASA+20mM AcH' ta normal birey sayısı azalmıştır ($p<0,05$). Bu durumda, bu deney grubu normal birey sayısını olumsuz etkilemiş olabilir.

Anormal birey yüzdesi ise özellikle ASA ve ASA+AcH deney gruplarında artmıştır. Bu artış en fazla ASA+AcH' in yüksek kombinasyonlarında görülmüştür.

Tablo 4.12: Erkek bireylerin F₁ neslinde morfolojik anormallik oranları

Nesil	Konsantrasyon	Erkek normal birey sayısı	Anormal erkek birey sayısı	Anormal erkek birey yüzdesi	Z değeri	p değeri
F ₁	Kontrol (G1)	102	0	0	(G1-G2) -0.449	0.32669
					(G1-G3) 1.583	0.05668
					(G1-G4) -0.301	0.38188
					(G1-G5) 1.255	0.10479
					(G1-G6) 2.261	0.01188*
					(G1-G7) 4.003	0.00003**
	(G1-G8) 1.093	0.13723				
	10mM AcH (G2)	108	0	0	(G2-G3) 2.032	0.02109*
					(G2-G4) 0.149	0.44097
(G2-G5) 1.703					0.04425**	
(G2-G6) 2.709					0.00338*	
(G2-G7) 4.447					0.00000**	
(G2-G8) 1.542	0.06159					
20mM AcH (G3)	82	1	1,2	(G3-G4) -1.883	0.02982**	
				(G3-G5) -0.329	0.37109	
				(G3-G6) 0.680	0.24840	
				(G3-G7) 2.434	0.00747*	
(G3-G8) -0.491	0.31173					
30mM AcH (G4)	106	3	2,75	(G4-G5) 1.555	0.05997	
				(G4-G6) 2.561	0.00522**	
				(G4-G7) 4.300	0.00001**	
				(G4-G8) 1.393	0.08178	
ASA (G5)	86	1	1,15	(G5-G6) 1.008	0.15665	
				(G5-G7) 2.760	0.00289*	
				(G5-G8) -0.162	0.43565	
ASA+10mM AcH (G6)	74	1	1,35	(G6-G7) 1.758	0.03942*	
				(G6-G8) -1.170	0.12097	
ASA+20mM AcH (G7)	55	5	9,09	(G7-G8) -2.921	0.00174*	
ASA+30mM AcH (G8)	88	6	6.82			

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

Tablo 4.13: Erkek bireylerin F₂ neslinde morfolojik anormallik oranları

Nesil	Konsantrasyon	Erkek normal birey sayısı	Anormal erkek birey sayısı	Anormal erkek birey yüzdesi	Z değeri	p değeri
F ₂	Kontrol (G9)	82	0	0	(G9-G10) -1.740 (G9-G11) -0.492 (G9-G12) -1.127 (G9-G13) 0.0000 (G9-G14) 0.0000 (G9-G15) 1.955 (G9-G16) 0.422	0.04093* 0.31119 0.12982 0.50000 0.50000 0.02528* 0.33638
	10mM AcH (G10)	104	1	0,95	(G10-G11) 1.248 (G10-G12) 0.613 (G10-G13) 1.740 (G10-G14) 1.740 (G10-G15) 3.666 (G10-G16) 2.161	0.10600 0.26984 0.04092* 0.04092* 0.00011** 0.01533*
	20mM AcH (G11)	88	0	0	(G11-G12) -0.635 (G11-G13) 0.492 (G11-G14) 0.492 (G11-G15) 2.445 (G11-G16) 0.915	0.26272 0.31119 0.31119 0.00723* 0.18018
	30mM AcH (G12)	96	0	0	(G12-G13) 1.127 (G12-G14) 1.127 (G12-G15) 3.077 (G12-G16) 1.549	0.12982 0.12982 0.00105* 0.06068
	ASA (G13)	82	2	2,38	(G13-G14) 0.0000 (G13-G15) 1.955 (G13-G16) 0.422	0.50000 0.02528* 0.33638
	ASA+10mM AcH (G14)	82	1	1,22	(G14-G15) 1.955 (G14-G16) 0.422	0.02528* 0.33638
	ASA+20mM AcH (G15)	60	3	5	(G15-G16) -1.534	0.06250
	ASA+30mM AcH (G16)	77	3	3,9		

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

Sonuç olarak, ASA+AcH kombinasyonlarının, her iki nesilde de normal birey sayısını düşürmüş gibi gözükmektedir. AcH, normal birey sayısını olumlu etkilemiş olabilir.

ASA ise F₁ neslinde bireyleri olumsuz etkilemiş gibi gözükmektedir. Bu durumda, ASA, erkek bireyler üzerinde-F₁ nesli- toksik etki oluşturmuş olabilir.

4.2.1.3. Toplam birey sayılarının morfolojik anormallik oranları üzerine asetil salisilik asit ve asetaldehitin etkisi

Madde içeren besiyerinde gelişen bireylerde çeşitli morfolojik anormallikler gözlenmiştir. Bu anormallikler, kıvrık kanatlılık, mızrak kanatlılık, püskül kanatlılık, abdominal bozukluk, abdominal bozukluk ile birlikte kanat körelmesi, segment eksikliği ve tibia da körelme şeklindedir.

F₁ neslinde AcH ve ASA deney grupları ayrı ayrı uygulandıklarında normal birey sayısı yükselmiştir. Fakat istatistiksel olarak fark bulunmamıştır ($p>0,05$) (Tablo 4.14).

ASA+AcH kombinasyonunda ise genel olarak normal birey sayısı düşmüştür ($p<0,05$ ve $p<0,001$). ASA+30mM AcH' ta normal birey sayısını arttırdığı görülse de istatistiksel olarak fark anlamlı bulunmamıştır ($p<0,05$).

F₂ neslinde AcH konsantrasyonlarında genel olarak normal birey sayısında bir artış meydana gelmiştir. Fakat bu artış sadece AcH' in en yüksek konsantrasyonunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur ($p<0,05$) (Tablo 4.15).

ASA normal birey sayısında bir artış meydana getirmiş ve bu artış istatistiksel olarak da anlamlı çıkmıştır ($p<0,05$).

ASA+AcH kombinasyonları, genel olarak, normal birey sayısını etkilememiştir ($p>0,05$). Ancak ASA+20mM AcH' ta normal birey sayısı oldukça azalmıştır

Tablo 4.14: F₁ neslinde morfolojik anormallik oranları

Nesil	Konsantrasyon	Normal birey sayısı	Anormal birey sayısı	Anormal birey yüzdesi	Z değeri	p değeri
F ₁	Kontrol (G1)	188	0	0	(G1-G2) -1.237 (G1-G3) -1.601 (G1-G4) -1.446 (G1-G5) -1.079 (G1-G6) 2.563 (G1-G7) 3.705 (G1-G8) -0.437	0.10813 0.05465 0.07414 0.14038 0.00519* 0.00011** 0.33103
	10mM AcH (G2)	211	0	0	(G2-G3) -0.365 (G2-G4) -0.209 (G2-G5) 0.158 (G2-G6) 3.795 (G2-G7) 4.953 (G2-G8) 0.800	0.35757 0.41716 0.43724 0.00007** 0.00000** 0.21198
	20mM AcH (G3)	218	2	0,91	(G3-G4) 0.156 (G3-G5) 0.523 (G3-G6) 4.158 (G3-G7) 5.295 (G3-G8) 1.164	0.43809 0.30052 0.00002** 0.00000** 0.12212
	30mM AcH (G4)	215	8	3,59	(G4-G5) 0.367 (G4-G6) 4.003 (G4-G7) 5.140 (G4-G8) 1.009	0.35677 0.00003** 0.00000** 0.15656
	ASA (G5)	208	3	1,42	(G5-G6) 3.638 (G5-G7) 4.776 (G5-G8) 0.642	0.00014** 0.00000 ** 0.26055
	ASA+10mM AcH (G6)	144	4	2,78	(G6-G7) 1.148 (G6-G8) -2.999	0.12541 0.00136**
	ASA+20mM AcH (G7)	126	7	5,56	(G7-G8) -4.140	0.00002**
	ASA+30mM AcH (G8)	196	8	4,08		

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

Tablo 4.15: F₂ neslinde morfolojik anormallik oranları

Nesil	Konsantrasyon	Normal birey sayısı	Anormal birey sayısı	Anormal birey yüzdesi	Z deperi	p değeri
F ₂	Kontrol (G9)	179	1	0,57	(G9-G10) -1.632 (G9-G11) -1.474 (G9-G12) -1.999 (G9-G13) -1.738 (G9-G14) -0.556 (G9-G15) -3.470 (G9-G16) 0.283	0.05129 0.07025 0.02283* 0.04114* 0.28897 0.00026** 0.38850
	10mM AcH (G10)	209	3	1,42	(G10-G11) 0.159 (G10-G12) -0.366 (G10-G13) -0.105 (G10-G14) 1.076 (G10-G15) 5.090 (G10-G16) 1.915	0.43699 0.35704 0.45811 0.14089 0.00000** 0.02772*
	20mM AcH (G11)	206	6	2,83	(G11-G12) -0.525 (G11-G13) -0.264 (G11-G14) 0.918 (G11-G15) 4.930 (G11-G16) 1.757	0.29980 0.39597 0.17937 0.00000** 0.03946*
	30mM AcH (G12)	216	5	2,27	(G12-G13) 0.261 (G12-G14) 1.443 (G12-G15) 5.453 (G12-G16) 2.281	0.39697 0.07457 0.00000** 0.01126*
	ASA (G13)	211	8	3,79	(G13-G14) 1.182 (G13-G15) 5.195 (G13-G16) 2.021	0.11870 0.00000** 0.02166*
	ASA+10mM AcH (G14)	189	7	3,70	(G14-G15) 4.023 (G14-G16) 0.840	0.00003** 0.20056
	ASA+20mM AcH (G15)	122	6	4,92	(G15-G16) -3.188	0.00072**
	ASA+30mM AcH (G16)	174	6	3,45		

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

($p < 0,001$). Bu durumda, bu deney grubu normal birey sayısını olumsuz etkilemiş olabilir.

Anormal birey yüzdeleri 10mM AcH hariç bütün gruplarda yükselmiştir.

Sonuç olarak, AcH ve ASA ayrı ayrı uygulandığında, genel olarak her iki nesilde de normal birey sayısını arttırdığı, birlikte uygulandığında ise azalttığı ifade edilebilir.

ASA ile yapılan bir çalışmada, *Coturnix coturnix japonica* üzerinde, ASA' nın yumurta üretimi ve yumurtadan çıkışı yükselttiği görülmüştür [92]. *D. melanogaster* üzerinde yapılan bir çalışmada, aspirinin güçlü bir antimitotajenik madde olduğu ve ayrıca kromozom rekombinasyonlarını da inhibe edebildiği görülmüştür [8]. Ayrıca sıkça aspirin kullanan kişilerde özofagus, mide, kolon ve rektum kanserlerinden kaynaklanan ölüm oranının düştüğü tespit edilmiştir [34]. Sözü edilen çalışmalardan elde edilen sonuçlar, ASA' nın birey sayısını olumlu etkileyebileceğini göstermekte ve bu çalışmayı desteklemektedir.

AcH ile yapılan bir çalışmada, AcH' in 10 günlük fare embriyolarında büyüme ve gelişimi yavaşlattığı, ayrıca DNA sentezini azalttığı, sakatlık oluşumu ve rezorpsiyon sayısının arttığı belirtilmiştir [93]. Başka bir çalışmada, zebra balıklarına AcH uygulamasının embriyonik gelişimi (aksiyel ve otolitte malformasyon gibi) olumsuz olarak etkilediği görülmüştür [94]. Genel olarak çalışmalar, AcH' in olumsuz etkisini vurgulamaktadır. Bu çalışmada ise AcH' in normal birey sayısını arttırdığı görülmüştür. Burada AcH' in bireyler üzerinde, bazı çalışmalarda olduğu gibi, olumsuz etki göstermemesi belki de asetaldehitin meydana getireceği toksik etkinin, ADH-ALDH' a bağlı detoksifikasyon mekanizmasının yüksek verimli işleyişi sayesinde yok olmuş olmasından kaynaklanmış olabilir.

Bu çalışmada ASA+AcH normal birey sayısını düşürmüştür. Yapılan bir çalışmada etanol ile kültüre edilen *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde aspirinin apoptosisi uyardığı bulunmuştur [95]. Yapılan başka bir çalışmada ise fare embriyolarında aspirinin alkolün (asetaldehit etanolün en etkin maddesidir) neden olduğu resorpsiyon, rahimiçi büyümenin yavaşlaması, yarı damar oluşumu gibi bir takım

etkileri arttırdığı gözlenmiştir [96]. Bu araştırmalar, bu çalışmada elde edilen ASA+AcH deney grubunun olumsuz etkisini destekler niteliktedir.

4.2.2. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin ergin birey sayısı üzerine etkisi

F₁ neslinde, AcH konsantrasyonları birey sayısını arttırmıştır (p<0,05).

ASA deney grubunda da birey sayısını artırmış, fakat istatistiksel olarak bu fark anlamlı bulunmamıştır (p>0,05).

ASA+AcH kombinasyonlarının düşük konsantrasyonlarında birey sayıları düşmüştür (p<0,05, p<0,001). ASA+30 mM AcH' ta bir artış görülse de istatistiksel olarak bir fark görülmemiştir (p>0,05).

F₂ neslinde de durum benzerdir. Sonuç olarak her iki nesilde de ASA ve AcH ayrı ayrı uygulandığında ergin birey sayısını arttırdığı söylenebilir. Morfolojik anormallik çalışmasındaki gibi burada da AcH' in olumsuz etkisinin görülmemesi *D. melanogaster*' in alkol ve etanolün toksik etkisine karşı toleransının olmasından kaynaklanmış olabilir [97].

ASA ve AcH birlikte uygulandıklarında toksik etki göstermiş gibi gözükmektedir. Yapılan bir çalışmada bazı *Salmonella* ırklarında, aspirinin bireylerde herhangi bir mutasyona sebep olmadığı görülmüştür [98]. Ayrıca günlük düşük dozlarda (100-300 mg) aspirin kullanımının erken yaşlardaki felç geçirme riskine karşı koruduğu tespit edilmiştir [99]. Bir başka çalışmada, doksan yaşlarındaki aspirin kullanan ve kullanmayan bireyler bir yıl süre ile takip edilmiş ve ölen bireyler kaydedilmiştir. Bunun sonucu olarak aspirin kullanan bireylerdeki mortalitenin kullanmayanlara göre % 40 azaldığı görülmüştür [100]. Bu nedenlerle, bu çalışmada meydana gelen ergin birey sayısındaki artış, belki de ASA' nın mortaliteyi azaltması nedeniyle meydana gelmiş olabilir.

Tablo 4.16: F₁ neslinde maddelerin ergin birey sayısına etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Toplam birey sayısı	Z değeri	p değeri
	Kontrol (G1)	188	(G1-G2) -1.235	0.10849
			(G1-G3) -1.702	0.04439*
			(G1-G4) -1.856	0.03174*
			(G1-G5) 2.314	0.10849
			(G1-G6) 3.249	0.01033*
			(G1-G7) -0.865	0.00058**
			(G1-G8) -0.468	0.19346
	10mM AcH (G2)	211	(G2-G3) -0.468	0.32006
			(G2-G4) -0.622	0.26711
			(G2-G5) 0.0000	0.50000
			(G2-G6) 3.545	0.00020*
			(G2-G7) 4.477	0.00000**
			(G2-G8) 0.369	0.35590

Tablo 4.17: F₂ neslinde maddelerin ergin birey sayısına etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Toplam birey sayısı	Z sđegeri	p değeri
F2	Kontrol (G9)	179	(G9-G10) -1.631	0.05148
			(G9-G11) -1.472	0.07046
			(G9-G12) -1.944	0.02592*
			(G9-G13) -1.944	0.02592*
			(G9-G14) -0.937	0.17428
			(G9-G15) 3.074	0.001060
	(G9-G16) -0.056	0.47760		
	10mM AcH (G10)	209	(G10-G11) 0.158	0.43707
			(G10-G12) -0.314	0.37677
(G10-G13) -0.314			0.37677	
(G10-G14) 0.694			0.24396	
(G10-G15) 4.695			0.00000**	
(G10-G16) 1.575	0.05768			
20mM AcH (G11)	206	(G11-G12) -0.472	0.31832	
		(G11-G13) -0.472	0.31832	
		(G11-G14) 0.535	0.29625	
		(G11-G15) 4.537	0.00000**	
(G11-G16) 1.416	0.07835			
30mM AcH (G12)	215	(G12-G13) 0.0000	0.50000	
		(G12-G14) 1.008	0.15683	
		(G12-G15) 5.006	0.00000**	
(G12-G16) 1.888	0.02949*			
ASA (G13)	215	(G13-G14) 1.008	0.15683	
		(G13-G15) 5.006	0.00000**	
(G13-G16) 1.888	0.02949*			
ASA+10mM AcH (G14)	196	(G14-G15) 4.006	0.00003**	
(G14-G16) 0.881	0.18910			
ASA+20mM AcH (G15)	128	(G15-G16) -3.130	0.00088**	
ASA+30mM AcH (G16)	180			

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

AcH ile yapılan çalışmalarda hem pozitif hem de negatif bulgular vardır. Örneğin; *Salmonella typhimurium*'daki revers mutasyon testi [101] ve *Escherichia coli*'deki DNA onarım testinde AcH'in olumsuz etkisine rastlanmamıştır [102]. Bu sonuçlar bizim çalışmamızı destekler niteliktedir. ASA+AcH kombinasyonları bireyleri olumsuz etkilemiş gibi gözükmektedir. ASA+AcH'ın metamorfoz süresi ve morfolojik anormallik çalışmalarında meydana getirdiği olumsuz etki, bu çalışmada meydana gelen toksik etkiyi destekler niteliktedir

4.2.3. Asetil salisilik asit ve asetaldehitin eşey oranı üzerine etkileri

F₁ neslinin AcH deney grubunda dişi birey sayıları artmıştır (p<0,001 ve p<0,05). Erkek birey sayılarında ise genel olarak herhangi bir değişiklik olmamıştır (p>0,05). Fakat 20 mM AcH 'ta bir düşüş meydana gelmiş ve bu fark istatistiksel olarak anlamlı çıkmamıştır (p>0,05) (Tablo 4.18). Bu durumda, F₁ neslinde eşey oranı dişi lehine değişmiştir denilebilir.

ASA deney grubunda dişi birey sayısı artmıştır (p<0,05). Erkek birey sayısında ise bir azalma olmuş, fakat istatistiksel olarak fark çıkmamıştır (p>0,05). Bu durum, ASA'nın eşey oranını dişi lehine arttırmış olabileceğini düşündürmektedir.

ASA+AcH'in düşük konsantrasyonlarında dişi ve erkek birey sayısı açısından istatistiksel olarak fark bulunmamıştır. En yüksek kombinasyonda, dişi birey sayısında bir artış görülmüştür (p<0,05). Erkek birey sayılarında ise azalma meydana gelmiştir. Bu azalma sadece ASA+AcH'in düşük kombinasyonlarında anlamlı bulunmuştur (p<0,05 ve p<0,001). Bu durumda, ASA+AcH'in iki eşeyi de olumsuz etkilediği ve bu neden ile eşey oranının değişmediği söylenebilir.

F₂ neslinde, AcH, genel olarak, eşey oranını etkilememiştir (p>0,05) (Tablo 4.19).

ASA dişi birey sayısını arttırmış (p<0,05), ancak erkek birey sayısını etkilememiştir (p>0,05). ASA, eşey oranını dişi birey lehine arttırmış olabilir. Dişi ve erkek morfolojik anormallik çalışmasındaki bulgular, bu durumu desteklemektedir.

Tablo 4.18: F₁ neslinde maddelerin eşey oranına etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Dişi birey sayısı	Z değeri	p değeri	Erkek birey sayısı	Z sdeğeri	p değeri
F ₁	Kontrol (G1)	86	(G1-G2) -1.315	0.09420	102	(G1-G2) -0.448	0.32703
			(G1-G3) -3.689	0.00011**		(G1-G3) 1.498	0.06709
			(G1-G4) -2.116	0.01718*		(G1-G4) -0.522	0.30090
			(G1-G5) -2.815	0.00244*		(G1-G5) 1.171	0.12072
			(G1-G6) 1.085	0.13890		(G1-G6) 2.171	0.01497
			(G1-G7) 1.085	0.13890		(G1-G7) 3.518	0.00022**
			(G1-G8) -1.829	0.03372*		(G1-G8) 0.615	0.26927
			10mM AcH (G2)	103		(G2-G3) -2.379	0.00867*
	(G2-G4) -0.802	0.21133			(G2-G4) -0.074	0.47063	
	(G2-G5) -1.503	0.06647			(G2-G5) 1.619	0.05271	
	(G2-G6) 2.398	0.00825*			(G2-G6) 2.618	0.00443*	
	(G2-G7) 2.398	0.00825*			(G2-G7) 3.962	0.00004**	
	(G2-G8) -0.514	0.30355			(G2-G8) 1.063	0.14389	
	20mM AcH (G3)	137	(G3-G4) 1.579	0.05721	83	(G3-G4) -2.019	0.02175
			(G3-G5) 0.878	0.19004		(G3-G5) -0.327	0.37193
			(G3-G6) 4.762	0.00000**		(G3-G6) 0.675	0.24992
			(G3-G7) 1.866	0.03102		(G3-G7) 2.030	0.02119*
			(G3-G8) -0.701	0.24160		(G3-G8) 0.883	0.18855
	30mM AcH (G4)	114	(G4-G5) -0.701	0.24160	109	(G4-G5) 1.693	0.04525*
			(G4-G6) 3.195	0.00070**		(G4-G6) 2.691	0.00356*
			(G4-G7) 3.195	0.00070**		(G4-G7) 4.035	0.00003**
			(G4-G8) 0.288	0.38681		(G4-G8) 1.137	0.12784
	ASA (G5)	124	(G5-G6) 3.892	0.00005**	87	(G5-G6) 1.001	0.15834
			(G5-G7) 3.892	0.00005**		(G5-G7) 2.355	0.00926*
(G5-G8) 0.989			0.16140	(G5-G8) -0.557		0.28889	
ASA+10mM AcH (G6)	73	(G6-G7) 0.0000	0.50000	75	(G6-G7) 1.357	0.08736	
		(G6-G8) -2.909	0.00181*		(G6-G8) -1.557	0.05970	
ASA+20mM AcH (G7)	73	(G7-G8) -2.909	0.00181*	60	(G7-G8) -2.908	0.00182*	
ASA+30mM AcH (G8)	110			94			

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

Tablo 4.19: F₂ neslinde maddelerin eşey oranına etkileri

Nesil	Konsantrasyon	Dişi birey sayısı	Z değeri	p değeri	Erkek birey sayısı	Z değeri	p değeri
F2	Kontrol (G9)	97	(G9-G10) -0.600	0.27429	82	(G9-G10) -1.738	0.04113*
			(G9-G11) -1.534	0.06252		(G9-G11) -0.492	0.31140
			(G9-G12) -1.604	0.05437		(G9-G12) -1.126	0.13011
			(G9-G13) -2.290	0.01100*		(G9-G13) -0.330	0.37086
			(G9-G14) -1.180	0.11896		(G9-G14) -0.083	0.46691
			(G9-G15) 2.649	0.00403*		(G9-G15) 1.671	0.04738*
			(G9-G16) -0.227	0.41006		(G9-G16) 0.167	0.43353
	10mM AcH (G10)	105	(G10-G11) -0.935	0.17502	104	(G10-G11) 1.246	0.10631
			(G10-G12) -1.005	0.15756		(G10-G12) 0.612	0.27012
(G10-G13) -1.692			0.04536	(G10-G13) 1.409		0.07948	
(G10-G14) -0.581			0.28076	(G10-G14) 1.655		0.04898*	
(G10-G15) 3.245			0.00059**	(G10-G15) 3.401		0.00034	
(G10-G16) 0.373	0.35475	(G10-G16) 1.905	0.02840*				
20mM AcH (G11)	118	(G11-G12) -0.070	0.47208	88	(G11-G12) -0.634	0.26298	
		(G11-G13) -0.758	0.22437		(G11-G13) 0.162	0.43552	
		(G11-G14) 0.354	0.36165		(G11-G14) 0.409	0.34132	
		(G11-G15) 4.170	0.00002**		(G11-G15) 2.161	0.01534	
		(G11-G16) 1.307	0.09064		(G11-G16) 0.659	0.25487	
30mM AcH (G12)	119	(G12-G13) -0.687	0.24589	96	(G12-G13) 0.796	0.21288	
		(G12-G14) 0.424	0.33575		(G12-G14) 1.043	0.14850	
		(G12-G15) 4.239	0.00001**		(G12-G15) 2.792	0.00262*	
		(G12-G16) 1.377	0.08429		(G12-G16) 1.293	0.09799	
ASA (G13)	129	(G13-G14) 1.111	0.13319	86	(G13-G14) 0.247	0.40263	
		(G13-G15) 4.918	0.00000**		(G13-G15) 1.999	0.02279*	
		(G13-G16) 2.063	0.01953*		(G13-G16) 0.497	0.30961	
ASA+10mM AcH (G14)	113	(G14-G15) 3.820	0.00007**	83	(G14-G15) 1.754	0.03975	
		(G14-G16) 0.952	0.17030		(G14-G16) 0.250	0.40113	
ASA+20mM AcH (G15)	65	(G15-G16) -2.875	0.00202*	63	(G15-G16) -1.504	0.06632	
ASA+30mM AcH (G16)	100			80			

*p<0,05, **p<0,001 ihtimal seviyesinde aradaki fark önemlidir.

ASA+AcH kombinasyonları, genel olarak, iki eşeyi de etkilememiş gibi gözükmektedir ($p>0,05$).

Sonuç olarak F₁ neslinde, ASA ve AcH gruplarındaki eşey oranının, dişi lehine artmış olabileceği, fakat birlikte uygulandığında eşey oranının değişmediği düşünülmektedir. F₂ neslinde ise ASA+AcH ve AcH genel olarak, eşey oranını etkilememiş, ASA ise eşey oranını dişi lehine etkilemiş gibi gözükmektedir.

Morfolojik anormallikteki normal dişi birey sayılarının ASA ve AcH' tan olumlu etkilenmiş olması bu maddelerin bu deneydeki olumlu etkilerini desteklemektedir.

Eşey oranının dişi birey lehine artışı, ASA ve AcH' in dişinin eşeye bağlı gelişimi olumlu yönde etkilemiş olabileceğini ya da erkek bireylerin daha hassas olmaları nedeni ile gelişimin herhangi bir safhasında kaldığı ya da bu maddelerin letaliteye neden olduğu düşünülebilir.

Yapılan bir çalışmada ASA' nın Japon bildircinlarında yumurta üretimi ve yumurtadan çıkışı yükselttiği, total embriyo ölümlerinin düştüğü gözlenmiştir [85]. Yapılan bir araştırmada ASA tavuklar üzerinde denenmiş ve bunun sonucunda aspirinin doğurganlığı azalttığı bulunmuştur [78]. *D. melanogaster*' de yapılan bir başka araştırmada, aspirinin bazı metabolitlerinin DNA hasarını engileyebileceği ve aspirinin sekonder kanser oluşumunu engelleyebileceği ifade edilmiştir [9]. Bu çalışmalar, ASA' nın birey gelişimini olumlu ya da olumsuz etkileyebileceğini destekler niteliktedir.

AcH ile yapılan bir çalışmada, fare embriyoları üzerinde AcH' in bazı teratojenik etkilerine rastlanmıştır [92]. Başka bir çalışmada erkek farelerde asetaldehitin embriyoletalliğe neden olduğu görülmüştür [72]. *D. melanogaster*' da yapılan çalışmalara bakıldığında ise, yapılan cinsiyete bağlı resesif letal mutasyon testinde, asetaldehitin erkek bireylerin mayotik ve post mayotik germ hücre evrelerinde cinsiyete bağlı resesif mutasyonları uyardığı [23], oositlerde ise X kromozomunda

ayrılma olayını etkilemediği görülmüştür [48]. Bu çalışmalar, AcH' ın etkisinin erkeleri olumsuz olabileceğini destekler niteliktedir.

5. SONUÇ VE ÖNERİLER

Bilindiği gibi, bazı kimyasal maddeler, DNA'da değişiklikler meydana getirmekte ve bu değişiklikler de canlıda üreme bozuklukları, embriyojenik ve perinatal ölüm, çeşitli anormallikler, kanser gibi birtakım olaylara neden olabilmektedir [103]. Bunun dışında bazı maddeler ise genomda bir değişim meydana getirmeden de canlı gelişimini etkileyebilmektedir. Bu çalışmada çeşitli yollarla sıklıkla karşılaştığımız asetil salisilik asit ve asetaldehit maddeleri kullanılmış ve bu maddelerin etkileri gözlenilmeye çalışılmıştır.

Hücre veya organ büyümeleri çok farklı sinyal mekanizmaları ile gerçekleşirken genler, metabolizma, hormon, besin ve diğer çevresel faktörler ile kompleks bir ilişki içerisindedir [104, 105]. Çalışmamızda ASA, AcH ve ASA+AcH bileşikleri besin yolu ile *D. melanogaster*' e verilmiştir. Sonuç olarak, F₁ neslinde bu maddelerin metamorfoz süresini geciktirmiş olabileceği düşünülmektedir. F₂ neslinde ise yalnızca AcH' ın olumsuz etkisi devam etmiş gibi gözükmektedir. Bu durumda, AcH' ın gelişimsel genler ya da bu genlerin işleyişi üzerindeki birtakım etkileri nedeni ile gelişim olumsuz etkilenmiş olabilir.

Böceklerde, besinin metabolik aktiviteyi modifiye ederek böceğin gelişim hızını ve ömür uzunluğunu etkilediği değişik araştırmacılar tarafından ifade edilmiştir [106, 107]. Bu çalışmada besine ilave edilen ASA, AcH, ASA+AcH bileşiklerinin erkek bireylerin ömür uzunluğu üzerinde olumlu ya da olumsuz herhangi bir etkisinin olmadığı görülmüştür. Dişi bireylerde ise benzer şekilde, ASA ve AcH uygulamasının dişi bireylerin ömür uzunluğuna etkisi olmamıştır. Fakat bu iki madde birlikte uygulandığında, yüksek konsantrasyonlarda dişi bireylerin ömür uzunluğunun arttığı görülmüştür. Bu durumda ASA ve AcH' ın beraber uygulanması metabolik aktiviteye bağlı olarak ömür uzunluğunu olumlu yönde etkilemiş olabilir.

D. melanogaster' in farklı bir besin tipi ile beslemesi sonucu, bu canlının yumurta sayısını ayarladığı ifade edilmiştir. Bu durumun böceğin neslini tehlikeye sokmamak için yumurta sayısını ayarlayabildiği düşünülmektedir [108]. Yumurta verimi ile ilgili yapılan çalışmada, ASA ve AcH ayrı ayrı uygulandığında, F₁ neslinde yumurta verimini düşürmüş olmasına rağmen, F₂ neslinde artmıştır. ASA ve AcH' in beraber uygulandığında ise F₂ neslinde canlıda direnç gelişimine neden olduğu düşünülmektedir.

Yumurta gelişiminde de sonuçlar yumurta verimi çalışması ile benzer çıkmıştır. F₁ neslinde ASA ve AcH maddelerinin ayrı ayrı uygulandıklarında yumurta gelişimi düşürmüş olmasına rağmen, F₂ neslinde artmıştır. Bu durum, maddelerin toksisitesi nedeni ile F₁ neslindeki bireylerin neslini tehlikeye sokmamak için bir sonraki nesilde yumurta sayısını ve dolayısıyla larva sayısını arttırmasından kaynaklanmış olabilir. ASA ve AcH maddelerinin birlikte uygulandığında ise her iki nesilde de direnç gelişmiş olabileceği söylenebilir.

Morfolojik anormallik çalışmasında, AcH ve ASA' nın ayrı ayrı uygulanması ile her iki nesilde normal birey sayısı artarken, beraber uygulandığında azalmıştır. Bu durumda, AcH ve ASA normal birey oluşumunu olumlu etkilediği, ASA+AcH kombinasyonunun ise olumsuz etkilediği düşünülmektedir. AcH' in bu olumlu etkisi belki de asetaldehitin bu konsantrasyonlarındaki toksik etkisinin, ADH-ALDH' a bağlı detoksifikasyon mekanizmasının yüksek verimli işleyişi sayesinde yok edilmiş olabilir. Maddelerin, eşeylerin morfolojik anormallik oranları üzerindeki etkileri incelendiğinde ise, dişi bireylerde benzer durum gözlenmiştir. Erkek bireylerde ise farklı olarak, ASA, F₁ neslinde, bireyleri olumsuz etkilediği düşünülmektedir. Bu durumda ASA erkek bireyler üzerinde dişilere göre toksik etki yaratmış olabilir.

Ergin birey sayıları çalışmasında, her iki nesilde de genel olarak, ASA ve AcH maddeleri birey sayılarını arttırırken, ASA+AcH kombinasyonu ise düşürmüştür. Bu durumda, ASA ve AcH'ın ayrı ayrı uygulanması ergin birey sayısını olumlu etkilemiştir. AcH' in olumlu etkiye sahip olmasının sebebi, morfolojik anormallikte söz edildiği gibi, AcH' in detoksifiye oluşundan kaynaklanmış olabilir. Çünkü *Drosophila*' nın çevresel alkol ve etanolün toksik etkilerine karşı toleranslı olduğu

bilinmektedir. Hatta düşük konsantrasyonlarda etanolü, enerji kaynağı olarak, verimli bir şekilde kullanılabildiği belirtilmektedir [97]. ASA ve AcH' in beraber uygulandığında ise toksik etkiye sebep olduğu söylenebilir. Çalışmanın bu kısmının sonuçları ile morfolojik anormallikte çıkan sonuçlar benzerdir. Ayrıca, metamorfoz süresindeki ASA+AcH deney grubunun olumsuz etkileri de bu çalışmanın sonuçları ile örtüşmektedir.

Eşey oranı çalışmasında, F₁ neslinde, ASA ve AcH deney grupları, F₂ neslinde ise sadece ASA deney grubu eşey oranını etkilemiştir. Buradaki oranların dişi lehine artmış olabileceği düşünülmektedir. Dişi bireylerdeki bu artış, maddelerin dişide eşeye bağlı gelişimi olumlu yönde etkilemiş olabileceğinden kaynaklanmış olabilir. Ayrıca, erkek bireylerin bir kısmının gelişimi herhangi bir safhada kalmış ya da bu uygulan maddeler bu bireylerde letaliteye neden olmuş olabilir. Morfolojik anormallikteki dişi normal birey sayılarının ASA ve AcH' tan olumlu etkilenmiş olması ve ayrıca F₁ neslinde ASA' nın erkek bireyleri olumsuz etkilenmiş olabilme durumu, bu çalışmayı desteklemektedir. Bu durumda, erkeklerin ASA ve AcH' a karşı daha hassas oldukları söylenebilir. Belki de dişilerin ALDH aktivitesi, genetik olarak sahip olduğu birtakım avantajlar sayesinde, yüksek olabilir.

Günlük yaşantımızda bazı maddelerle çeşitli yollar aracılığı ile çok sık karşı karşıya gelmekteyiz; yiyecek, içecek, çeşitli alanlarda kullanılan ilaçlar, dezenfektanlar gibi. Fakat bu maddelerin, canlı üzerinde etkileri yeterince bilinmeden ya da bilinçsizce fazla miktarlarda tüketilmesi sonucu olumsuz durumlar ortaya çıkarabilmektedir. Asetil salisilik asit (aspirin), asetaldehit bu maddelerden bazılarıdır. Bu çalışmada bu maddelerin *D. melanogaster*' in bazı gelişimsel özellikleri üzerinde olumlu ve olumsuz çeşitli etkilerine rastlamıştır. Örneğin, ASA, AcH maddelerinin yumurta verimi ve gelişimini olumsuz etkileyebileceği görülmüştür. Dolayısıyla bu maddelerin döllenme veya embriyogenezi etkileyebileceği düşünülebilir. Bu nedenle bu maddelerin kullanımı ve tüketim miktarları konusunda daha hassas olunması gerekmektedir.

Bunun dışında, ASA ve AcH' in beraber kullanılması, genel olarak, ergin dönemde toksik etki oluşturduğundan dolayı bu maddelerin çeşitli yollar ile bir araya

getirilmemeleri (alkol ile aspirin birlikte alınmasının tehlikeli olduğu bilinmektedir) veya bu etki nedeniyle pestisit üretiminde birlikte kullanılmalarının araştırılması faydalı olacaktır.

KAYNAKLAR

- [1] David L., Nelson, Michael M., Cox, 'Lehninger Biyokimyanın İlkeleri', Kılıç Necdet Üçüncü baskıdan çeviri, *Palme Yayıncılık*, 786-787, (2005).
- [2] Niikawa M., Nagase H., 'Effect of aspirin on DNA damage induced by MMC in *Drosophila*', *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 61 250-253, (2007).
- [3] Talbodec A, Berkane N, Blandin V, Breittmayer JP, Ferrari E, Frelin C, Vigne P, 'Aspirin and sodium salicylate inhibit endothelin ETA receptors by an allosteric type of mechanism' *Mol Pharmacol.*, 57(4), 797-804, (2000).
- [4] Lewis, H D; J W Davis, D G Archibald, W E Steinke, T C Smitherman, J E Doherty, H W Schnaper, M M LeWinter, E Linares, J M Pouget, S C Sabharwal, E Chesler, H DeMots 'Protective effects of aspirin against acute myocardial infarction and death in men with unstable angina. Results of a Veterans Administration Cooperative Study', *The New England journal of medicine*, 309 (7), 396-403, (1983).
- [5] Hashkes P, Tauber T, Somekh E, Brik R, Barash J, Mukamel M, Harel L, Lorber A, Berkovitch M, Uziel Y, 'Naproxen as an alternative to aspirin for the treatment of arthritis of rheumatic fever: a randomized trial', *J Pediatr.*, 143(3), 399-401, (2003).
- [6] Hsu S.C., Li Y., 'Aspirin potently inhibits oxidative DNA strand breaks: implications for cancer chemoprevention', *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 293 705-709, (2002).
- [7] Thun. M., Namboodiri, M., and Heath, C., 'Aspirin use and reduced risk of fatal colon cancer', *N. Engl. J. Med.*, 325, 1593-1596, (1991).
- [8] Sato T, Nagaoka K, Nagase H, Niikawa M, Kito H., 'The effect of several antipyretic analgesics on mitomycin C-induced mutagenesis using the wing spot test in *Drosophila melanogaster*', *Jpn J Toxicol Environ Health*, 42, 136, (1996).
- [9] Niikawa M., Seizai Shin, Nagase H. 'Suppressive effect of post- or pre-treatment of aspirin metabolite on mitomycin C-induced genotoxicity using the somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*' *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 61, 113-119, (2007).
- [10] Vonkeman HE, van de Laar MA., 'Nonsteroidal anti-inflammatory drugs: adverse effects and their prevention', *Semin Arthritis Rheum.*, 39(4), 294-312, (2010).
- [11] Macdonald S., 'Aspirin use to be banned in under 16 year olds', *BMJ*, 325(7371), 988, (2002).

- [12] Wicox M., Allison J., Benzuly K., Borum B., Cryer B., Grosser T., Hunt R., Ladabaum Uri, Lanas A., Harold P., Reguerio C., Sandler S. Robert, Simon Lee, 'Siklooksijenaz-2 Enzim İnhibitörleri ve Aspirin Dahil Nonsteroid Anti-İnflamatuvar Ajanların Kullanımı Üzerine Konsensus Geliştirme Konferansı', *Clinical Gasterentorology And Hepatology*, Türkçe Baskı, 1:220-236, (2006).
- [13] Sundberg- Ingelman, Kaur Harparkash, Terelius Y., Persson O. and Halliwell, 'Hydroxylation of salicylate by microsomal fractions and cytochrome P-450 Lack of production of 2,3-dihydroxybenzoate unless hydroxyl radical formation is permitted', *Biochem J.*, 276, 753-757 , (1991).
- [14] IARC , 1999, *IARC Monographs on the Evaluation of the Carcinogenic Risk of Chemicals to Humans*, IARC, <http://monographs.iarc.fr/ENG/vol71/mono71>, (Ziyaret Tarihi: 21 Mayıs, 2010).
- [15] Ilter T, Tekin F, 'Alkol metabolizması', *Güncel Gastroenteroloji Bilim Dergisi*, (2005).
- [16] Jira, R., Laib, R.J., Bolt, H.M., 'Acetaldehyde.,Ullmann's Encyclopedia of Industrial Chemistry', 5th rev. Ed., Vol. A1, Deerfield Beach, FL, *VCH Publishers*, pp. 31-44, (1985).
- [17] EPA, 'Chemical summary for acetaldehyde, Office of Pollution Prevention and Toxics', *U.S. Enviroment Protection Agency*, (1994).
- [18] Woutersen, R.A., Feron, V.J., 'Inhalation toxicity of actaldehyde in rats. IV. Progression and regression of nasal lesions after discontinuation of exposure', *Toxicology*, 47, 295-305, (1987).
- [19] Bird, R.P., Draper, H.H. & Basrur, P.K., 'Effect of malonaldehyde and acetaldehyde on cultured mammalian cells: production of micronuclei and chromosomal aberrations', *Mutat. Res.*,101, 237-246, (1982).
- [20] Fang, J.-L. & Vaca, C.E., 'Detection of DNA adducts of acetaldehyde in peripheral white blood cells of alcohol abusers', *Carcinogenesis*, 18, 627-632, (1997).
- [21] Giavini E, Broccia M. L., M. Prati M. L., Bellomo D. and Menegola E., 'Effects of ethanol and acetaldehyde on rat embryos developing in vitro', *Cell Dev Biol.*, 28A(3 Pt 1):205-10. (1992)
- [22] Ohta S,Ohsawa S, Kamino K, Fujiko A, and Shimokata H, 'Mitochondrial ALDH2 Deficiency as an Oxidative Stress', *Annals of the New York Academy of Sciences*, 1011: 36-44, (2006).
- [23] Woodruff, R.C., Mason, J.M., Valencia, R. & Zimmering, S., 'Chemical mutagenesis testing in Drosophila. V. Results of 53 coded compounds tested for the National Toxicology Program', *Environ. Mutag*, 7, 677-702, (1985).

- [24] Zijlstra JA, Vogel EW, 'The ratio of induced recessive lethals to ring-X loss has prognostic value in terms of functionality of chemical mutagens in *Drosophila melanogaster*', *Mutat Res.* Sep;201(1):27-38, (1988).
- [25] Falakalı Beria, 'Drosophila Genetiği' *Ege Üniversitesi Yayınları*, No: 134, (1990).
- [26] Bernards, A. and Hariharan, I. K.. 'Of flies and men- studying human disease in *Drosophila*'. *Current Opinion in Genetics & Development.* 11:274-278, (2001).
- [27] Timothy D. Warner and Jane A. Mitchell, 'Cyclooxygenase-3 (COX-3): Filling in the gaps toward a COX continuum?', *PNAS*, vol. 99, no. 21, (2002).
- [28] Bachert, C.; Chuchalin, A., Eisebitt, R., Netayzhenko, V., Voelker, M., 'Aspirin compared with acetaminophen in the treatment of fever and other symptoms of upper respiratory tract infection in adults: a multicenter, randomized, double-blind, double-dummy, placebo-controlled, parallel-group, single-dose, 6-hour dose-ranging study', *Clinical therapeutics*,27 (7): 993–1003,(2005).
- [29] Julian, D. G.; D. A. Chamberlain, S. J. Pocock, *BMJ (British Medical Journal)*, 313 (7070): 1429–1431, (1996).
- [30] Krumholz, Harlan M.; Martha J. Radford, Edward F. Ellerbeck, John Hennen, Thomas P. Meehan, Marcia Petrillo, Yun Wang, Timothy F. Kresowik, Stephen F. Jencks, 'Aspirin in the Treatment of Acute Myocardial Infarction in Elderly Medicare Beneficiaries : Patterns of Use and Outcomes' *Circulation* ,92 (10): 2841–2847, (1995).
- [31] Imaeda, A. B.; Watanabe A, Sohail, M.A.; Shamail M; Mohamadnejad, Sutterwala, Fayyaz S., Flavell, Richard A. M, Wajahat Z., "Acetaminophen-induced hepatotoxicity in mice is dependent on Tlr9 and the Nalp3 inflammasome", *Journal of Clinical Investigation*, (2009).
- [32] Tfelt-Hansen P. , 'Triptans vs Other Drugs for Acute Migraine. Are There Differences in Efficacy? A Comment', *Headache* 48 (4): 601–605, (2008).
- [33] National Heart Foundation of Australia, 'Diagnosis and management of acute rheumatic fever and rheumatic heart disease in Australia. An evidence-based review', *National Heart Foundation of Australia*, pp. 33–37, (2009).
- [34] Thun M.J. , Namboodiri M.M., CalleE.E., W. Flanders D, and Heath C. 'Aspirin Use and Risk of Fatal Cancer', *American Cancer Society*, (1993).
- [35] Gwyn, K., Sinicrope, F.A., 'Chemoprevention of colorectal cancer', *Am. J. Gastroenterol*, 97 13–21, (2002).

- [36] Northway, M. G., Scobey. M. W. Cassidy, K. T. and Geisinger. K. R., 'Piroxicam decreases postirradiation colonie neoplasia in the rat', *Cancer (Phila.)*, 66: 2300-2305, (1990).
- [37] Guitton MJ, Caston J, Ruel J, Johnson RM, Pujol R, Puel JL 'Salicylate induces tinnitus through activation of cochlear NMDA receptors', *CJ. Neurosci.*, 23 (9): 3944-52, (2003).
- [38] Hagemeyer, H.J., 'Acetaldehyde. In: Kroschwitz, J.I. & Howe-Grant, M., eds', Kirk-Othmer Encyclopedia of Chemical Technology, 4th Ed., Vol. 1, New York, *John Wiley*, pp. 94-109, (1991).
- [39] IARC, 1999, Acetaldehyde. In: International Agency for Research on Cancer, IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man, IARC, <http://monographs.iarc.fr/ENG/Monographs/vol36/volume36.pdf>, (**Ziyaret tarihi: 21 Mayıs, 2010**)
- [40] Lieber C.S., 'Alcohol and the liver': *Gastroenterology*, 106(4):1085-105, *Review*, (1994).
- [41] Jaeschke H., Gores G.J., Cederbaum A.I., Hinson J.A., Pessayre D., Lemasters J.J., 'Mechanisms of hepatotoxicity'. *Toxicol Sci.* 65(2):166-76, (2002).
- [42] Dolar E., 'Klinik Karaciğer Hastalıkları', Bölüm 4, s. 133-146, 1.Baskı, *Nobel&Güneş Tıp Kitabevi*, (2002).
- [43] You M., Crabb D.W., 'Recent advances in alcoholic liver disease II. Minireview: molecular mechanisms of alcoholic fatty liver. Am J Physiol Gastrointest Liver *Physiol.* 287(1):G1-6, (2004).
- [44] Hoerner M., Behrens U.J., Worner T., Lieber C.S., 'Humoral immune response to acetaldehyde adducts in alcoholic patients', *Res Commun Chem Pathol Pharmacol.*,54(1):3-12, (1986).
- [45] Aşçıoğlu, Yasemin Tuba, 'Sıçanlardaki Kronik Alkolik Karaciğer Hasarına Likopenin Etkisi', Uzmanlık Tezi, *Şişli Etfal Eğitim ve Araştırma Hastanesi*, İstanbul, (2005).
- [46] Çoban E., Suleymanlar G., 'Hastalıklar Patofizyolojisi Klinik Tıpla bir tanışma', *Palme Yayıncılık*, 411-412, (2006).
- [47] Obe G, Ristow H., 'Mutagenic, cancerogenic and teratogenic effects of alcohol' *Mutat Res.*, 65(4):229-59, (1979).
- [48] Rey M, Palermo AM, Muñoz ER, 'Lack of effect of acute acetaldehyde treatment on X chromosome segregation in Drosophila melanogaster females', *Mutat Res.*, 320 (1-2),1-7, (1994).

- [49] Keller A, 'Drosophila melanogaster's history as a human commensal' *Current Biology*, ***Curr Biol.***, 17(3):R77-81, (2007).
- [50] Reiter L, Potocki L, Chien S., Gribskov M, Bier E, 'A Systematic Analysis of Human Disease-Associated Gene Sequences In *Drosophila melanogaster*', ***Genome Research***,11(6):1114-25, (2001).
- [51] Wurgler, F.E. and Vogel, E.W., 'In vivo mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster* in Chemical Mutagens, Principles and Methods for their detection', Würgler FE and Vogel EW (editors). Vol. 10., ***Plenum Press***, 1-73. pp., New York, (1986)
- [52] Ashburner, A.. *Drosophila: A Laboratory Manual*, Cold Spring Harbor', ***Cold Spring Harbor Laboratory Press***. 1331 pp. New York, (1989).
- [53] Graf U., Van Schaik N. ve Würgler F.E., 'Drosophila Genetics ' a practical course', 239pp, ***New York*** (1992).
- [54] Muller, H.J., 'Artificial transmutation of the gene', ***Science*** , 66: 84–87,(1927).
- [55] Valencia R., Mason, J.M. Ve Zimmering S., 'Chemical Mutagenesis testing in *Drosophila*. VI. Interlaboratory comparison of mutagenicity tests after treatment of larvae.' ***Environ. Mol. Mutagen*** 14:238-244,(1989).
- [56] Valencia R.L., Abrahamson S., Lee W.R., Von Halle E.S., Woodruff R.C., Würgler F.E. ve Zimmering S., 'Chromosomal mutation test for Mutagenesis in *Drosophila melanogaster*', ***Mutat. Res.***, 134:61-88, (1984).
- [57] Roberts, D.B., 'Basic drosophila care and techniques. In: *Drosophila a practical approach*', first edition, Roberts, D.B.(Ed). 1-39, ***IRL press***, Washington D.C. (1986).
- [58] Bernards, A. and Hariharan, I. K.. 'Of flies and men- studying human disease in *Drosophila*'. ***Current Opinion in Genetics & Development***. 11:274-278, (2001).
- [59] Potter, C. J., Trenchalk, G. S. and X.U., T. 'Drosophila in cancer research', ***TIG.***, Vol: 16, No :1, 33-39 pp., (2000).
- [60] Yeşilada, E., Gelegen L., 'Drosophila melanogaster'in Ömür Uzunluğu Üzerine Kadmiyum Nitratın Etkisi', ***Turk J Biol*** ,24, 593–599, (2000).
- [61] McMillan I., Fitz-Earl M., Rabson D.S., 'Quantitative genetics of fertility I. Life time egg production of *Drosophila melanogaster*', ***Theoretical. Genetics*** , 65:349-353, (1970).
- [62] Yesilada E, Bozcuk, A.N., 'The effects of ABA and kinetin on the fecundity of *Drosophila melanogaster*', ***Tr J of Biol*** , 19:37-44, (1995).

- [63] Demir, E., Kocaoglu, S., Kaya, B., 'Genotoxicity testing of four benzyl derivatives in the Drosophila wing spot test', *Food and Chemical Toxicology*, 46, 1034–1041, (2008).
- [64] Karabulut A. K. , Uelger H., Pratten M.K, 'Protection by free oxygen radical scavenging enzymes against salicylate-induced embryonic malformations in vitro', *Toxicol In Vitro.*, 14(4), 297-307, (2000).
- [65] Gupta U., Cook J.C., Tassinare M.S., Hurt M., 'Comparison of Developmental Toxicology of Aspirin(Acetylsalicylic Acid) in Rats Using Selected Dosing Paradigms Pfizer Global Research and Development', *Connecticut Birth Defects Research*, 68:27–37, (2003).
- [66] Lee R.D., An S.M., Kim S.S., Rhee G.S., Kwack S.J., Seok J.H., Chae S.Y., Park C.H., Choi Y.W., Kim H.S., Cho H.Y., Lee B.M., Park K.L., 'Neurotoxic effects of alcohol and acetaldehyde during embryonic development', *J. Toxicol Environ Health A.*, 10;68(23-24):2147-62, (2005).
- [67] Giavini E., Broccia M.L., Prati M., Bellomo D., Menegola E., 'Effects of ethanol and acetaldehyde on rat embryos developing in vitro', *In Vitro Cell Dev Biol.* , 28A(3 Pt 1):205-10, (1992).
- [68] He S.M., Lambert B., 'Acetaldehyde- induced mutation at the hprt locus in human lymphocytes in vitro', *Environ Mol Mutagen*, 16(2):57-63, (1990).
- [69] Uysal H., Altun D., Aslan A., 'Drosophila melanogaster'de Lobaria Pulmonaria (L.) Hoffm., Likenin Ömür Uzunluğu Üzerine Etkisi' , Cilt:2, Sayı:3, Sayfa:271-276 *Tübbav Bilim Dergisi* , (2009).
- [70] Agüero-Torres H., Viitanen M., Fatiglioni L., Louhija J., 'The effect of low-dose daily aspirin intake on survival in the Finnish Centenarians cohort' , *JAGS*, (2001).
- [71] Lim SS, Gaziano TA, Gakidou E, Reddy KS, Farzadfar F, Lozano R, Rodgers A, 'Prevention of cardiovascular disease in high-risk individuals in low-income and middle-income countries: health effects and costs'. *Lancet* ,370, 2054–2062, (2007).
- [72] Strong S., Miller C., Astle C., Floyd R., Flurkey K., Hensly K., Javors M., Leeuwenburgh J., Nelson J., Ongini E., Nadon N., Warner H., Harrison D., 'Nordihydroguaiaretic acid and aspirin increase lifespan of genetically heterogeneous male mice', *Aging Cell*, pp641–650 ,(2008).
- [73] Jeyakumar M., Smith D., Williams I., Borja M.C., David C. A. Neville., Butters T., Dwek R.A., Platt F.M., 'NSAIDs Increase Survival in the Sandhoff Disease Mouse: Synergy with N butyldeoxynojirimycin', *Ann Neurol*, 56:642–649, (2004).
- [74] Welin L., Wilhelmsen L., Björnberg A., Odén A., 'Aspirin increases mortality in diabetic patients without cardiovascular disease: a Swedish record linkage study', *Pharmacoepidemiol Drug Saf.*, 18(12):1143-9, (2009).

- [75] Akimoto T., Cho S., Yoshida H., Furuta H., and Esashi Y., Involvement of 'Acetaldehyde in Seed Deterioration of Some Recalcitrant Woody Species through the Acceleration of Aerobic Respiration', *Plant Cell Physiol.*, 45(2): 201–210, (2004).
- [76] Woutersen R.A., Appelman L.M., Van Garderen-Hoetmer A., Feron V.J., *Toxicology*, 'Inhalation toxicity of acetaldehyde in rats. III. Carcinogenicity study', 41(2):213-31, (1986).
- [77] Podd L.A., Staden J., 'The use of acetaldehyde to control carnation flower longevity', *Plant Growth Regulation*, 28: 175–178, (1999).
- [78] Mc Daniel C.D., Balog J.M., Freed M., Eklin R.G., Wellenteriter R.H., Kuczek T., Hester P.Y., 'Response of layer breeders to dietary acetylsalicylic acid 3.Effects on fertility and hatchability of embryos exposed to control and elevated incubation temperatures', *Poult Sci.*, 72(6):1100-8, (1993).
- [79] Sreenathan RN, Padmanabhan R, Singh S, 'Teratogenic effects of acetaldehyde in the rat', *Drug Alcohol Depend*, 9(4), 339-50, (1982).
- [80] Bariliak I.R., Kozachuk Slu, 'Embryotoxic and mutagenic activity of ethanol and acetaldehyde in intra-amniotic exposure', *Tsitol Genet.*, 17(5):57-60, (1983).
- [81] Dare WN, Noronha CC, Kusemiju OT, Okanlawon OA., 'The effect of ethanol on spermatogenesis and fertility in male Sprague-Dawley rats pretreated with acetylsalicylic acid', *Niger Postgrad Med J.*, 9(4), 194-8, (2002).
- [82] Catarina R. Marques, Nelson Abrantes, Fernando Goncalves, 'Life-History Traits of Standard and Autochthonous Cladocerans: II. Acute and Chronic Effects of Acetylsalicylic Acid Metabolites', *Environ Toxicol*, 19(5), 527-40. (2004).
- [83] Yokoyama A, Takakubo F, Eto K, Ueno K, Igarashi T, Satoh T, Kitagawa H., 'Teratogenicity of aspirin and its metabolite, salicylic acid, in cultured', *Res Commun Chem Pathol Pharmacol*, 46(1), 77-91, (1984).
- [84] Hartl M.W., Shibley I.A. Jr, 'Supraphysiological acetaldehyde levels suppress growth in chicken embryos', *Alcohol*, 28(2), 111-5, (2002).
- [85] O'Shea K.S. and Kaufman M.H., 'The teratogenic effect of acetaldehyde: implications for the study of the fetal alcohol syndrome', *J Anat.*, 128(Pt 1): 65–76, (1979).
- [86] Robinson, S. J.W., Zwaan B., Partridge L., 'Starvation resistance and adult body composition in a latitudinal cline of *Drosophila melanogaster*', *Evolution* 54:1819–1824, 2000
- [87] Hoffmann, A. A., Weeks A. R., 'Climatic selection on genes and traits after a 100 year-old invasion: a critical look at the temperatropical

clines in *Drosophila melanogaster* from eastern Australia'. *Genetica*, 129:133–147, 2007.

[88] Fry J., Donlon K., Saweikis M, 'A Worldwide polymorphism in aldehyde dehydrogenase in *Drosophila melanogaster*: Evidence for selection mediated by dietary ethanol', *Evolution* 62-1: 66–7, 2007.

[89] Yılmaz M., Balbay Y. Korkmaz Ş, 'Aspirin Direnci', *Anadolu Kardiyol Derg*, 4: 59-62, 2004.

[90] Berlanga M., Vinas M., 'Salicylate induction of phenotypic resistance to quinolones in *Serratia marcescens*', *JAC*, 46, 279-282, 2006.

[91] Ford K., Casida J., Chandran ., Gulevich A., Okrent R., Durkin K., 'Neonicotinoid insecticides induce salicylate-associated plant defense responses', *PNAS*, 107, 41, 17527-17532, 2010

[92] Hassan S.M., Mady M.E., Cartwright A.L., Sabri H.M., Mobarak M.S., 'Effect of acetyl salicylic acid in drinking water on reproductive performance of Japanese quail (*Coturnix coturnix japonica*)', *Poult Sci.*,82(7):1174-80, (2003).

[93] Campbell M.A., Fantel A.G., Teratogenicity of acetaldehyde in vitro: relevance to the fetal alcohol syndrome, *Life Sci.*,32(23):2641-7, (1983).

[94] Reimers MJ, Flockton AR, Tanguay RL, 'Ethanol- and acetaldehyde-mediated developmental toxicity in zebrafish', *Neurotoxicol Teratol.*,26(6):769-81, (2004).

[95] Sapienza K, Bannister W, Balzan R, 'Mitochondrial involvement in aspirin-induced apoptosis in yeast', *Microbiology.*, 154 (Pt 9):2740-7, (2008).

[96] Padmanabhan R, Pallot D.J., 'Aspirin-alcohol interaction in the production of cleft palate and limb malformations in the TO mouse', *Teratology*, 51(6), 404-17, (1995).

[97] Heinstra P.W., Geer, B.W, Seykens, D, Langevin, M, 'The metabolism of ethanol-derived acetaldehyde by alcohol dehydrogenase (EC 1.1.1.1) and aldehyde dehydrogenase (EC 1.2.1.3) in *Drosophila melanogaster* larvae', *Biochem. J.*, 259, 791-797, (1989).

[98] Oldham JW, Preston RF, Paulson JD, Mutagenicity testing of selected analgesics in Ames Salmonella strains, *J Appl Toxicol.*, 6(4):237-43, (1986).

[99] Karlikaya G., Varlbaz F., Demirkaya M., Orken C., Tireli H. , 'Does prior aspirin use reduce stroke mortality?', *Neurologist*, 12(5):263-7, (2006).

[100] Rao R.L., Schears R.M., 'Prescription use and survival among nonagenarians presenting to the ED.', *Am J Emerg Med.* Mar 2010 , 28(3):348-53, *Epub* , (2010).

- [101] Marnett, L.J., Hurd, H.K., Hollstein, M.C., Levin, D.E., Esterbauer, H. & Ames, B.N. , Naturally occurring carbonyl compounds are mutagens in Salmonella tester strain TA104, *Mutat. Res.*, 148, 25–34, (1985).
- [102] Hellmér, L. & Bolcsfoldi, G. An evaluation of the E. coli K-12 uvrB/recA DNArepair hostmediated assay. I. In vitro sensitivity of the bacteria to 61 compounds.,*Mutat. Res.* , 272, 145-160, (1992).
- [103] Vural Nevin, Toksikoloji, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, NO: 73, (2005).
- [104] Nijhout H.F., ‘The control of growth’, *Development*, 130:5863-5867, (2003).
- [105] Nijhout H.F., ‘The control of body size in insects’, *Developmental Biology*, 261:1-9, (2003).
- [106] Mathews, P. L., and Stephen F. M., ‘Effect of Artificial Diet on Longevity of Adult Parasitoids of Dendroctonus Frontalis (Coleoptera:Scolytidae)’, *Environ. Entomol.*, 26, 961-965. (1997).
- [107] Morales-Ramos, J. A., Rojas, M.G., and King, E. G., ‘Significance of Adult Nutrition and Oviposition Experience on Longevity and Attainment of Full Fecundity of Catolaccus grandis (Hymenoptera: Pteromalidae)’, *Ann. Entomol. Soc. Am.*, 89, 4, 555-563, (1996).
- [108] Partridge L., Green A. and Fowler K., ‘Effects of egg production and exposure to males on females survival in Drosophila melanogaster’, *J Insect Physiol*, 33(10):745-749, (1987).

EKLER

Ek-A

Cam temizleme solüsyonunun hazırlanışı:

7 gr potasyum dikromat, 1 lt sülfürik asit içinde çözülür. Şişeler bu solusyonda geçirilerek iyice durulanır.

Ek-B

Standart *Drosophila* besiyeri

- Mısır unu	78 g
- Şeker	70,5 g
- Maya	14,25g
- Agar	4,5g
- Asit karışımı	4,5cc
- Distile su	765cc

Asit (Propiyonik asit) hariç diğer malzemeler bir tencereye konarak, orta ateşte sürekli karıştırılarak pişirilir. Kaynayıp, pelteleştikten sonra, kısık ateşte 1-2 dk daha karıştırılarak beklenir. Ateş söndürülüp, 3-4 dk bekledikten sonra asit ilave edilir (kontaminasyonu önlemek maksadı ile), iyice karıştırılarak, asidin homojen dağılması sağlanır. Kültür şişelerini, bir cezve yardımı ile eşit olarak dağıtılır. Soğuyup katılaşına dek üzerine bir filtre kağıdı kapatılır. Daha sonra tülbent ile sarılmış steril pamuk tıkaçlarla şişelerin ağzı kapatılır.

ÖZGEÇMİŞ

1984 yılında Gölcük'te doğdu. İlkokulu Değirmendere'de, orta okul ve lise eğitimini Gölcük'te tamamladı. 2003 yılında girdiği Ondokuz Mayıs Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden 2007 yılında mezun oldu.