

37979

T.C.  
DİCLE ÜNİVERSİTESİ  
Sağlık Bilimleri Enstitüsü  
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı

37979

**KRONİK OLARAK RADYASYON'A (X-IŞINI)  
MARUZ KALMIŞ BİREYLERDE  
BLEOMYCİN'İN KROMOZOMLAR ÜZERİNE ETKİSİ**

(Yüksek Lisans Tezi)

Arş. Gör. Hilmi İSİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Tez Yöneticisi  
Prof. Dr. Turgay BUDAK

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

Diyarbakır — 1994

## **TEŐEKKÜR**

*Çalışmam sırasında değerli bilgi ve önerilerini esirgemeyen tez yöneticim Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Başkanı Değerli hocam Sayın Prof.Dr. Turgay BUDAK'a ;*

*Bilimsel katkılarını esirgemeyen Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Öğretim üyeleri Sayın Prof.Dr. Ali KELLE ve Yrd.Doç.Dr. M. Nail ALP'a ;*

*İstatistiksel değerlendirmelerdeki katkılarından dolayı Sayın Yrd.Doç.Dr.Ömer SATICI, İngilizce Okutmanı Sayın Mehmet DALKILIÇ ve Sayın Uzman Mehmet FİDANBOY'a, D.Ü Tıp Fakültesi ve Diş Hekimlięi Fakültesi Radyoloji çalışanlarına teőekkürlerimi sunarım. Diyarbakır-1994*

**Arş.Gör.Hilmi İSi**

<b>İÇİNDEKİLER</b>	<b>Sayfa No</b>
1.Giriş.....	1
2. Genel Bilgiler.....	3
2.1. Bleomycin Hakkında Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Bleomycin'in İzolasyonu.....	3
2.1.2. Bleomycin'in Kimyasal Yapısı.....	4
2.1.3. Etki Mekanizması.....	4
2.1.4. Bleomycin'in Absorpsiyonu (Metabolizma-Atılım).....	5
2.1.5. Bleomycin'in Preparasyonu (Dozaj ve Uygulama Yolları).....	5
2.1.6. Terapötik Kullanılışı ve Klinik Toksisitesi.....	5
2.2. Radyonüklidler.....	6
2.2.1. Radyoaktivite.....	7
2.2.1.1. Doğal (Natural) Radyoaktivite.....	7
2.2.1.2. Sun'i Radyoaktivite.....	7
2.2.1.3. Nükleer Radyasyonların Özellikleri.....	7
2.2.2.1. Radyasyonun Hücresel Düzeyde Etki Mekanizması.....	8
2.2.2.2. Radyasyonun Hücre Üzerine Etkisi.....	9
2.2.2.3. Hücrelerin Radyasyona Duyarlılığı (Radyosensivite).....	10
2.2.2.4. Kronik Somatik Etkiler.....	11
2.2.2.5. Radyasyonun Genetik Etkileri.....	12
2.2.3. Radyasyonda Korunma.....	13
2.3. Bleomycin ve Radyasyonun Kombine Etkileri.....	14
2.4. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler.....	15
2.4.1. Kromozom Düzensizlikleri.....	19
3. Gereç ve Yöntem.....	22
3.1. Gereç.....	22
3.1.1. Araştırma Populasyonu.....	22
3.1.2. Kimyasal Maddeler.....	22
3.1.3. Solüsyonlar.....	23
3.1.4. Kültür Ortamı.....	24
3.1.4.1. Periferik Kan Kültürü.....	24
3.1.5. Diğer Gereçler.....	24
3.2. Yöntem.....	24
3.2.1 Kromozom Elde Etme Yöntemi.....	25
3.2.2 Preparasyon İşlemleri.....	25
3.2.2.1. Preparatların Değerlendirilmesi.....	26
3.2.2.2. İstatistiksel Değerlendirme.....	27

4. Bulgular.....	29
4.1. Düzensizlik İçeren Hücrelere Ait Bulgular.....	29
4.2. Yapısal Düzensizliklere Ait Bulgular	
4.2.1.Yapısal Kromozom Düzensizliklerinin	
İstatistiksel Değerlendirilmesi.....	33
4.2.1.1. Yapısal Düzensizliklerin Hata Kareleri Ortalamasına	
Göre Belirlenmesi.....	33
4.2.1.2.Yapısal Düzensizliklerin Etkileşime Göre Değerlendirilmesi	34
4.2.1.3. Aynı Doz Farklı Sürelerde Oluşan Yapısal Düzensizliklerin	
Önem Kontrolü.....	34
4.2.1.4. Aynı Sürede Farklı Dozlarda Oluşan Yapısal	
Düzensizliklerin Önem Kontrolü.....	36
4.2.1.5. Doz Grupları Arası ve Doz Grupları İçi Farkın Önem	
Kontrolü.....	37
4.2.1.6. Ortalamalar Arası Farkın Önem Kontrolü.....	38
4.2.2. Deneklerin Bleomycinden Etkilenme Dereceleri.....	39
4.2.3.Yapısal Düzensizliklerin Konumu ve Kromozom Guruplarına Göre	
Dağılımı.....	39
4.3. Sayısal Düzensizliklere Ait Bulgular.....	41
4.3.1. Süre Dışlandığında Doz Faktörünün Poliploid Hücre	
Oluşumuna Etkisi.....	41
4.3.2. Doz Dışlandığında Sürenin Poliploid Hücre Oluşumuna Etkisi	42
4.4. Mitotik İndekse Ait Bulgular.....	43
4.4.1. Mitotik İndeks Bulgularının İstatistiksel Değerlendirmesi.....	44
4.4.1.1. 6 Saatlik Sürede Mitotik İndeks Karşılaştırması.....	45
4.4.1.2. 24 Saatlik Sürede Mitotik İndeks Karşılaştırması.....	45
4.4.1.3. 48 Saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması.....	46
4.4.1.4.Mitotik indeksin toplam ortalamalarının istatistiksel	
değerlendirmesi.....	47
4.5. Satelit Assosiyasyonlarına Ait Bulgular.....	47
4.5.1. Satelit Assosiyasyonlarının İstatistiksel Değerlendirmesi.....	48
4.5.1.1. 6 Saatlik Sürede Satelit Assosiyasyonu Karşılaştırması.....	48
4.5.1.2. 24 Saatlik Sürede Satelit Assosiyasyonu Karşılaştırması.....	50
4.5.1.3. 48 Saatlik Sürede Satelit Assosiyasyonu Karşılaştırması.....	50
4.6 Bulgulara ait Çizelge ve Şekiller.....	51
5.Tartışma.....	70
5.1. Sayısal Düzensizlikler.....	70
5.2. Yapısal Düzensizlikler.....	71

---

5.2.1. Kontrol Grubu.....	71
5.2.2. Deney Grupları.....	74
5.3.Kromozom Gruplarına Göre Yapısal Kromozom Düzensizlikleri.....	82
5.4. Mitotik İndeks.....	83
5.5. Satelit Assosiasyonları.....	84
6. Sonuç.....	86
7. Özet.....	88
8. Summary.....	89
9. Kaynaklar.....	90



## 1. GİRİŞ

Günümüzde bilim ve teknoloji tarihte şimdiye kadarki en hızlı gelişim sürecini yaşamaktadır. Geçmişte soyut olarak ifade edilebilen kavramlar şimdi çoğunlukla somut ifadelerle ve niteliği hakkında net verilerle açıklanabilmektedir.

İnsanların sahip olduğu olanaklar gözden geçirildiğinde bunlar içinde en değerli olanının ona ait sağlıklı yaşama hakkı olduğu mutlaklıdır.

Basamak basamak geline bilim, teknoloji ve bilgi seviyesi insan sağlığı sorunlarını daha anlamlı ve kesin çözüm yollarını önerecek bir açıklığa sahiptir. Bilimin gelişmesi ile biyoloji ve fizik bilimlerinde de gelişmeler had safhaya ulaşmıştır. Bu gelişmeler sahip olacağı birikimlerle daha da ileriye gidecektir. İnsanlar geçmişte sorunlarla karşılaştıkları zaman, sorunlarının çözümünü aramaya başlamışlardır. Çağımız insanı sahip olduğu olanakları sorunları başlamadan önce çözümleri için kullanmada daha pratik hale gelmektedir.

İnsan sağlığı ile ilgili sorunlar toplum yaşamında önemli bir yer işgal etmektedirler. Sorunların çözümü için öncelikle buna neden olan faktörlerin bilinmesi gerekir. İnsanlar, yaşadıkları ortamın koşullarından biyolojik ve fiziksel olarak etkilenmektedirler. İnsanları kalıtsal olarak etkileyen kanserojen etkenlerden biri olan radyasyon doğal kaynaklardan sürekli olarak insanların yaşama ortamını etkilemekte ve bu etkileme gücü çoğunlukla kalıtsal bir varyasyona da dönüşebilmektedir (41). Doğal kaynakların dışında radyoaktif etkiye sahip bir çok aygıt günlük olarak yaşamın bir parçası haline gelmiştir.

Radyoaktif etkiye sahip olan aygıtlar günümüzde olmasa bile gelecekteki toplumların sağlığına olumsuz yönde potansiyel bir birikim oluşturmaktadır. Radyasyonun neden olduğu en önemli sağlık sorunu kronik veya akut etkileşimle belli bir birikim sonrası değişik doku ve organlarda kansere neden olmasıdır. Nitekim radyoaktivite yayan aygıtlarla çalışan bireylerde bazı kanser türleri toplum ortalamasından daha yüksek oranda meydana gelmektedir (31,32).

Çalışmamızda kullandığımız bleomycin bazı kanser türlerinin tedavisinde yalın veya kombine olarak kullanılmaktadır. Kullanılan bleomicinin kanserde tedavi gücünün yanısıra tüm araştırmacıların hemfikir olduğu kromozom yapısı üzerinde olumsuz etkileride mevcuttur. Kromozomlardaki bu tahribat muhtemelen hücredeki onarım mekanizmaları

tarafından çoğunlukla giderilmektedir. Ancak oluşan düzensizliklerin bir kısmı hücrenin sonraki generasyonlarına geçebilmektedir.

Günümüzde bazı araştırmacılar belirli düşük bir doz seviyesindeki radyasyonun ve bleomycinin hücrede meydana gelebilecek kromozomal anomali sayısında bir azalmaya neden olduğunu belirtmektedirler (26,46). Bleomycin ve radyoaktivite organizmada hücre üzerine ve dolayısıyla hücredeki organik materyal üzerine benzer mekanizmalarla etkide bulunmaktadır (27). Bazı araştırmacılar düşük doz seviyesindeki bleomycinin de hücrede hücrenin sonradan karşılaşılabileceği olumsuz faktörler karşısında daha dirençli olacağı yönünde ifadeler kullanmaktadırlar (26). Bazı araştırmacılar da, potansiyel olarak kansere eğilimli olan bireylerin oluşturulacak toplumsal eşik değerlere yakın veya uzak konumdaki radyasyon veya bleomycinden etkilenme derecelerine göre muhtemelen gelecekte o bireylerde kansere eğilim olup olmadığının belirlenebileceğini ifade etmektedirler (20,47).

Biz çalışmamızda denekleri kronik olarak radyasyona maruz kalmış radyoloji çalışanlarından seçtik. Bu bireylerde normal toplum insidansından yüksek bir kromozomal aberasyon sıklığı görüldü. Bu bireylerde bleomycinin daha etkili olduğu ve kromozomal aberasyon sıklığını artırdığı ifade edilmektedir. Elde ettiğimiz verilerle diğer araştırmacıların verileri bu konudaki görüşleri daha da netleştirmektedir (41).

Hücredeki onkogenlerin aktif hale geçmesi koşul ve zamana bağlı olmaktadır (24). Bunları aktif hale getirebilen faktörlerden bir tanesinde radyasyondur. Bleomycin ve radyasyonun hücre üzerinde benzer etkide bulunmaları aktiviteleri baskılanmış onkogenlerin bu baskıdan kurtulup aktif hale geçip daha sorun haline gelmeden bireydeki konumunun belirlenmesi olanağı ifade edilmektedir (18,20,39).

## 2. GENEL BİLGİLER

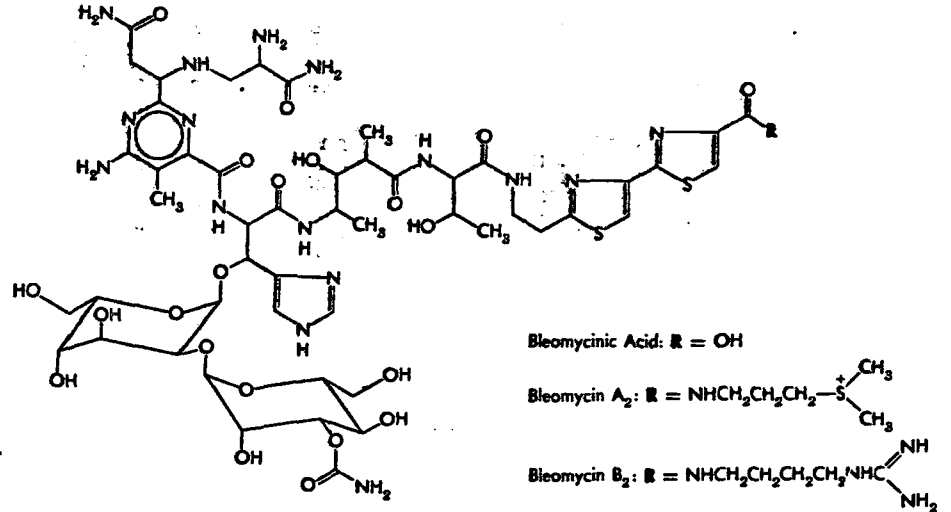
### 2.1. Bleomycin Hakkında Genel Bilgiler

#### 2.1.1. Bleomycin'in İzolasyonu

Bleomycin'ler 1962 yılında Dr.Hamao UMEZAWA ve arkadaşları tarafından *Streptomyces verticilos*'un bir fermantasyon ürünü olarak keşfedilmiş önemli bir antitümör ajanlar grubudur. Klinikte halen kullanılmakta olan ilaç Bleomycin-A2 ve Bleomycin-B2 gibi birbiriyle yakından ilişkili bakır bağliyan iki glikopeptid ajanın karışımından ibarettir. Değişik Bleomycinler sadece amino terminallerindeki kök ile birbirinden ayrılırlar. Değişik aminlerin fermantasyon ortamına katılması 200 den fazla farklı türevlerin oluşmasını mümkün kılar (15).

Toksik etkileri ve antitümör spektrumunun ikisi de bu tür farklılıklarla değiştirilebilir (15).

Bleomycinler değişik insan tümörlerindeki aktiviteleri nedeniyle büyük ilgi çekmişlerdir. Bu tümörlerin arasında deri, baş, boyun ve akciğerlerin squamous kanserleri ve ilaveten lenfomalar ve testiküler tümörler bulunur. Diğer bir çok antineoplastik ajanlara kıyasla Bleomycinler minimum myelosupresif ve imünosupresif aktiviteye sahiptirler. Nadiren kutanöz ve pulmoner toksiteye neden olur. Multidrog kemoterapide önemli bir yere sahiptirler (15,22,38).



Şekil 1. Bleomycinin Kimyasal Yapısı (15).



### 2.1.2. Bleomycin'in Kimyasal Yapısı.

Bleomycinler suda çözünen bazik glikopeptidlerdir ve birinden diğerine kendi amino terminallerindeki kökler ile farklılık kazanırlar.

Bleomycin molekülünün esas yapısı kompleks metal bağliyan bir yapıdır. Propionamid'e bağlanmış pirimidin chromophoru,  $\beta$ -amino alanin amid yan zinciri ve L-gloz ve 3-O-carbomavil - D-mannoz şekerlerini içerir. Bu ana yapıya bağli olarak bir tripeptid zinciri ve bir terminal bitriazol karboksilik asit bulunur. Bu son kısım DNA'ya bağlanır. Bleomycinler  $\text{Cu}^{+2}$  ve  $\text{Fe}^{+2}$  ile ekimolar kompleksler oluştururlar.

### 2.1.3. Etki Mekanizması

Bleomycinler bir dizi ilginç özelliklere sahiptirler ve sitotoksik etkileri DNA fragmentasyonuna neden olma yeteneklerinden kaynaklanır. Bleomycin DNA'ya bağlanarak zincir yarılmaya ve pürin ve pirimidin bazlarının ayrılmasına neden olur, DNA sentezini inhibe eder ve daha az bir derecede de RNA ve protein sentezi inhibisyonuna ve hücre siklusunda hücrelerin  $\text{G}_2$  fazında kümelenmesine neden olur. Bu hücrelerin çoğu kromozomal aberasyon gösterir.

Bleomycinler  $\text{O}_2$  ve  $\text{Fe}^{+2}$  ile etkileşerek DNA'nın yarılmaya neden oluyor gibi gözükümlerdir. Oksijen ve ditiotritol gibi indirgen bir ajan varlığında metalobleomycin kompleksi bir ferröz oksidaz olarak aktive edilir.  $\text{Fe}^{+2}$  den elektronları moleküler oksijene aktararak aktive edilmiş oksijen türevleri üretir ( $1/2 \text{O}_2$  (singletoksijen), oksijen radikali, OH radikali,  $\text{H}_2 \text{O}_2$ ) (50).

Metalobleomycin kompleksinin flavin enzim reaksiyonu, NADPH - sitokrom P450 redüktaz(yapıya bir  $1/2 \text{O}_2$  sokar veya bir "H" çıkarır) ile aktive edilebildiği de gösterilmiştir. Bleomycin DNA'ya amino terminal peptidi ile bağlanır ve aktive edilmiş kompleks serbest radikaller oluşturur. Bu radikaller DNA zincirinin bölünmesinden sorumludurlar. Bleomycin normal dokuda bulunan bir hidrolaz ile yıkılır (ancak bu enzimatik aktivite deri ve akciğerde düşüktür). Bir kısım Bleomycine dirençli hücreler yüksek seviyede hidrolaz aktivitesi taşırlar (15).

#### **2.1.4. Bleomycin'in Absorpsiyonu (Metabolizma-Atılım).**

Bleomycin genellikle parenteral uygulanır ve oral absorpsiyonla ilgili veriler yoktur.

Bleomycin kan beyin bariyerini geçmez. Bleomycin değişik tümörlere lokalize olur. Bu da bu bölgelerde inaktive edici enzim seviyesinin daha düşük olduğu fikrini verir. 15 unit/m<sup>2</sup> bolus doz şeklinde intravenöz uygulamadan sonra 1 ile 10 mU/ml pik konsantrasyonları plazmada elde edilir.

Eliminasyon yarı ömrü yaklaşık olarak 3 saattir. Plazma proteinlerine az bağlanır. İlacın yaklaşık 2/3'ü normal olarak idrarla muhtemelen glomeruler filtrasyonla atılır.

#### **2.1.5. Bleomycin'in Preparasyonu (Dozaj ve Uygulama Yolları)**

Bleomycin sulfat (Blenoxane) 15 ünitelik flakonlarda toz şeklinde temin edilebilir. Tavsiye edilen dozu 10-20 ünit/m<sup>2</sup> dir. (Haftada bir veya iki kez) ve ilaç en uygun olarak intravenöz veya intramüsküler olarak uygulanır. Subcutan, intrapleural, intraperitoneal veya intra arterial enjeksiyonla da verilebilir. 400 üniteyi aşan tedavide pulmuner toksisite insidansı artar. Bleomycin diğer antineoplastik ajanlarla kullanıldığında bu etki daha düşük dozlarda da görülebilir.

#### **2.1.6. Terapötik Kullanılışı ve Klinik Toksisitesi**

Bleomycin testiküler kanser tedavisinde etkilidir. Tek başına verildiğinde Bleomycine cevap hızı yaklaşık %30 dur ve bu değer vinblastin ile birlikte kullanıldığında %90'a çıkar. Bleomycin baş, boyun, deri, özofagus, serviks, vulva, skrotum ve penisi içeren genito-üriner alanın squamous hücreli kanserlerinin tedavisinde de yararlıdır. Hodgkin hastalığında ve diğer lenfomalarda da etkilidir.

Çoğu diğer antineoplastik ajanların aksine Bleomycin minimal düzeyde kemik iliği toksisitesine neden olur. En sık rastlanan yan etkisi ateştir, somatit ve alopesi içeren mucocutaneous reaksiyonlar, hiperpigmentasyon, hiperkeratozis, pineritik eritem derinin ülserasyon ve vezikülasyonudur. Bu ilacın en önemli yan etkisi pulmoner toksisitedir. Tedavi gören hastaların takriben %1'i bu toksisiteden ölür (15,22,38).

İn vivo olarak uygulanan 5 ünit/kg/gün, 15 ünit/kg/gün ve 25 ünit/kg/gün dozunda Bleomycinin geçen zamana göre doz artışına bağlı olarak tümör çapındaki artışın daha az olduğu belirtilmektedir (50).

Farklı sıcaklık derecelerinde (37°C ve 23°C) uygulanan Bleomycinin 37°C de letal etkisinin 23°C de bulunan hücrelerdekinden daha fazla olduğu gözlenmiştir (27). Bleomycin konsantrasyonu ile ortamda canlı kalan hücreler arasında ters bir ilişki mevcuttur. Bleomycine direnci artıran enzime ait genin insanlarda 6 nolu kromozomda lokalize olduğu belirtilmektedir. (Bl-10 Glutathione S-trasferaze -  $\alpha$  için). GSTs Gama geni 1 nolu kromozomda ve GSTs Pi geni de 11 nolu kromozomda lokalize olmuştur (13).

Bleomycin uygulanmasında genç bireylere ait hücrelerde daha fazla kırılma meydana gelmektedir. Kromozom kırığı duyarlılığı tütün kullanmayanlar ve 30 yaşın altındakilerde daha belirgindir. HSU'ya göre mukozadan türeyen tümörlerde olduğu gibi sonuçta kansere dönüşen tümörlerin genetik olarak kanserojene duyarlı olan kimselerde olduğu görülür. Bleomycine duyarlı olan bireyleri bu hassasiyetin bir göstergesi olarak kullanmaktadır (39). Bleomycine bazı bireylerin de normal popülasyondan daha fazla duyarlı olmaları bunların gelecekte muhtemelen kansere yakalanma riskini taşıdıklarını belirtmektedir (20,39,47).

## 2.2. Radyonüklidler

Radyonüklidler organizma tarafından aynen radyoaktif olmayan izotoplar gibi biyolojik ve metabolik işleme tabi tutulurlar. Yayıldıkları radyasyonlar sayesinde nükleer dedektörler ile yerlerinin ve miktarlarının tespit edilmesi mümkündür. İşte bu özelliklerinden dolayı tıpta teşhis ve araştırmalarda, fazla miktarda (dozda) verilmeleri halinde dokuyu tahrip etme özelliği nedeniyle tedavi amacıyla kullanılmaktadır. Radyonüklidlerin teşhiste kullanılması iki ana bölüme ayrılarak incelenebilir.

### 1. İn Vivo Teşhis

- a- Organ ve tüm vücut görüntüleme tekniği (morfolojik bilgi)
- b- Fonksiyon tetkikleri (dinamik bilgi)

### 2. İn Vitro Biyokimyasal Analiz

- a- Biyolojik materyalin incelenmesi
- b- Radioimmuno-assay (RIA)

Radyonüklidlerin başlıca araştırma alanı ise; fizyolojik ve biyolojik mekanizmaların aydınlatılmasına yönelik deneysel çalışmalar ve radyofarmasötiklerin farmako-kinetiğinin incelenmesidir.

### 2.2.1. Radyoaktivite

Radyoaktif denilen atomların çekirdeklerinin kararsız yapıları nedeniyle kendiliklerinden parçalanarak bazı ışınlar yayması özelliğine "radyoaktiflik" denir. Radyoaktif madde radyoaktif atomları içeren maddedir. Atom numarası (Z) belirli bir elementin bir çok kararlı izotopları ve kararsız izotopları (radyoizotopları) bulunabilir. Bu element için radyoaktif denilir.

#### 2.2.1.1. Doğal (Natural) Radyoaktivite

Atom numarası 82 den büyük olan nüklidlerin çoğu tabiatta radyoaktif halde bulunur. Atom numarası 40 olan Potasyum ve 14 numaralı karbon da doğal radyoaktiftir.

Doğada dört radyoaktif seri bilinmektedir. Thoryum serisi kurşun 208'e kadar, Aktinyum serisi kurşun 207'ye kadar, Uranyum serisi kurşun 206'ya kadar, Neptunyum serisi Bizmut 209'a kadar parçalanarak kararlı hale ulaşırlar. Dünyada yaşayan canlılar bu parçalanmalardan yayılan radyasyonların etkisi altındadır.

#### 2.2.1.2. Sun'i Radyoaktivite

Stabil elementler, siklotron (cyclotron) denilen alette elektromagnetik alan içerisinde hızlandırılmış partiküller ile veya nükleer reaktörlerde nötronlar ile bombardıman edilerek radyoaktif hale getirilmektedir. Böylece suni radyoaktif nüklidlerin eldesinden sonra (1934), organizmadaki metabolik olayları dinamik olarak incelemek kolaylaşmış ve radyo nüklidler bu amaç ile kullanılan başlıca izleme (Tracer) maddesi olarak yaygın kullanım alanı bulmuştur.

Bugün bin kadar radyonüklid bilinmektedir ve bunların 40'ı doğal radyonüklidtir.

#### 2.2.1.3. Nükleer Radyasyonların Özellikleri

Nükleer parçalanma (radyoaktif bozunma) sırasında meydana gelen radyasyonları yapılarına göre iki grupta toplayabiliriz. Alfa ( $\alpha$ ) ve Beta ( $\beta$ ) radyasyonu partikül özelliğindedir, Gamma ( $\gamma$ ) radyasyonu ise elektromagnetik özelliktedir.

Alfa ( $\alpha$ ) radyasyonu çift yükü ve ağır kütlesi nedeniyle iyonizan yeteneği ve Linear Enerji Tranferi (LET) oldukça fazladır. Yumuşak dokuda erişme uzaklığı 20-40 mikron kadardır. Yüksek oranda toksiktir. Solunum, gıda gibi yollarla organizmaya alınmaları halinde önemli sağlık sorunu yaratır. Beta ( $\beta$ ) iyonizan yeteneği azdır. Gamma ( $\gamma$ ) radyasyonu x-ışını ile aynı karakteristiğe sahiptir. Eksitasyon, iyonizasyon ve penetrasyon güçleri benzerdir. Ancak gamma çekirdek orijinlidir, x-ışını ise orbital elektron strüktürüdür ve hedef materyalden üretilir.

Elektromağnetik radyasyonların frekanslarına dalga boylarına ve enerjilerine göre sıralanmaları "Elektromağnetik Spektrumu" oluşturur. Alfa ve Beta radyasyonları kütleleri ve elektriksel yükleri nedeniyle partikül özelliğinde olduklarından elektromağnetik spektrumda yer almazlar. Sadece gama radyasyonu bu spektrumda yer alır. Bütün elektromağnetik dalgalar aynı tabiatta ve karakteristiğe sahiptir. Ancak, enerjileri farklıdır.

Noktasal bir kaynaktan veya ince bir aralıkta çıkan elektromağnetik radyasyon demetinin şiddeti uzaklığının karesiyle ters orantılı olarak değişir. Buna Ters Kareler Yasası denir. Bu özellik radyasyondan korunmada uygulanan en geçerli yöntemlerden biridir. Ancak, nokta kaynakları için pratiktir. Yaygın kaynaklar için uygulanamaz.

Radyoaktif parçalanma hızı ne kimyasal reaksiyonlar ne de fiziksel koşullar (sıcaklık, basınç, ışık, ışınlandırma) ile etkilenecek değiştirilemez, durdurulamaz, yavaşlatılamaz veya hızlandırılmaz. Dolayısıyla fizik yarı ömür hiç bir yolla değiştirilemez. Rastgele meydana gelen bozulmaların çoğu normal (veya Gauss) dağılımına uymaktadır.

Bir radyoizotopun aktivite miktarını ölçmek için kullanılan temel birim kûri (Curie) dir, Ci sembolü ile gösterilir. Kûrinin binde birine milikûri (mCi), milyonda birine mikrokûri ( $\mu$ Ci) denir. Kullanımı milikûri seviyesindedir.

İyonlaştırıcı radyasyonların zararlı biyolojik etkilerini ölçmek için klasik sistemde; röntgen equivalent man kelimesinin ilk harflerinden oluşan "rem" birimi kullanılır. Değişik radyasyonlarının herhangi bir rem dozu aynı radyobiyolojik etkiyi sağlar. Radyasyonların ölçülmesinde; radyasyonun eksitasyon, iyonizasyon, fotoğrafik, flooresan, biyolojik ve ısı etkileri gibi özelliklerinden yararlanılır.

### **2.2.2.1. Radyasyonun Hücresel Düzeyde Etki Mekanizması**

Radyasyonlar etkilerini vücuttaki hücrelerin normal fonksiyonlarını bozmak suretiyle meydana getirirler. İyonlaştırıcı radyasyonun hücre içine geçişi, çok karmaşık direkt ve indirekt olaylar zincirini başlatabilir. Bu

olaylar zincirinin dört ana devreden oluştuğu düşünülmektedir. Bunlar sırasıyla fiziksel, fizikokimyasal, kimyasal ve biyolojik devrelerdir.

Önce radyasyon enerjisinin hücrenin bulunduğu ortamda absorblanması ile "iyonlaşma ve uyarılma olayları" meydana gelir. Bunlar fiziksel ile fizikokimyasal devreleri içerir. Primer seviyede makromoleküller zarar görebilir veya suyun etkileşmesiyle yüksüz radikaller (kökler) oluşabilir. Bu radikaller arasında kimyasal reaksiyonlar meydana gelir. Bu da kimyasal devreyi oluşturur. Hücrede meydana getirilen zarar sonucu, radyasyon dozuna, dozun verilme hızına, LET'ne, dozun dokularda dağılımına ve dokunun radyosensitivitesine bağlı olarak biyolojik etki ortaya çıkar. Bu etki biyokimyasal değişiklikten organizma ölümüne kadar gidebilir. Radyasyonda indirekt reaksiyonlar daha önemlidir.

Radyasyonun çarparak su moleküllerinden çıkardığı elektron başka bir su molekülü tarafından tutulur ve şimdi negatif yüklü olan bu su molekülünde iki parçaya bölünür, bir parçası hidrojen radikali ( $\cdot H$ ) ve diğer parçasıda hidroksil iyonu ( $OH^-$ ) olur. Hidrojen radikalinden ara reaksiyonlar sonucunda hidrojen peroksit ve hidroksil oluşur. Bu oluşumlar sırasında radikaller birer organik molekül parçalarıdır. Sonuç olarak bir fotonun su molekülüne çarpması neticesinde dört organik molekül haraplanmış olur.

İndirekt radyasyon etkisini radyoprotektif maddelerin etkisiyle azaltmak mümkündür (31).

#### **2.2.2.2. Radyasyonun Hücre Üzerine Etkisi**

Zarar tek bir moleküldeki hemen oranılabilecek değişiklikten hücre ölümüne kadar farklılık gösterebilir.

Hücrede enerji içeren bir kaç molekül zarar görürse hücre için pek önemli değildir. Enformasyon taşıyan moleküller radyasyonla haraplanacak olursa bu bilgi kaybedilebilir (31,32).

Radyasyonda ışınlama sırasında hücre hangi evrede olursa olsun siklus G2 evresinde bloke olur. Tüm hücreler G2 evresinde toplanır ve duraklama sona erince hep birlikte mitoz girerler. İrreversibl etkisinin meydana gelmesi için yüksek dozda ışınlamaya gerek vardır (31).

DNA'nın iki şeridinde de radyasyon zararı karşılıklı noktalarda meydana gelmişse hücre bunu düzeltemez. İyonize radyasyonun etkilerinden biride kromozom yapısındaki değişimler ve kromozom kırıklarıdır. Bunlar kromozom tipi kırıklar kromatid tipi kırıklar ve subkromatid tipi kırıklardır. Radyasyonun bölünen hücrelerdeki öldürücü



etkilerinin temelini kromozom kırıklarının oluşturduğu bilinmektedir (8,31,32,37). Down sendromlu bireylerin lenfositleri x-ray'a karşı normal bireylerinkinden daha duyarlıdır (1,5-2 kat) (37). Go fazında uygulanan 2Gy dozunda radyasyon G1 de uygulanan radyasyondan daha fazla kromatid aberasyonları oluşturur (%5,%10).Radyasyonda bireyler arasında farklılıklar gözlenmektedir(37). Yaş, doz ve kromozomal aberasyon parametrelerinin analizi yaş-doz arasında pozitif bir etkileşme olduğunu göstermektedir. Radyolojide çalışanlarda hypoxanthine guanine phosphoribosyl transteraz (HCPRT) hemolysate enziminin düşük seviyede olduğu ( $P<0.05$ ) bundan dolayı SCE'lerin ve kromozomal aberasyonların sıklığının yüksekliğine neden olmaktadır (bireyler 31-40 rem birikime sahiptiler) (41).

Anafaz esnasında serbest halde oluşan disentrikler kolay bir şekilde sonraki bölünmelere geçebilir, ancak bu disentrikler birbirlerine bağlı kalsalar ya hücre ölümünden elimine olurlar ya da anafaz ayrılması ve sitokinez olmamasından dolayı poliploid şekle dönüşürler. Stabil olmayan sapmalar (disentrik, ring fragment, asentrik gibi) bölünen bir hücre populasyonunda sonraki her bölünmede giderek elimine olmaktadır (9).

Yüksek dozda verilen radyasyonun düşük dozda (aynı miktarda) verilenden daha fazla disentrik kromozom oluşumunu arttırdığı belirtilmektedir. Radyasyonun kesilmesinden sonra disentrik sıklığında azalma meydana gelmektedir (16).

Düşük dozda etkileyici radyasyonun verilmesiyle aberasyonların iki homolog kromozomda da meydana geldiği belirtilmektedir (Lea 1946). Radyasyon etkili moleküler teori modelinde de radyasyon etkisi ile sonunda DNA'nın iki ipliğindeki kırıklar kromozomal aberasyonları oluşturuyor. Mevcut çalışmalarla kromozom yapısal değişimlerinden disentriklerin oluşumunu lezyon-nonlezyon etkileşimde iki şekilde vermektedir. Biri lezyon-nonlezyon etkileşimde bir telomer-lezyon rejoining işlemleriyle olanıdır (Chawich ve leenhouth 1973-1978).İkincisi lezyon-nonlezyon kromozomal etkileşimde belirli bir mekanizmaya bakılmaksızın meydana gelenidir (8).

### **2.2.2.3. Hücrelerin Radyasyona Duyarlılığı (Radyosensivite)**

"Bergonie ve Tribondeau yasası"na göre morfolojik ve fizyolojik olarak erişkin karakterini almış hücrelere kıyasla immatür hücreler ve mitotik aktivite gösteren hücreler radyasyona daha duyarlıdır. Bu yasa iyonlaştırıcı radyasyona karşı hücre duyarlılığının ana ilkelerini vermektedir.

Duyarlılık bakımından lenfositler, kemik iliğindeki ana kan hücreleri (blastlar), mide ve barsak epiteli, ovaryum ve testisin germ hücreleri çok duyarlı hücreleri, epidermis ve deri adneksleri, damar endoteli, tükürük bezleri, kolagen ve elastik dokular, göz dokuları (konjunktiva, kornea, lens), gelişmekte olan kemik ve kıkırdak orta derecede duyarlı, karaciğer, böbrek, olgun kemik ve kıkırdak, endokrin bezler, kaslar, beyin ve sinir doku hücreleri de dirençli hücreler grubunu oluşturmaktadır.

#### **2.2.2.4. Kronik Somatik Etkiler**

Ufak radyasyon dozlarının sürekli veya kısa aralıklarla uzun zaman içinde alınması sonucu meydana gelen kronik radyasyon sendromu en az bir kaç yıl içinde ortaya çıkabilir. Maruz kalınan radyasyonun dozu ve vücut kısmına bağlı olarak bu süre 20-30 yıl kadar da uzun olabilir. Rutin mesleki çalışmalar bu sınıfa girer.

Bu etki genelde internal ışınlamadan sonra görülür.

Canlılar Eksternal ve İnternal olmak üzere devamlı doğal ve yapay radyasyon kaynakları içinde yaşamaktadır. Radyasyonun başlıca kronik etkileri: Ömrün kısalması, erken yaşlanma, lösemi insidansında artış, selim ve habis tümör insidansında artış şeklinde sıralanabilir.

Warren'in istatistiksel araştırmalarına göre radyologların ortalama ömrü tüm doktorların ortalama ömründen 5.2 yıl daha kısadır (65.7-60.5). Ancak son yıllardaki etkin önlemlerle bu risk kalkmıştır.

Birikmiş (kronik) radyasyon dozunun belirli bir eşik değere (300 rem) ulaştıktan sonra ortaya çıkan lösemi ve kötü huylu (malign) tümörler gibi kronik etkiler akut radyasyon etkilerinden daha tehlikeli kabul edilmektedir (31,32).

Akciğer kanseri oluşumunda sigara içimi ve iyonlaştırıcı radyasyon arasında sinerjistik bir etki görülür. Sigara içen madencilerin radonun neden olduğu akciğer kanserine arkadaşlarına oranla daha az dirençli oldukları açıklanmıştır (44). Rad olarak uygulanan dozun artışına bağlı olarak hücre çoğalmasında azalma olduğu gözlenmektedir (50).

Bireyler arasında aynı dozdaki radyasyona duyarlılığın farklı olabileceği ve aynı bireyinde farklı zamanlarda farklı duyarlılığa sahip olabileceği belirtilmektedir (21).

X-radyasyon hücrel harabiyete neden olmakta ve malignant transformasyonda rol oynamaktadır (30). Sporadik unilateral non-herediter retinoblastomada x-radyasyona normal sensivite göstermektedir (17).



### 2.2.2.5. Radyasyonun Genetik Etkileri

Bu konudaki veriler hayvan deneylerine dayanmaktadır. Gonadların ışınlanmasında germ hücrelerinin kromozom yapısı bozulup mutasyonlar oluşabilir ve kalıtımla geçen anomaliler olabilir (doğumsal anomaliler). Ovaryum ve testisteki germ hücrelerinin ışınlama ile bir kısmının ya da tümünün ortadan kalkmasıyla geçici veya sürekli kısırlık oluşur. 500 rem üzeri sürekli sterilite yapar. Radyasyon her hangi bir değerinde (bir eşik değer yoktur) mutasyona neden olabilir.

Bugünkü nüfusta konjenital malformasyon, zeka geriliği gibi defektli kişilerin %2'si genetik orijinlidir ve bunlardan bir kısmı kesinlikle iyonize radyasyon nedeniyle. Fakat tam %'si belli değildir. Günümüzde, sonuçlar radyasyonun genetik etkilerinin zarar verici mutasyonlara önemli bir neden olmadığı şeklindedir.

The Committee on the Biological Effects of Ionizing Radiations (BEIR) in 1980 de yaptığı değerlendirmeye göre:

1- Radyasyon mutasyonlarının fiziksel ve biyolojik çeşitlilikleri deneysel olarak araştırılmıştır. Bu nedenle genetik riskin hesabında belirsizlikler azaltılmıştır.

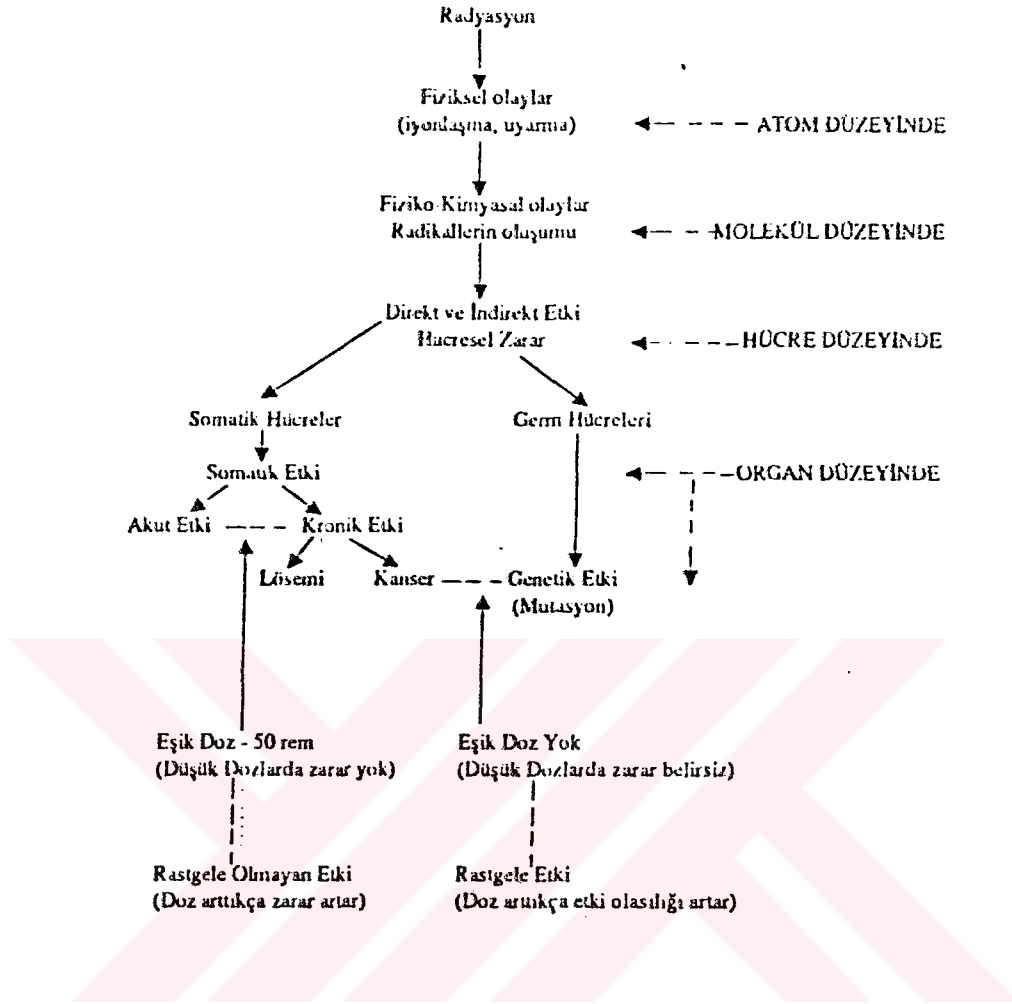
2- Genel nüfustaki genetik riski "rem başına her nesilde oluşan etkiler" şeklinde hesaplandı. Ebeveynlerin 1 rem'e maruz kalması sonucunda ilk nesilde canlı doğan 1 milyon çocuktan 5-75 tanesinde fazladan ciddi genetik defekte neden olduğu hesaplandı.

Her bir nesilde 1 remlik radyasyona maruz kalınmasıyla 1 milyon canlı doğan çocuktan 60-100 adedinde ciddi genetik bozukluk hesaplandı.

3- Radyasyonun genetik riski, genetik orijinli ciddi hastalıkların insidansına nazaran daha önemsizdir (31). Şeklinde belirleme yapmıştır.

Günümüzde modern tıp radyasyonun biyolojik etkilerinin incelenmesinde, gelişen ebriyoyu odak noktası olarak kabul etmektedir. Bunun başlıca nedenlerinden biri, tıp alanında çalışan kadınların çoğunu doğurganlık yaşındakilerinin oluşturmasıdır.

ÇİZELGE 1 Radyasyonun Biyolojik Etkileri (31).



Embriyonun tüm elemanları yüksek derecede radyosensitiftir. Hücreleri gelişmenin başlangıç safhasındadır, son derece yüksek mitoz geçirmektedir, hücreler diferansiye olmamıştır. Fetal gelişmenin ilk üç ayı (ilk trimester) safhaları önemlidir. Nükleer Regulatory Commission (NCR) tarafından hamilelik süresince meslek çalışanları için en çok 0.5 rem/9 ay doz önerilmiştir (1975).

### 2.2.3. Radyasyonda Korunma

Çeşitli radyasyon kaynakları ile çalışanlarda doğacak tehlikelere karşı önceden uygun korunma tedbirleri alındığı takdirde, radyasyonla çalışma emniyetli bir iştir.

Radyasyon korunmasında temel standartlar Milletlerarası Radyolojik Korunma Komisyonu (ICRP) tarafından bildirilmektedir. Radyasyonla çalışanların bir haftada alabilecekleri maksimum müsaade edilen doz şiddeti (MPD) 100 milirem, seneden müsaade edilen doz ise 5 rem'i geçmemelidir. Normal toplum bireyinde bu oran 0.5 rem/yıl dır (31.32).

### 2.3. Bleomycin ve Radyasyonun Kombine Etkileri

Bleomycin'in 200 µg/ml'lik dozunda DNA sentezinin %40 oranında azaldığı ve x-ray'in 20 Gy dozunda verilmesi ile normal bireyde DNA sentezinin %65 oranında azaldığı tespit edilmiştir. AT'li hastalar x-ray ve Bleomycine daha duyarlıdırlar (48).

Butyratlı hücrelerde x-ray ve Bleomycin etkisiyle kromozomal aberasyon sıklığında relativ bir yükselme gözlenmektedir (1.4 ve 1.6 oranında) (37).

Saccharomyces cerevisiae'nin Bleomycin'e duyarlı mutantları üzerine yapılan çalışmada Bleomycine duyarlı olan suşların iyonize radyasyona karşıda duyarlı oldukları, bazı mutant tiplerinde Bleomycine duyarlı olmalarına rağmen iyonize radyasyona duyarlılık göstermemişlerdir (27).

Bleomycin'e adapte olan lenfositlere yüksek dozda Bleomycin ve x-ray'in verilmesi ile adapte olmıyanlara nazaran anlamlı seviyede az kromozomal aberasyon tespit edilmiştir. 0.01 µg/ml ve 0.05 µg/ml'lik Bleomycin dozunun en iyi adabtasyonu sağladığı belirtilmektedir (46).

Ataxia Tellangiectasia (AT)'li hastalarda hücrelerin iyonize radyasyon ve Bleomycin ile işleme tabi tutulduktan hemen sonra hasarın meydana geldiği tespit edilmiştir. Hücrelerde etkileşimden sonra ilk 30 dakikada oluşan bir tamir kısmı ve sonradan oluşan yavaş tamir kısmı mevcuttur. AT'li bireylerin hücreleri iyonize radyasyona oldukça duyarlıdırlar. x-radyasyon kromozom tipi ve kromatid tipi aberasyonların artmasına neden olur. Bleomycin'in etki ettirilmesi ile de aynı sonuç meydana gelmektedir (18).

Bleomycin moleküler oksijen ve demirli kompleksler oluşturarak DNA kırılmalarına neden olabilir. Bu etki radyasyonla benzer bir etkidir. Ayrıca Bleomycin kaynaklı kromozom kırılmasının gözlenen hızı DNA onarım yetersizliğinin bir yansıması olabilir (39). Hibrid hücre kullanılarak yapılan çalışmada gamma radyasyon ve Bleomycin dozunun artırılmasına paralel olarak ortamda yaşayan hücre sayısında azalma olmaktadır (12).

## 2.4. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler

Tijo ve Levan'ın 1956 yılında insan kromozomlarının tam sayısını ( $2n=46$ ) ortaya koymasından sonra tanımlanan kromozom hastalıklarının sayısında belirgin bir artma görülmüştür. 1971'de Paris'te yapılan toplantılarda kabul edilen ilkelere göre Denver Klasifikasyonu geliştirilmiş ve insan kromozomları standardizasyona tabi tutularak ortak adlandırma sistemi kabul edilmiştir.

Günümüzde kalıtım materyalinin tanınması ile ilgili çalışmalar daha ileri götürülerek "İnsan Genom Projesi" olarak bilinen ve hem insan hemde model organizmalarda DNA'nın düzenlenmesine ilişkin tam ve işlevsel bir bilgi birikimi için çalışmalar yapılmaktadır (14,19). Kalıtım materyalinin temelini oluşturan Deoksiribonükleotidlerin lineer olarak dizildiği bir makromolekül olan DNA hakkındaki bilgiler Watson ve Crick (1953) tarafından yapısının belirlenmesinden günümüze kadar artmıştır (42).

İnsan genomuna ait kalıtım materyali nükleusta ve mitokondrilerde bulunur. Mitokondriler maternal kökenlidir. Her hücrede yüzlerce mitokondri bulunur ve her mitokondride de 2 ile 10 arasında dairesel mitokondrial DNA (mDNA) bulunur. İnsan genomunda 50.000 ile 100.000 gen olduğu tahmin edilmektedir. Bu genler yaklaşık olarak 3.300.000.000 bp (baz çifti) den oluşmuştur (19,33).

Bir genomun moleküler diseksiyonu belirli bir koordinat sistemine uygun olarak geliştirilmiş işaretler arası ilişkiyi belirleyen haritalarla DNA organizasyonunu gösteren haritaların yapımını kapsar. DNA'nın organizasyonunu gösteren üç tip harita vardır (Sitogenetik, Fiziksel ve Genetik haritalar) (14).

### 1- Sitogenetik Haritalar

Sitogenetik haritalar kromozoma mikroskopla bakıldığında görülen görüntülerdir. Her biri 1 ile 5 milyon baz çifti içeren ve kromozoma özgü görüntü veren, değişik tonda boyanan bölgelerin (bantlar) görünümü özellikle önemlidir. Bu haritaların rezolüsyonu çok düşüktür, ancak özgül kromozomların ve kromozom bölgelerinin belirlenmesinde önemli fonksiyonları vardır. Söz gelimi karyotip bir bireydeki delesyon, rearanjman, translokasyon ve başka kromozom anormalliklerini gösterebilen bir görsel kromozom simgesidir (5, 14,19,45). Bu kavram anlayışı içinde insan kromozomlarının yapısına bakarsak: İnsan somatik hücreleri 46

kromozomdan (23 çiftten ibarettir) Bu 23 çiftin 22 çifti erkek ve dişilerde aynıdır ve AUTOSOM lar olarak adlandırılır. Diğer çift ise seks kromozomları olarak adlandırılır. Dişilerde XX ve erkeklerde XY olarak bulunur. Çift oluşturan homolog kromozomlar benzer genetik informasyonu taşır, aynı bölümlerde benzer gen lokusları bulunur. Bu lokusların ikisi de identik veya farklı olabilirler, bunlara allel ler denir (5,34, 42,45).

Kromozomlar insan hücresinin mitoz bölünmenin prometafaz veya metafaz safhasında analiz için en iyi görüntüyü verirler. Bu safhada her kromozom iki kromatitten sentromerden tutunmuş olarak görünür. Her kromatid çift heliks DNA'dan oluşmuştur.

Sentromer veya primer boğum hücre bölünmesinde iğ ipliklerinin bağlanıp çekildiği bölgedir. Sitolojik olarak kromozomu iki kola ayıran standart bir işarettir.

İnsan akrosentrik kromozomları (13,14,15,21,22 nolu kromozomlar) az miktarda kromatin maddesi ihtiva eden ve kromozomun kısa koluna ikinci bir boğumla bağlı satellitler bulunur. Bu beş kromozom çiftinin satellitlerinde 18s ve 28s ribozomal RNA (rRNA) genlerini taşıyan ve boyanmayan sekonder darlık bölgeleriyle ayrılmış kısımlardır. Skonder darlık bölgelerinin aktif transkripsiyonlarının pozitif gümüş boyanmasıyla belirlendiği bu kesimler Nükleolus oluşturan bölgeler (NOR) olarak tanımlanmaktadır (42,45).

Bunun dışında genomda değişik kategorilerde tanımlanan tekrarlıyan DNA'lar mevcuttur. Bunlara topluca satellit DNAs denir. Bu akrosentrik kromozomlarda görülen satellitlerle aynı değildir. Satellit DNAs 1,9 ve 16 nolu kromozomların uzun kollarının proksimallinin heterokromatik bölgesinde ve Y kromozomunun uzun koluna yakın bölgede bulunur. İnsan genomunda bunun dışında satellit DNAs'ın oluşturduğu mini satellitler de mevcuttur. Mini satellit bölümleri genomun bireyler arasındaki farklılığını açıklamakta önemlidirler. Kalıtsal bazı hastalıkların tanınmasında ve adli tıpta bunlardan yararlanılmaktadır (45).

Boya metodları ile 24 tip kromozomu (22 otozom, X ve Y) ayrı ayrı tanımlamak mümkündür.

Y kromozomunun yapısı ve seksüel gelişmedeki rolü molekül seviyesinde analiz edilmiştir. Erkek mayozunda X ve Y kromozomları kısa kollarının sonları ile çift oluştururlar, X ve Y kromozomları bu bölgede pseudo autosomal bölgeyi kapsar. Çünkü, bu iki kromozom bu bölgede otozom çiftleri gibi biri diğerine homologdur, crossing-over olayı bu bölgeler arasında gerçekleşebilir (45).

Kromozomları A'dan G'ye kadar uzunlukları ve sentromerin durumuna göre yedi grup içinde sınıflandırıyoruz. Otozomlar genel uzunlukları dikkate alınarak 1 den 22 ye kadar numaralandırılır. Yalnız 21 nolu kromozom daha kısa olmasına rağmen 22 noludan daha önce yerleştirilmektedir. X kromozomu boyca 7-8 nolu kromozomlar arasında yer alır. Ancak, karyotipte 6 nolu kromozomdan önce yerleştirilir (3,42,45).

1970'lerin başlarında geliştirilen bandlama teknikleri ile sitogenetikçilerin kromozomları tek tek ayırabilme yeteneği artmıştır. Q-bandlaması kinakrin boyası ve floresan mikroskopi yöntemi ile yapılırken; G-bandlaması (Giemsa bandlaması) lama yayılmış kromozomların genellikle uygulandığı üzere tripsinle ön muamele görmesi sonrada giemsa ile boyanması ile gerçekleştirilir. R-bandlaması (ters "reverse" bandlama) ters şekilde oluşur. Yani, Q ve G bandlamalarında boyanmayan kesimler R-bandlama tekniği ile boyanırlar. Çoğu kromozom uçları Q ve G bandlarıyla boyanmazken R-bandlaması ile boyanır ve böylece yöntem küçük terminal eksiklik veya translokasyonların saptanmasına yarar. Yine de Q ve G bandlaması kromozom düzensizliklerinin belirlenmesinde en çok kullanılan yöntemlerdir. Y kromozomu Q-bandlaması yapıldıktan sonra uzun kolundaki şiddetli floresan ile teşhis edilir. C-bandlaması (sentromer bandlaması) denen bir başka teknikle Y dışındaki kromozomların hepsinin sentromer bölgeleri boyanır. Y'nin tüm uzun kolu C-bandlaması pozitifdir. Bu yöntemle boyanan kromozom kesimlerinin ileri derecede tekrarlıyan baz dizinli DNA içerdikleri düşünülmektedir. Bu tür DNA genetik açıdan inaktiviteyle eş anlama gelir; bu nedenle C-bandı oluşan kromozom kesimlerindeki değişkenlik normal kişilerde gözleendiğinde C-band polimorfizmi diye adlandırılır. Q-bandları polimorfizminde normalde ve özellikle akrosentrik kromozomların kısa kollarıyla satellit kesimlerinde rastlanır. Her iki tür polimorfizm mendeliyen kalıtım gösterir (14,45).

G-bandlaması ile her bir kromozom ardışık sıralanan farklı genişliklerde 200-500 arası açık ve koyu bandlarla ayırt edilebilen bir haploid set gösterdiği saptanabilir. İleri çözümüleme bantlama (High Resolution Banding) tekniği ile de bir haploid set te 2000'e kadar bant ayırtedilebilir. Burada hücrelerde kromozom sentezi senkronize edilip kromozomların metafazın erken döneminde elde edilmesiyle gerçekleştirilebilir. Kural olarak denilebilir ki G ve Q-pozitif bandlar daha geç DNA sentezlerler ve daha az etkin DNA içerirler, oysa; R-pozitif bandlar hem daha erken sentez yaparlar hem de genetik açıdan daha aktiftirler (42). Bu yöntemle kromozomlarda fragil kismada bakılabilir. Normal boyama



yöntemleriyle kromozomlardaki fragiliteyi izlemek zordur. Özellikle fragil-X sendromlarının tanınması için bu yöntemlere başvurulur. Bunların dışında gelişmiş floresan mikroskopi yöntemlerinden yararlanarak sitojenik haritadaki kromozom bölgelerinde istenen DNA parçalarını lokalize etmek mümkündür (14, 42,45).

## 2- Fiziksel Haritalar

Fiziksel haritalar, tıpkı şehirlerarası uzaklığın belirtildiği yol haritalarında olduğu gibi belirli işaretler arasındaki uzaklığı gösterirler. DNA için en basit harita restriksiyon haritasıdır ve restriksiyon enzim (ler) in DNA'yı kestiği yerleri gösterir. Her biri DNA'yı kendine özgü kısa dizilerde kesen, yüzlerce restriksiyon enzimi vardır. Klonlanmamış insan DNA'sının restriksiyon haritasını yapmak hem zor hem de sağladığı yararlar açısından sınırlıdır. Rekombinant DNA klonlarından elde edilen fiziksel haritaların daha yararlı olduğu gösterilmiştir. DNA'nın fiziksel haritasını yapmak için günümüzde en fazla üç yöntemden yararlanılır. Bunlar **Restriksiyon, Kontig ve STS** haritalarıdır. **Restriksiyon haritası**; her klonda restriksiyon enzim(ler)inin kestiği relatif yerlerin belirlenmesiyle oluşan şekildir, Kontig haritası ise DNA parçasının bölümleri birleştirilirken, her parça ayrı ayrı özel işaretler açısından analiz edilir ve daha önce analiz edilmiş parçalarla karşılaştırılır. Benzerlik bulunduğunda iki parça çakıştırılır ve parçalar birbirlerine tıpa tıp benzemeyeceğinden biraz daha büyük bir parça oluşturulur. Çakışan bu sıralı kolon setlerine "Kontig" adı verilir. Klonlar kesintisiz bir DNA parçası oluşturduğundan Kontig hakkındaki bilgilerle DNA'nın Kontig haritası oluşturulabilir. **STS (Sequence-tagged Site)**ler PCR ile özgül olarak saptanabilen kısa DNA dizileri (100 ile 1000 baz çifti) olarak tanımlanır; aslında STS'ler fiziksel DNA işaretleridir, PCR ise onların tanınması için kullanılan deneysel bir yöntemdir. STS haritaları, bir DNA bölgesinde STS'lerin birbirlerine göre konumunu ve sırasını temsil eder (14).

## 3. Genetik Haritalar

Bağlantı (linkage) haritaları olarak da bilinen genetik haritalar belirli bir DNA aralığında genetik (fizikselin tersine) işaretlerin (marker) görece konumlarını yansıtır. İşaretlerin aralıkları fiziksel uzaklıklardan çok kalıtsal

özelliklere dayandığından fiziksel ya da sitogenetik haritalara göre daha soyuttur.

Genetik haritalamada kullanılan işaretler, bireyden bireye değişen DNA dizilerinden kaynaklanır. İki homoloğ kromozom parçasının birbirinden ayırt edilmesini ve bir kuşaktan ötekine aktarılmasını izlemeye yarar. Meyotik rekombinasyon sırasında, homoloğ kromozomlar karşılıklı gelen noktalarından koparak yeniden birleşirler, ardından da homoloğ kromozomlardaki işaretler yeniden rastgele dağılırlar. Herhangi bir kromozom üzerindeki iki işaretin birbirine yakınlığı aralarındaki rekombinasyon olma sıklığı ile ters orantılıdır. Rekombinasyon olaylarının sıklığı izlenerek, işaretler arasındaki genetik uzaklık ve sıralanmalar değerlendirilir ve bunlar kullanılarak genetik haritalar yapılır. İnsan genetik haritalarında ölçü birimi sentimorgandır (cM); 1 cM, iki işaret arasında bir tek meyoza rekombinasyonun gerçekleşme olasılığının %1 olduğunu gösterir (14).

Genetik ve fiziksel haritalar DNA hakkında farklı bilgiler sağlarlar. İki harita önemli noktaların ya da işaretlerin sıralanmaları değerlendirildiğinde paralellik gösterir, ancak rekombinasyon sıklığı (genetik uzaklık) ve fiziksel uzaklıklar arasında basit bir ilişki yoktur. İnsan genomunda genetik ve fiziksel uzaklıklar arasındaki ortalama bağlantı 1 cM ile 1 Mb tır. Ancak genom boyunca bu oranda büyük değişiklikler olur. Örneğin, fiziksel DNA miktarına düşen relatif rekombinasyon sıklığı kromozomların uçlarında (telomer) daha yüksek ve bölünme için gerekli olan kromozom bölgelerinin yakınında (centromer) daha düşüktür (14,45).

#### **2.4.1. Kromozom Düzensizlikleri**

Normal bireylerin vücut hücrelerinde daima 46 olan kromozomlar, bazen sayı, şekil ve yapı bakımından bazı değişiklikler gösterebilmektedir.

##### **A- Sayısal Kromozom Düzensizlikleri**

Normalin dışında olan kromozom sayısındaki değişikliklere Heteroploid denir (1,5,6,45).

**I- Öploidi (Euploidy) :** Kromozom sayısındaki artış ya da azalmaların temel kromozom sayısının ( $n=23$ ) tam katları kadar olmasıdır (1,5,6,45).



1. **Triploidi:** Hücrede temel kromozom sayısının 3 katı ( $3n$ ) kadar kromozom bulunması durumudur (45).

2. **Tetraploidi:** Hücrede temel kromozom sayısının 4 katı ( $4n$ ) kadar kromozom bulunması durumudur (45).

3. **Yüksek Poliploidler:** Hücrede temel kromozom sayısının 4 katından fazla kromozom bulunması durumudur (45).

**II- Anöploidi (Aneuploidy):** Temel kromozom sayısının tam katları kadar olmayan artma ya da eksilme durumudur (45).

1. **Hiperploidi (Hyperploidy):** Kromozom sayısının  $2n+1$  ve  $2n+2$  şeklinde artmasıdır (45).

2- **Hipoploidi (Hypoploidy):** Kromozom sayısının  $2n-1$  ve  $2n-2$  şeklinde azalmasıdır (45).

### **B- Yapısal Kromozom Düzensizlikleri**

1. **Eksilme (Deletion):** Kromozomdan küçük bir parçanın koparak azalması durumudur (6,11,45).

2. **Artma (Duplication):** Homoloğ olan veya olmayan iki kromozomun birinden kopan parçanın başka bir kromozoma eklenmesi durumudur(6,11,45).

3. **Gap (Aralık):** Kromozom kollarının herhangi bir bölgesinde kromatidin enini geçmeyen ve kromozom ekseninden sapmamış, boya almayan bir bölgenin görülmesidir(6,11,45).

3.1. **Kromatid Gap:** Kromozomun bir kromatidinde gap görülmesi durumudur(45).

3.2. **İzokromatid Gap (İzolokus Gap):** Kromozomun her iki kromatidinde de gap görülmesi durumudur(6,11).

4. **Kırık (Break):** Kromozomun herhangi bir bölgesinde bir kromatidin enini aşan ve kromozom ekseninden sapan, boyanmamış bölgelerdir(6,11,45).

4.1. **İzokromatid Kırık:** Kromozomun her iki kromatidinin eş bölgesinde loküs kırık görülmesidir(6,11,45).

5. **İki Sentromerli Kromozom (Dicentric):** Kromozomda bir yerine iki sentromer bulunması durumudur (6,11,45).

6. **Haç Kromozom (Quadri radial):** Büyük ve küçük submedyan kromozomların kollarının yan yana gelerek haç şeklini almasıdır. (11,45).

7. **Sentromersiz Kromozom (Acentric Chromosome):** Sentromeri bulunmayan ya da görülmeyen birbirine paralel duran kromozom veya kromozom parçacıklarıdır (6,11,45).

**8. Fragment:** Kopmuş kromatid parçacıklarıdır (6,11,45).

**9. Minute (Kromatin Damlacığı):** Terminal delesyondan daha küçük olan asentrik fragment çeşitleridir. Karakteristik olarak bir çift kromatin küresi görünümündedir. Ara (intercalar) delesyonları ifade eder(11).

**10. Minik Kromozom:** Büyük ölçüde delesyona uğramış kromozomlardır(11,45).

**11. Halka Kromozom (Yüzük, Ring):** Kromozomun iki ucunun birleşerek yüzük görünümü alması durumudur. Sentromer içerenlere Sentrik ring denir ve genellikle bir asentrik fragmentle yan yana bulunur. Sentromer içermeyenlere ise asentrik ring denir.

**12. Yapışkanlık:** Kromozomların birbirine tutunarak yığın haline gelmesidir.

**13. Ters Dönme (inversion):** Bir kromozoma iki darbenin gelmesi ve bunun sonucunda kopan parçanın kaybolmadan kendi eksenini etrafında 180 derece dönerek eski yerine tutunması durumudur. Kırılma ve yeniden birleşme kromozomun aynı kolunda meydana gelirse parasentrik inversiyondan; kırılma ve yeniden birleşme noktaları sentromeri de içeriyorsa, perisentrik inversiyondan söz edilir.

**14. Satelik Assosiasyonu:** Büyük ve küçük akrosentrik kromozomların metafaz plaklarında kısa kollarındaki satelitlerini biri birine çevirmiş biçimde bir araya gelerek rozet şeklini almalarıdır(45).

**15. İri Satelitler:** D ve G grubundaki kromozomları kısa kollarında bulunan satelitlerin normalde büyük görünmeleri durumudur(45).

**16. İzo Kromozom:** Sentromerin enlemesine bölünmesi sonucu oluşan düzensiz kromozomdur(45).

**17. Sentromer Bölünmesinde Asenkroni:** Sentromerlerin aynı anda bölünmemesi durumudur(11,45).

Kromozomun kısa kolu p ve uzun kolu q olarak adlandırılır. İnsan kromozomları sentromer pozisyonuna göre üç tiptir.

**a-Metasentrik:** Kromozomu yaklaşık olarak merkezden veya merkeze yakın bir noktadan iki kola ayrılmıştır(1,3,6,11,45).

**b-Submetasentrik:** Sentromer kromozomun merkezinde değildir. Bir kolun diğerinden daha uzun olduğu belirgindir(1,3,6,11,45).

**c-Akrosentrik:** Sentromer bir kolun sonuna yakındır (1,3,6,11,45).

Dördüncü olarak ta Telosentrik kromozom da sentromer tek kolun ucunda bulunur. İnsanda görülmez. Diğer canlı türlerinde görülür(1,3,6,11,45).

### **3. GEREÇ VE YÖNTEM**

#### **3.1. GEREÇ**

##### **3.1.1. Araştırma Populasyonu**

Çalışmamızda yaşları 26-35 arasında değişen 4'ü erkek biri kadın olmak üzere 5 birey denek olarak seçilmiştir. Yaş ortalamaları 30,6 dır. Deneyimizdeki bireyler sigara tiryakisi olmayan, son 5-6 ay içinde virütik enfeksiyon geçirmemiş, herhangi bir antibiyotik ve benzeri kemoterapötik kullanmamış ve kronik olarak radyasyona maruz kalmış bireylerden seçilmiştir. Bireylerin radyasyonlu ortamda kalma süreleri ortalaması 8 yıldır.

##### **3.1.2. Kimyasal Maddeler**

- a- TC Medium 199 (Difco, 5477-72-6).
- b- TC Fetal Calf Serum Dessicated (Difco,565-67).
- c- Bacto Phytohemagglutinin M (Difco, 0528-67).
- d- Colchicine kristal reinst (merck).
- e- KCL (Potassium chloride).
- f- Acetic Acid Glacial (Merck).
- g- Methanol (Merck).
- h- Xylol (Merck).
- ı- Giemsa's Lösung (Merck).
- i- Heparin (Liquemine, Roche).
- j- Penicilline-G Potasium (İ.E.).
- k- Streptomycine Sulfate (İ.E.).
- l- Entellan (Merck).
- m- Ethyl alcohol
- n- Serum fizyolojik (Baxter)
- o- Trypsin Certified (Difco, 1:250).
- ö- Bleomycin (Mustafa Nevzat).
- p- Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> (Merck).
- r- KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (Merck).
- s- Triple distile su.

t- Aceton (Merck).

### 3.1.3. Solüsyonlar

- a- Kolşisin (colchicine) Solüsyonu: 40 mg colchicine + 100 ml. triple distile su.
- b- Hipotonik Solüsyonu: 0,075 M KCL.
- c- Tespit Solüsyonu: (Fiksatif): 3 kısım methanol + 1 kısım acetic acid glacial.
- d- Penicilline Solüsyonu: 1.000.000. U Penicilline-G Potassium + 10 ml steril triple distile su.
- e-Streptomycine Solüsyonu: 1 gr.streptomycine sülfate + 10 ml steril triple distile su.
- f- Fitohemaglutinine solüsyonu:5mg.Phytohemaglutinine M. Bacto (Difco) + 5 ml steril triple distile su.
- g- Serum solüsyonu: TC. Fetal Calf Serum dessicated + 30 ml steril triple distile su.
- h- Söransan tamponu:
- a- 11.88 gr. Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub> + 1000 ml distile su.
- b- 9.08 gr. KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> + 1000 ml distile su.
- a ve b solüsyonları karıştırılarak pH=6.8'e ayarlanır.
- ı- Boya Solüsyonları:
- 1- 95 ml Söransan tamponu içine 5 ml Giemsa Lösing ilave edilir.
- 2- 95 ml distile su + 5 ml Giemsa Lösing (Düz boya için).
- i- Bleomycin Solüsyonları:
- I- Ana stok solüsyon (1500 µg/ml).  
Bleomycin + 10 cc Bidistile su
- II- Stok solüsyon-I (300 µg/ml).  
2 cc ana stok + 8 cc TC Medium 199.
- III- Stok solüsyon-II (30 µg/ml).  
1 cc stok solüsyon-I + 9 cc TC Medium 199.
- IV- Stok solüsyon-III (3 µg/ml).  
1 cc stok solüsyon-II + 9 cc TC Medium 199.
- j- Tripsin Solüsyonu:  
50 mg Trypsin + 100 ml izotonik serum fizyolojik.

### **3.1.4. Kùltür Ortamı**

#### **3.1.4.1. Periferik Kan Kùltürü**

- a- TC Medium 199 80 ml.
- b- TC Fetal Calf Serum Solüsyonu 15 ml.
- c- Phytohemagglutinin solüsyonu 3,5 ml.
- d- Penicilline solüsyonu 0,3 ml.
- e- Streptomycine solüsyonu 0,1 ml.

#### **3.1.5. Diğer Gereçler**

- a- Zaman ayarlı santrifüj (Hettich Universal.II).
- b- Etüv (Heraeus).
- c- Kuru hava sterilizatörü (Kötterman).
- d- Mikroskop (Olympus).
- e- Mikrofotografi aygıtı (Jenamed-2 1000x).
- f- Elektronik duyarlı terazi (0,1 mg'a hassas Bosch).
- g- Değişik çapta enjektörler ve pipetler.
- h- 100 ml'lik kùltür şişeleri.
- ı- Şaleler.
- i- 15 ml'lik konik santrifüj tüpleri.
- j- Mezürler.
- k- Lamel (24x32 mm).
- l- Lam.
- m- Film (orwo, siyah-beyaz, 15 DIN 25 ASA).

### **3.2. YÖNTEM**

Günümüzde kalıtsal hastalıklar etyolojilerindeki kalıtsal etkenin türüne göre aşağıdaki şekilde üç gruba ayrılarak incelenirler.

#### **I- Tekli Mutant Genlere Bağlı Olanlar**

##### **A- Otozomal Kalıtım.**

1- Otozomal dominant

2- Otomozomal resesif

## B- Gonozomal Kalıtım.

1- x'e bağlı dominant

2- x'e bağlı resesif

3- Y kromozomal

II- Polijenik olanlar

III- Kromozomal olanlar

Bunlardan tekli mutant genlere bağlı olanların kalıtım biçimleri aile, ikiz ve pedigrı yöntemi gibi dolaylı yöntemlerle, polijenik olanlar geniş anlamda aile ve populasyon araştırmaları ile ve kromozomal olanlar ise karyotip analizi ile ortaya konabilmektedir.

### 3.2.1. Kromozom Elde Etme Yöntemi

Çeşitli dokularda kromozomlar mitoz bölünmenin metafaz evresinde en iyi şekilde görülebilirler. İncelediğimiz insan lenfositleri normal olarak %1 gibi düşük bir oranda kendiliğinden (spontan) mitoz bölünmeye girerler. Fitohemaglutinin sayesinde hücreler mitozu teşvik edilerek aynı anda çok sayıda mitoz bölünme geçiren hücre elde edilerek kolşisin sayesinde metafaz evresinde bölünme durdurulmakta ve metafaz plağında tespit edilen kromozomlar incelenmektedir.

Lenfositlerin fitohemaglutinin ile temasından 24 saat sonra ikinci mitoz bölünmeye girdikleri bilinmektedir. Bu nedenle lenfositler kültür ortamlarında 37°C de 72 saat bekletilirler. Bu süre içinde hücrelerin canlılıklarını sürdürebilmeleri için esasını amino asitler, vitaminler ve mineraller'in oluşturduğu heteroloğ insan serumu ya da dana serumu içeren kültür ortamlarında tutulmaları gerekir.

Çalışmamızda tüm kan tekniği olarak bilinen yöntemden yararlanılmıştır. (3)

### 3.2.2. Preparasyon İşlemleri

a-Bleomycinin uygulama konsantrasyonları belirlenirken düşük doz olarak 0.3 µg/ml, yüksek seviyedeki doz olarak 3 µg/ml ve daha yüksek doz olarak da 30 µg/ml konsantrasyona göre doz ayarı yapılmıştır. Bu dozlar kültürlerle 6, 24 ve 48 saat süre ile uygulanmıştır.

b- Hazırlanan kültür ortamı tüplere 4,5 ml bırakılarak her bir kültür ortamına heparinize edilmiş enjektörle alınan venöz kandan iğnesiz enjektörle 6 damla bırakıldı ve ağzı kapatılarak (parafilm ile) 37°C de etüvde inkübasyona bırakıldı.

c- Kültür ortamlarına 48, 24 ve 6 saatlik süreler için final konsantrasyonunu sağlayacak şekilde stok solüsyonlardan kimyasal ilave edildi.

d- İnkübasyondan 70 saat sonra etüvden çıkarılan kültür şişelerine her birine 0.05 µg/ml hesabıyla kolşisin ilave edilerek tekrar iki saat etüvde 37°C de tutuldu.

e- 72 saatin sonunda kültür tüpleri etüvden alınarak 1400 rpm'de 10 dakika süre ile santrifüj edildi.

f- Santrifüj işleminden sonra süpernatant atılıp 10 ml hipotonik ilave edilip pastör pipeti ile pipetaj yapıldıktan sonra 10 dakika 37°C de etüve bırakıldı.

g- Hipotonik solüsyonda etüvde 10 dakika bekleme süresinden sonra tüpler santrifüjde 1400 rpm'de 10 dakika santrifüj edilerek süpernatant atıldı ve 5 ml fiksatif ilave edildi. Sonradan pipetaj yapıldı.

h- İlk fiksatiftten sonra tüpler buzdolabında 30 dakika + 4°C de dinlendirildi. Bu süre sonunda tüpler buzdolabından çıkarıldıktan sonra 10 dakika 1400 rpm'de santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Bu işlem dört kez tekrarlandı.

ı- Hazırlanan 6 preparat açık havada kurumaya bırakılmış ve dört gün etüvde 37°C de muhafaza edilmiştir. Bu preparatlardan iki tanesi %5'lik giemsa boyası ile boyanmış. Geri kalan dört tanesi de hazırlanan tripsin de uygun sürelerde işleme tabi tutulduktan sonra 5-10 dakika süre ile tampon çözelti ile hazırlanan giemsa boyasında boyanmıştır.

i- Boyanmış preparatlar kuruduktan sonra Xylol den geçirilip tekrar kurutulduktan sonra entellan ile üzeri lamelle kapatılmıştır.

### **3.2.2.1. Preparatların Değerlendirilmesi**

Değerlendirme işlemi önceden hazırlanan değerlendirme formuna gerekli bilgiler kaydedildikten sonra mikroskop altında incelenmesi ile yapılmıştır. Preparat tarama işlemine küçük büyütmeli objektif (10x) ile başlayarak bulunan metafazlar immersiyon objektifi (100x) ile ayrıntılı olarak



incelenmiş ve saptanan bulgular şaryodaki nonius sayıları ile birlikte değerlendirme formundaki bölümlere kaydedilmiştir. Bu şekilde deneklere ait her bir doz süre kombinasyonu için ortalama 50 metafaz değerlendirmeye alınmıştır.

Fotoğraf çekimi, immersiyon objektif ve 25 ASA'lı film kullanılarak gerçekleştirilmiştir.

### **3.2.2.2. İstatistiksel Değerlendirme**

#### **a- Düzensizlik İçeren Hücrelere Ait İstatistiksel Değerlendirme**

Kromozomal düzensizlik içeren hücrelere ait veriler sayılarak elde edilen verilerdir. Bu verilerin istatistiksel değerlendirmesini yapabilmek için önce veriler arc-sin transformasyonu ile açı değerlerine dönüştürülmüştür. Bu değerler çok etkenli çalışmalar için varyans analizi yöntemlerinden olan iki yönlü faktöryel planlama düzeni ile test edilmiştir(49).

#### **b- Yapısal Kromozom Düzensizliklerin İstatistiksel Değerlendirmesi.**

Yapısal kromozom düzensizliği ile ilgili bulgular sayılabilir değerler olduğundan uygun istatistik değerlendirmeye alınabilmesi için veriler önce arc-sin transformasyonu ile açı değerlerine çevirilmiştir. Daha sonra çok etkenli çalışmalar için en uygun yöntem olan varyans analizi yöntemlerinden iki yönlü faktöryel planlama düzeni uygulanmıştır. Deney gruplarından yüksek doz ve süre kombinasyonlarına geçişte oluşan yapısal düzensizlik farkının "gerçek önemli fark" düzeyinde olup olmadığını belirlemek için G değerleri hesaplanmış ve Q tablosu verileri ile karşılaştırılmıştır. Deneklerin yapısal kromozom düzensizlikleri açısından Bleomycinden etkilenme derecelerinin farklı olup olmadığı  $X^2$  testi ile değerlendirilmiştir.

#### **c- Euploidy Tipi Kromozom Düzensizliklerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi.**

Öploidi (Euploidy) tipi kromozom düzensizliklerinin deney ve kontrol gruplarına ait verileri yüzde oranlara dönüştürülerek t oran testi ile değerlendirilmiştir.



#### d- Mitotik İndekse Ait İstatistiksel Değerlendirme

Mitotik indeksin farklı doz ve süre kombinasyonlarına ait verilerinin istatistiksel değerlendirilmesi t testi ile yapılmıştır.

$$t = \frac{X_1 - X_2}{\sqrt{\frac{s_1^2}{n_1} + \frac{s_2^2}{n_2}}}$$

#### e- Satellit Assosiasyonlarının İstatistiksel Değerlendirilmesi.

Satellit assosiasyonlarının farklı doz ve süre kombinasyonlarına ait verilerin istatistiksel değerlendirilmesi t oran testi ile yapılmıştır.

$$t = \frac{P_1 - P_2}{\sqrt{\frac{pq}{n_1} + \frac{pq}{n_2}}}$$

#### 4. BULGULAR

Araştırma için seçilen sağlıklı 5 bireyin her birinden alınan kan, 3 farklı doz ve 3 farklı süre kombinasyonu için 9 kültür ortamına ve kontrol grubu içinde 3 kültür ortamına ekilmiştir. Böylece her bir denek için 12 kültür vasatı, 5 denek için ise toplam 60 adet kültür vasatı kullanılmıştır. Her bir kültürden 2 tane normal giemsa boyama, 4 tane de giemsa bantlama yöntemi ile boyanmak üzere 6 preparat hazırlanmıştır.

Araştırmamızda normal giemsa boyama yöntemi ile hazırlanan 120 preparattan 1059 metafaz, giemsa bantlama yöntemi ile hazırlanan preparatlardan da 1580 metafaz olmak üzere toplam 2639 metafaz incelenmiştir.

İlk olarak düzensizlik içeren hücreler değerlendirilmiş ve daha sonrada düzensizlik içeren hücrelerde gözlenen düzensizlikler iki ana grupta toplanarak incelenmiştir.

##### 4.1. Düzensizlik İçeren Hücelere Ait Bulgular

Çalışmada toplam olarak 2639 metafaz incelenmiş olup 1104 tanesinde düzensizlik kaydedilmiştir. Bunları kontrol grubu ve deney gruplarına göre inceleyecek olursak; kontrol grubunda incelenen 679 metafazdan 64 tanesinde düzensizlik kaydedilmiştir. Kontrol grubunda düzensizlik içeren hücre yüzdesi %9.43 olarak bulunmuştur. 0.3 µg/ml'lik doz sabit tutularak 6, 24 ve 48 saatlik uygulama sürelerinde toplam 696 metafaz incelenmiş, 188 tanesinde düzensizlik saptanmıştır. Düzensizlik içeren hücrelerin toplam metafaz sayısına oranı %30.17 olarak bulunmuştur. 3 µg/ml'lik deney grubunda 6, 24 ve 48 saatlik uygulama sürelerinde toplam 650 metafaz incelenmiş olup, 431 tanesinde düzensizlik saptanmış ve toplam metafaz sayısına oranı %62.92 olarak bulunmuştur. Uygulanan 30 µg/ml'lik doz ve 6, 24, 48 saatlik sürelerde incelenen toplam 614 metafazdan 421 tanesinin düzensizlik içerdiği tespit edilmiş ve toplam metafaz sayısına oranı %68.57 olarak bulunmuştur.

Çizelge 2'de görüldüğü gibi düzensizlik içeren hücelere ait bulgular istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; Bleomycin dozunun arttırılmasına paralel olarak sürenin arttırılmasının kromozomal düzensizlik oluşumuna

etkisinin olmadığı ( $P>0.05$ ) ve doz sabit tutularak sürenin artırılmasının düzensizlik içeren hücre oluşumunu etkilemediği ( $P>0.05$ ) saptanmıştır.

Bleomycin dozunun artırılmasına paralel olarak düzensizlik içeren hücre sayısının arttığı ( $P<0.01$ ), Bleomycin uygulama süresinin artmasına bağlı olarak kromozom düzensizliği içeren hücre sayısında bir artış olmadığı ( $P>0.05$ ) ve süre sabit tutularak dozun artırılması ile düzensizlik içeren hücre sayısının arttığı ( $P<0.01$ ) belirlenmiştir (Çizelge 2).

#### 4.2. Yapısal Düzensizliklere Ait Bulgular

5 deneğe ait incelenen 2639 metafazdan 1104 tanesinde toplam 2812 yapısal düzensizlik saptanmıştır. 552 metafazda 1, 185 metafazda 2, 77 metafazda 3, 220 metafazda 4 ve 4'den fazla yapısal düzensizlik saptanırken; 53 metafazda da sayılamıyacak düzeyde aberasyon saptanmıştır. Kontrol gruplarında yapısal düzensizlik oranı 100 metafazda ortalama %9.43 iken bu oran deney gruplarında %68.57 ye kadar yükselmektedir. Bu oranlar deneklere ait genel sonuçlar çizelgelerinde (Çizelge 28,29,30,31,32,33) görüleceği gibi farklı doz süre kombinasyonlarında değişiklikler göstermektedir. Çizelge 3'de yapısal düzensizlik tiplerinin sıklıkları gösterilmiştir.

Çizelge 2. Düzensizlik içeren hücrelerin istatistiksel değerlendirme sonuçları.

	DF	F.Değeri	Tablo Değeri		Sonuç
			0.05	0.01	
Doz-Süre Etkileşimi	6-48	0.3046	2.30	3.20	$P>0.05$
Aynı Dozda Süre	8-48	0.3388	2.14	2.90	$P>0.05$
Doz Grupları Arası Fark	3-48	31.304	2.80	4.22	$P<0.01$
Süre Grupları Arası Fark	2-48	0.4414	3.19	5.08	$P>0.05$
Aynı Sürede Doz	9-48	10.6377	2.08	2.80	$P<0.01$

En sık rastlanan düzensizlik tipleri Çizelge 3'de de görüleceği gibi kromatid kırık ve izokromatid kırıktır. Deneklerin hepsinde kromatid kırık en sık rastlanan düzensizliktir. Kromatid ve izokromatid gap ve kırıkların toplam yapısal düzensizliklere oranı %93.06 dır. En fazla kromatid ve izokromatid kırığa 30 µg/ml lik doz ve 6 saatlik sürede rastlanmıştır. Sözü edilen doz ve sürede kaydedilen toplam 238 metafazda 284 kromatid kırık kaydedilmiş olup toplam metafaz sayısına oranı %119.32 olarak bulunmuş, 120 tane de izokromatid kırığa rastlanmıştır ve %50.42 oranında görülmüştür.

Görülen diğer düzensizliklerden delesyon, en fazla 3µg/ml 6 saatlik ve 30 µg/ml 6 saatlik süredeki deney gruplarında rastlanmıştır. Delesyonun toplam yapısal düzensizliklere oranı %3.17 olarak bulunmuştur. Disentrik kromozom sayısı kontrol ve 0.3 µg/ml lik doz-süre kombinasyonu hariç bütün deney gruplarında toplam 15 tane olup yapısal düzensizliklere oranı % 0.533'tür. Fragment kontrol grubu hariç diğer deney gruplarında toplam 12 tane bulunmuş olup yapısal düzensizliklere oranı % 0.426 dır. İzokromozom 6 tane bulunmuş olup yapısal düzensizliklere oranı % 0.213 tür. Ring kromozom 6 tane sayılmış olup yapısal düzensizliklere oranı % 0.213 tür. Tipi belirlenemiyen düzensizlik 5 tane sayılmış ve yapısal düzensizliklere oranı % 0.177 dir. Triradial kromozom 5 tane sayılmış olup yapısal düzensizliklere oranı % 0.177 dir. Quadriradial kromozom 4 tane sayılmış olup yapısal düzensizliklere oranı % 0.142 dir.

Çizelge 3. Yapısal düzensizlikleri ve sıklıkları.

No	Düzensizlik Tipi	Düzensizlik sayısı	%
1	Kromatid kırık	1659	59.00
2	Izokromatid kırık	526	18.71
3	Izokromatid gap	263	10.06
4	Kromatid gap	149	5.30
5	Delesyon	89	3.17
6	Multipl Aberasyonlu hücre	53	1.88
7	Disentrik kromozom	15	0.53
8	Fragment	12	0.43
9	Izokromozom	6	0.21
10	Ring kromozom	6	0.21
11	Tipi belirlenemiyen düzensizlik	5	0.18
12	Triradial kromozom	5	0.18
13	Haç kromozom	4	0.14
Toplam		2812	

Çizelge 4. Farklı doz-süre kombinasyonlarında oluşan yapısal kromozom düzensizliklerinin kaynak tablosu.

KAYNAK	SD	K.T.	K.O.
Genel Kareler Toplamı	59	28334.889	-
Ekti Grupları Arası K.T.	11	18930.405	1720.94
Doz Grupları Arası K.T.	3	18399.307	6133.102
Süre Grupları Arası K.T.	2	172.993	86.496
Etkileşim K.T.	6	358.105	59.68
Hata Grupları İçi K.T.	48	9404.484	195.92
Aynı Dozda Süre K.T.	8	531.098	66.38725
Aynı Sürede Doz K.T.	9	18757.412	2084.156889
Doz Grupları İçi K.T.	56	9935.582	177.421

Bir metafazda kaydedilemeyecek kadar çok düzensizlik bulunması şeklinde tanımlanabilen multipl aberasyonlara kontrol grubu ve 0.3 µg/ml lik doz grubu hariç diğer gruplarda gözlenmiştir. En fazla multipl aberasyonlu hücre 30 µg/ml ve 3 µg/ml doz gruplarının 6 saat süreli deney gruplarında gözlenmiştir. Toplam 53 hücrede multipl aberasyonlu metafaz kaydedilmiştir. Bunların incelenen toplam metafaz sayısına oranı %0.20 dir.

#### 4.2.1. Yapısal Kromozom Düzensizliklerinin İstatistiksel Değerlendirilmesi.

Kontrol grubu, 0,3 µg/ml, 3 µg/ml ve 30 µg/ml doz gruplarında belomycinin 6, 24 ve 48 saatlik uygulama süreleri sonrasında oluşan yapısal kromozom düzensizliklerine ait değerler sayımla elde edilen değerlerdir. Bu veriler çalışmamıza uygun istatistiksel yöntemin uygulanabilmesi için Arc-Sin transformasyonu ile açı değerlerine çevrilmiştir. Daha sonra farklı doz-süre kombinasyonlarına genel olarak dozun, sürenin etkileşimin aynı dozda süre ve aynı sürede dozun etkisini belirlemek ve gruplara ait verileri birbirleri ile karşılaştırmak için çift yönlü varyans analizi faktöryel planlama yöntemi ile test edilmiştir. Çizelge 4'te buna ilişkin olarak elde edilen kaynak tablosu çıkarılmıştır.

##### 4.2.1.1. Yapısal Düzensizliklerin Hata Kareleri Ortalamasına Göre Belirlenmesi.

Yapılan istatistiksel değerlendirmeye göre doz artışına paralel olarak sürenin artırılmasının kromozomlarda yapısal düzensizlik oluşumunu etkilemediği ( $P>0.05$ ), bleomycin dozunun artırılması ile yapısal kromozom düzensizliklerinde artış olduğu ( $P<0.01$ ), bleomycin uygulama süresinin artırılmasına bağlı olarak yapısal kromozom düzensizliklerinin artmadığı ( $P>0.05$ ), aynı dozda süre artışının kromozomlarda yapısal düzensizliklerin oluşumunu etkilemediği ( $P>0.05$ ) ve süre sabit tutularak doz artışının kromozomlarda yapısal düzensizlikleri artırdığı ( $P<0.01$ ) tespit edilmiştir. (Çizelge 5).

Çizelge 5.Yapısal düzensizliklerin hata kareleri ortalamasına göre belirlenmesi.

KAYNAKLAR	DF	F Değerleri	Tablo Değeri		SONUÇ
			0.05	0.01	
Etkileşim	6-48	0.30	1.58	1.96	$P>0.05$
Doz Grupları Arası Fark	3-48	31.30	2.80	4.22	$P<0.01$
Süreler Arası Fark	2-48	0.441	3.19	5.08	$P>0.05$
Aynı Dozda Süre Artışı	8-48	0.338	2.14	2.90	$P>0.05$
Aynı Sürede Doz Artışı	9-48	10.63	2.08	2.80	$P<0.01$

#### 4.2.1.2. Yapısal Düzensizliklerin Etkileşime Göre Değerlendirilmesi

Etkileşime göre yapılan istatistiksel değerlendirmede; kromozomlardaki yapısal düzensizlik oluşumunun doz artışı ile arttığı ( $P<0.01$ ), süre artışı ile yapısal düzensizlik oluşumunun artmadığı ( $P>0.05$ ), aynı dozda süre grupları arasında artmadığı ( $P>0.05$ ) ve aynı sürede doz grupları arasında arttığı ( $P<0.01$ ) tespit edilmiştir (Çizelge 6).

Çizelge 6. Etkileşim değerine göre yapısal kromozom düzensizliklerinin belirlenmesi.

KAYNAKLAR	DF	F Değerleri	Tablo Değeri		SONUÇ
			0.05	0.01	
Doz Grupları Arası Fark	3-6	102.766	4.76	9.78	$P<0.01$
Süre Grupları Arası Fark	2-6	1.449	5.14	9.55	$P>0.05$
Aynı Dozda Süre	8-6	1.112	3.59	6.37	$P>0.05$
Aynı Sürede Doz	9-6	34.922	3.37	5.80	$P<0.01$

#### 4.2.1.3. Aynı Doz Farklı Sürelerde Oluşan Yapısal Düzensizliklerin Önem Kontrolü.

Kontrol grubu, 0.3  $\mu\text{g/ml}$ , 3  $\mu\text{g/ml}$  ve 30 $\mu\text{g/ml}$  li deney gruplarında 6 ve 24 saat bleomycin uygulaması sonucunda oluşan yapısal kromozom düzensizlikleri gerçek önemli fark düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $P>0.05$ ) (Çizelge 7).

**Çizelge 7. Aynı dozda farklı sürelerin aritmetik ortalamaları arası farkın önem kontrolü.**

DOZ \ Süre	24 Saat $\bar{X}$ 'sı	6 Saat $\bar{X}$ 'sı	Fark	G 0.05	SONUÇ
Kontrol Grubu	17.730	19.514	-1.784	17.71	P>0.05
0.3 µg/ml	25.720	37.428	-11.708	17.71	P>0.05
3 µg/ml	52.886	57.412	-4.526	17.71	P>0.05
30. µg/ml	61.600	59.422	2.178	17.71	P>0.05

Kontrol grubu, 0,3 µg/ml, 3 µg/ml ve 30 µg/ml lik deney gruplarında 24 ve 48 saat bleomycin uygulaması sonucunda oluşan yapısal kromozom düzensizlikleri açısından gerçek önemli fark düzeyinde istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (P>0.05) (Çizelge 8).

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

DOZ \ Süre	48 Saat $\bar{X}$ 'sı	24 Saat $\bar{X}$ 'sı	Fark	G 0.05	SONUÇ
Kontrol Grubu	14.120	17.730	-3.61	17.71	P>0.01
0.3 µg/ml	31.946	25.720	6.226	17.71	P>0.01
3 µg/ml	57.726	52.886	4.84	17.71	P>0.01
30. µg/ml	57.666	61.600	-3.934	17.71	P>0.01

Aynı doz grubundaki 24 saatteki aritmetik ortalamalarla 48 saatteki aritmetik ortalamaların birbirlerine çok yakın olmaları nedeniyle 6 saat ve 48 saatteki yapısal düzensizlik aritmetik ortalamaları arasındaki farkın da gerçek önemli fark düzeyinde anlamlı olmadığı ortaya çıkmaktadır.



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

Bleomycinin 6 saatlik süre ile farklı dozlarda uygulanması sonucu meydana gelen yapısal kromozom düzensizlikleri ortalaması arasındaki fark, gerçek önemli fark değerine göre değerlendirildiğinde; 3 µg/ml - kontrol grubu, 30 µg/ml - kontrol grubu, 30 µg/ml - 0.3 µg/ml lik deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $P < 0.05$ ), 0.3 µg/ml - kontrol grubu, 3 µg/ml - 0.3 µg/ml ve 30 µg/ml - 3 µg/ml lik deney grupları arasındaki farkın anlamlı olmadığı ( $P > 0.05$ ) saptanmıştır (Çizelge 9).

Çizelge 9. 6 saatlik uygulamada kontrol ve doz grupları ile grupların kendi aralarındaki ortalama değerler arası farkın önem kontrolü.

Karşılaştırılan Dozlar	I. Doz $\bar{X}$ ' sı	II. Doz $\bar{X}$ ' sı	Fark	G 0.05	SONUÇ
0.3 µg/ml-Kontrol	37.428	19.514	19.914	21.28	$P > 0.05$
3 µg/ml-Kontrol	57.412	19.514	37.898	21.28	$P < 0.05$
3 µg/ml-0.3µg/ml	57.412	37.428	19.984	21.28	$P > 0.05$
30 µg/ml-Kontrol	59.422	19.514	39.908	21.28	$P < 0.05$
30 µg/ml-0.3 µg/ml	59.422	37.428	21.994	21.28	$P < 0.05$
30 µg/ml-3 µg/ml	59.422	57.412	2.01	21.28	$P > 0.05$

Bleomycinin 24 saat süre ile farklı dozlarda uygulanması sonucunda meydana gelen yapısal kromozom düzensizlikleri ortalaması arasındaki fark, gerçek önemli fark değerine göre değerlendirildiğinde; 0.3 µg/ml-kontrol grubu ve 30 µg/ml-3 µg/ml lik deney gruplarında gruplar arası farkın istatistiksel olarak anlamlı olmadığı ( $P > 0.05$ ), 3 µg/ml-kontrol grubu, 3µg/ml-0.3µg/ml, 30 µg/ml-kontrol ve 30 µg/ml-0.3 µg/ml lik deney gruplarında gruplar arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu ( $P < 0.05$ ) saptanmıştır (Çizelge 10).

**Çizelge 10. 24 saatlik uygulamada kontrol ve doz grupları ile grupların kendi aralarındaki ortalama değerler arası farkın önem kontrolü.**

Karşılaştırılan Dozlar	I. Doz $\bar{X}'_{s1}$	II. Doz $\bar{X}'_{s2}$	Fark	G 0.05	SONUÇ
0.3 µE/ml-Kontrol	25.720	17.730	7.99	21.28	P>0.05
3 µE/ml-Kontrol	52.666	17.730	35.156	21.28	P<0.05
3 µE/ml-0.3µE/ml	52.666	25.720	27.166	21.28	P<0.05
30 µE/ml-Kontrol	61.600	17.730	43.87	21.28	P<0.05
30 µE/ml-0.3 µE/ml	61.600	25.720	35.88	21.28	P<0.05
30 µE/ml-3 µE/ml	61.600	52.666	8.714	21.28	P>0.05

Bleomycinin 48 saat süre ile ve farklı dozlarda uygulanması sonucunda meydana gelen yapısal kromozom düzensizlikleri ortalaması arasındaki fark, gerçek önemli fark değerine göre değerlendirildiğinde; 0.3 µg/ml-kontrol grubu ve 30 µg/ml-3 µg/ml lik deney grubunda gruplar arasındaki farkın anlamlı olmadığı (P>0.05), 3 µg/ml-kontrol grubu, 3 µg/ml-0.3 µg/ml,30µg/ml-kontrol grubu ve 30 µg/ml-0.3 µg/ml lik deney grupları arasındaki farkın istatistiksel olarak anlamlı olduğu (P<0.05) saptanmıştır (Çizelge11).

#### 4.2.1.5. Doz Grupları Arası ve Doz Grupları İçi Farkın Önem Kontrolü.

Doz grupları arası fark etkileşime göre istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (P<0.01), doz grupları içi fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır (P>0.05) (Çizelge 5).

**Çizelge 11. 48 saatlik uygulamada kontrol ve doz grupları ile grupların kendi aralarındaki ortalama değerler arası farkın önem kontrolü.**

Karşılaştırılan Dozlar	I. Doz $\bar{X}'_{s1}$	II. Doz $\bar{X}'_{s2}$	Fark	G 0.05	SONUÇ
0.3 µE/ml-Kontrol	31.946	14.120	17.826	21.28	P>0.05
3 µE/ml-Kontrol	57.726	14.120	43.606	21.28	P<0.05
3 µE/ml-0.3µE/ml	57.726	31.946	25.78	21.28	P<0.05
30 µE/ml-Kontrol	57.666	14.120	43.546	21.28	P<0.05
30 µE/ml-0.3 µE/ml	57.666	31.946	25.72	21.28	P<0.05
30 µE/ml-3 µE/ml	57.666	57.726	-0.06	21.28	P>0.05

#### 4.2.1.6. Ortalamalar Arası Farkın Önem Kontrolü.

Daha önce yapılan varyans analizinde aynı sürede dozlar arasındaki farkın yapısal düzensizlikler açısından önemli düzeyde anlamlı olduğu bulunmuştur. Aynı sürede doz grupları içi fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır ( $P>0.05$ ).

Süre gözönüne alınmadan doz grupları ortalamaları arası fark, gerçek önemli fark değeri ile karşılaştırıldığında, 0.3 µg/ml- kontrol grubu ve 30 µg/ml-3µg/ml lik deney grubu doz ortalamaları farklarının gerçek önemli fark değerinden farklı olmadığı ( $P>0.05$ ) 3 µg/ml-kontrol grubu, 3 µg/ml-0.3 µg/ml, 30 µg/ml-kontrol grubu ve 30 µg/ml-0.3 µg/ml lik deney gruplarında gruplar arası fark gerçek önemli fark değeri ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ) (Çizelge 12).

Çizelge 12. Süre işlendiğinde doz ortalamaları farklarının önem kontrolü.

Karşılaştırılan Dozlar	I. Doz $\bar{X}$ 'sı	II. Doz $\bar{X}$ 'sı	Fark	G 0.05	SONUÇ
0.3 µg/ml-Kontrol	31.698	17.119	14.579	21.53	$P>0.05$
3 µg/ml-Kontrol	56.008	17.119	38.889	21.53	$P<0.05$
3 µg/ml-0.3µg/ml	56.008	31.698	24.31	21.53	$P<0.05$
30 µg/ml-Kontrol	59.563	17.119	42.444	21.53	$P<0.05$
30 µg/ml-0.3 µg/ml	59.563	31.698	27.863	21.53	$P<0.05$
30 µg/ml-3 µg/ml	59.563	56.008	3.555	21.53	$P>0.05$

#### 4.2.2. Deneklerin Bleomycinden Etkilenme Dereceleri.

5 ayrı deneğe ait bleomycinin farklı doz-süre kombinasyonlarında oluşan yapısal kromozom düzensizliklerinin toplamı  $X^2$  testi ile analiz edilmiş ve denekler arasında yapısal kromozom düzensizlikleri açısından fark olduğu saptanmıştır ( $P < 0.001$  ve  $X^2 = 74.845$ ). Denekler bleomycinden farklı derecede etkilenmişlerdir. Bleomycinden sırasıyla en çok 3, 2, 1, 5 ve 4 nolu denekler etkilenmiştir. 4 nolu denek en az etkilenmiştir.

#### 4.2.3.Yapısal Düzensizliklerin Konumu ve Kromozom Guruplarına Göre Dağılımı.

Çizelge 13 ve 14 te kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık, izokromatid kırık ve delesyonların (Denver sınıflandırılmasına göre) hangi kromozom grubunun hangi kolunda meydana geldiği gösterilmiştir. Fragment, disentrik kromozom, haç kromozom, ring kromozom ve multiple aberasyonlar kromozomlardaki konumlarının değerlendirilme için uygun olmayışı nedeniyle çizelgeye alınmamışlardır. Ayrıca X kromozomu C grubu kromozomları içinde, Y kromozomu ise G grubu kromozomları içinde kabul edilerek değerlendirme yapılmıştır.

Kontrol gruplarında toplam 66 tane kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık, izokromatid kırık ve delesyon tipi düzensizlik kaydedilmiştir. Bunların 16 tanesi A grubu kromozomlarında, 8 tanesi B grubu kromozomlarında, 36 tanesi C-X grubu kromozomlarında, 4 tanesi D grubu kromozomlarında, 2 tanesi de E grubu kromozomlarında tespit edilmiştir. Ayrıca bütün kromozom gruplarının uzun kollarının %94 oranında, kısa kollarının ise %6 oranında düzensizlik içerdiği gözlenmiştir. İçerdikleri yapısal kromozom düzensizliklerinin çokluğuna göre kromozom grupları C-X, A, B, D ve E grubu olarak sıralanabilir. F grubu ve G-Y grubu kromozomlarda düzensizliğe rastlanmamıştır (Çizelge 13).

Deney gruplarında ise 2640 tane kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık, izokromatid kırık ve delesyon tipi düzensizlik kaydedilmiştir. A grubu kromozomlarında 899 tane gap, kırık ve delesyon tipi düzensizliğe rastlanmış olup, en çok düzensizlik içeren grup olduğu belirlenmiştir. Toplam düzensizliğe oranı %34'tür. C-X grubu kromozomlarda 871 tane düzensizlik saptanmış olup, toplam düzensizliklere oranı %32.99 dur. B grubu kromozomlarda 498 düzensizlik saptanmış ve toplam düzensizliklere oranı %18.86 dir. D grubu kromozomlarda 203 tane düzensizlik saptanmış olup, toplam düzensizliklere oranı % 7.69 dur. E grubu kromozomlarda 167 tane düzensizlik saptanmış ve toplam düzensizliklere oranı % 6.33 olarak

bulunmuştur. F grubu kromozomlarda sadece 1 tane yapısal düzensizlik saptanmış ve toplam düzensizliklere oranı % 0.04 tür. G-Y grubu kromozomlarında da sadece 1 tane yapısal düzensizlik kaydedilmiş ve toplam düzensizlik sayısına oranı % 0.04 tür (Çizelge 14).

Ayrıca bütün kromozom gruplarının uzun kollarının %82.15 oranında kısa kollarının ise %17.84 oranında düzensizlik içerdiği gözlenmiştir. İçerdikleri kromozom düzensizliklerinin çokluğuna göre kromozom grupları A,C-X, B, D, E, F ve G-Y grubu kromozomları olarak sıralanabilir.

(Çizelge 14)

	A		B		C+X		D		E		F		G+Y		TOPLAM	Toplam Z'si
	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q		
Kromatid Gap	-	2	-	2	1	6	-	1	-	-	-	-	-	-	12	17.91
Izokromatid Gap	-	1	-	3	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	5	7.47
Kromatid Kırık	1	11	-	3	1	24	-	3	-	-	-	-	-	43	64.18	
Izokromatid Kırık	-	1	-	-	-	1	-	-	-	1	-	-	-	3	4.48	
Delesyon	-	-	-	-	1	2	-	-	-	-	-	-	-	3	4.48	
TOPLAM	1	15	-	8	3	33	-	4	-	2	-	-	-	66		
Genel Toplam	16		8		36		4		2		-		-			
Genel Toplam Z'si	23.88		11.96		53.73		5.97		2.99		-		-			

Çizelge 13. Kontrol gruplarında rastlanan yapısal düzensizliklerin tiplere ve kromozom gruplarındaki konularına göre dağılımı.

	A		B		C+X		D		E		F		G+Y		TOPLAM	Toplam Z'si
	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q	P	q		
Kromatid Gap	10	41	3	16	8	37	-	12	-	10	-	-	-	-	137	5.19
Izokromatid Gap	28	79	8	68	11	65	-	11	-	8	-	-	-	-	278	10.53
Kromatid Kırık	142	418	39	246	97	473	-	111	22	67	-	-	-	1	1616	61.21
Izokromatid Kırık	39	116	15	98	21	133	1	55	9	36	-	-	-	-	523	19.81
Delesyon	8	18	-	5	6	20	-	13	4	11	-	1	-	-	86	3.26
TOPLAM	227	672	65	433	143	728	1	202	35	132	-	1	-	1	2640	
Genel Toplam	899		498		871		203		167		1		1			
Genel Toplam Z'si	34.05		18.86		32.99		7.69		6.33		0.004		0.004			

Çizelge 14. Deney gruplarında rastlanan yapısal düzensizliklerin tiplere ve kromozom gruplarındaki konularına göre dağılımı.

### 4.3. Sayısal Düzensizliklere Ait Bulgular

Çalışmada sayısal düzensizliklerden 18 tane tetraploid( $4n=92$ ) saptanmış ve tetraploid hücrelerinin 16 tanesi endomitoz iki tanesinde endoreduplikasyon olduğu belirlenmiştir. Endomitoz olgusuna bütün gruplarda rastlanmıştır. Endoreduplikasyona ve sadece doz gruplarında rastlanmıştır.

Poliploid hücre oranları her deneğin farklı doz-süre kombinasyonları için farklı bulunmuştur. Ancak rastlanan poliploid hücre oranları çok düşük olduğu için ayrıntılı bir istatistik değerlendirme için yeterli görülmediğinden yalnızca süre dışlandığında doz ve doz dışlandığında sürenin etkisi incelenmiştir.

#### 4.3.1. Süre Dışlandığında Doz Faktörünün Poliploid Hücre Oluşumuna Etkisi.

Sürenin dışlanması ile dozun poliploid oluşumuna etkisinin belirlenmesi için kontrol ve deney gruplarında rastlanma sıklıkları Çizelge 15'de gösterilmiştir.

Poliploid olgularının oranı her deneğin farklı doz ve süre kombinasyonları için değişmekle birlikte genel bulunma oranı %0.068 dir (Çizelge 15).

Çizelge 15. Süre dışlandığında dozun etkisi ile oluşan poliploid hücre oranları.

GRUP	İncelenen Hücre Sayısı	Poliploid Hücre Sayısı	Poliploidi %'si
Kontrol Grubu	679	5	0.74
0.3 µg/ml	696	5	0.72
3 µg/ml	650	6	0.92
30 µg/ml	614	2	0.33
TOPLAM	2639	18	0.68

Süre dışlandığında dozun etkisini belirlemek için t oran testi ile yapılan istatistiksel değerlendirmede deney grupları oranı ile kontrol grubu arasında poliploid hücre oranı açısından önemli bir fark olmadığı saptanmıştır ( $P>0.05$ ) (Çizelge 16).

Çizelge 16. Dozun poliploid hücre oluşumu üzerine etkisinin istatistiksel değerlendirme sonuçları.

Deney Grupları	Kontrol Grubu	t Değeri	P Değeri
Genel Oranı	Oranı	(0.05)	
0.0663	0.00747	0.227	$P>0.05$

#### 4.3.2. Doz Dışlandığında Sürenin Poliploid Hücre Oluşumuna Etkisi.

Uygulama dozu göz önüne alınmadan, tetraploidilerin yalnız süre ile ilişkisi Çizelge 17'de gösterilmiştir. 48 saatlik uygulama süresinde poliploidi oluşma oranı daha yüksek görünmektedir.

Çizelge 17. Doz dışlandığında süre etkisinde oluşan poliploid hücre oranları.

GRUP	İncelenen Hücre Sayısı	Poliploid Hücre Sayısı	Poliploidi %'si
6 Saat	917	6	0.65
24 Saat	890	3	0.34
48 Saat	832	9	1.08
TOPLAM	2629	18	0.68

Doz dışlandığında süre etkisinde oluşan poliploidilerin süre gruplarına göre değerlendirilmesinde 24 saat - 6 saat ve 48 saat - 6 saat grupları arasında istatistiksel değerlendirmede anlamlı bir fark olmadığı ( $P>0.05$ ), 24 saat-48 saat grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı olduğu saptanmıştır ( $P<0.05$ ) (Çizelge18).



Çizelge 18. Sürenin Poliploid hücre oluşumu üzerine etkisinin istatistiksel değerlendirme sonuçları.

1. Grup	2. Grup	t Değeri (0.05)	P Değeri
24 Saat	6 Saat	0.966	P>0.05
24 Saat	48 Saat	2.405	P<0.05
48 Saat	6 Saat	0.798	P>0.05

#### 4.4. Mitotik İndekse Ait Bulgular

Kontrol grupları ve deney gruplarına ait preparatların her birinden 1000 hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiş olup, çalışmada kullanılmış olan bleomycinin, hücrelerin mitozaya girme oranları üzerinde her hangi bir etkisinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bulgular çizelge 19'da verilmiş, ayrıca gerekli istatistiksel değerlendirmeler de yapılarak sonuçlar 20, 21, 22 ve 23 numaralı çizelgelerde sunulmuştur.

Mitotik indekse ait değerler, farklı, doz ve süre kombinasyonlarında olduğu gibi, eşit doz ve sürenin uygulandığı denekler arasında belirgin farklılıklar göstermektedir. Tüm deneklere ait bulgular toplamının aritmetik ortalamaları ile yapılan karşılaştırmada; kontrol gruplarının genel aritmetik ortalaması 10.86, 03 µg/ml lik deney grubunda 8.73, 3 µg/ml lik deney grubunda 5.0, 30 µg/ml lik deney grubunda ise 3.93'e düştüğü gözlenmiştir. Kontrol grupları aritmetik ortalaması ile 0.3, 3 ve 30 µg/ml lik deney gruplarının hepsinin genel aritmetik ortalaması karşılaştırıldığında; kontrol gruplarının aritmetik ortalaması 10.86, deney gruplarının aritmetik ortalaması ise 5.89 olarak bulunmuştur.

En yüksek mitotik indeks değeri 6 saatlik kontrol grubunda 11.8 olarak bulunmuştur. En düşük mitotik indeks değeri 48 saat-30µg/ml lik deney grubunda 3.60 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 19).

Çizelge 19. Deneklere ait mitotik indeks değerleri.

Doz - Süre	I	II	III	IV	V	$\bar{\epsilon X}$	$\bar{X}$
Kontrol-6 Saat	10	12	15	12	10	59	11.8
Kontrol-24 Saat	10	8	8	14	15	55	11.0
Kontrol-48 Saat	7	6	8	18	10	49	9.8
Kontrol Ortalaması	9.0	8.66	10.33	14.66	11.66	54.33	10.86
03µg/ml-6 Saat	8	12	14	15	7	56	11.2
0.3µg/ml 24 Saat	10	6	7	6	8	37	7.4
0.3µg/ml 48 Saat	7	9	5	9	8	38	7.6
03.µg/ml Ortalaması	8.33	9.0	8.67	10.0	7.67	43.67	8.73
3 µg/ml 6 Saat	8	2	8	8	3	31	6.20
3 µg/ml 24 Saat	4	1	8	4	3	20	4.0
3 µg/ml 48 Saat	3	1	12	3	5	24	4.80
3 µg/ml Ortalaması	5.0	1.33	9.33	5.0	3.67	24.33	5.0
30µg/ml 6 Saat	6	5	5	2	4	22	4.40
30µg/ml 24 Saat	1	6	4	1	6	18	3.60
30µg/ml 48 Saat	4	5	1	3	6	19	3.80
30µg/ml Ortalaması	3.67	5.33	3.33	2.0	5.33	19.66	3.93
Deney Grupları $\bar{X}$ 'sı	4.42	3.0	6.91	6.42	5.42	26.17	5.23

#### 4.4.1. Mitotik İndeks Bulgularının İstatistiksel Değerlendirmesi

Deneklere ait farklı doz-süre kombinasyonlarına ait mitotik indeks değerleri hesaplandıktan sonra uygulanan her süre için kontrol grubu ve

deney gruplarına ait bulgular t testi uygulanarak gruplar arasında fark olup olmadığı yada bleomycinin mitotik indeksi etkileyip etkilemediği belirlenmiştir.

#### 4.4.1.1. 6 Saatlik Sürede Mitotik İndeks Karşılaştırması

6 saatlik süre uygulanmasındaki veriler karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile 0.3µg/ml lik deney grubu arasında ve 3µg/ml grubundan 30µg/ml lik deney grubu arasında mitotik indeks olgusunda herhangi bir değişiklik olmadığı ( $P>0.05$ ), ancak diğer deney grupları arasında mitotik indeksin etkilendiği saptanmıştır ( $P<0.01$ ) (Çizelge 20).

Çizelge 20. 6 Saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması

Karşılaştırılan Dozlar	t Değeri	Tablo Değeri 0.05	Değeri 0.01	SONUÇ
Kontrol - 0.3 µg/ml	0.04	1.860	2.892	$P>0.05$
Kontrol - 3 µg/ml	2.96	1.860	2.892	$P<0.01$
Kontrol - 30 µg/ml	4.12	1.860	2.892	$P<0.01$
0.3 µg/ml - 3 µg/ml	2.692	1.860	2.892	$P<0.01$
0.3 µg/ml - 30 µg/ml	3.86	1.860	2.892	$P<0.01$
3 µg/ml - 30 µg/ml	1.23	1.860	2.892	$P>0.05$

#### 4.4.1.2. 24 Saatlik Sürede Mitotik İndeks Karşılaştırması

Bleomycinin 24 saat süre ile farklı dozlarda deneklere uygulanması sonucu elde edilen veriler karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile 0.3µg/ml lik deney grubu arasında ve 3µg/ml lik deney grubu ile 30µg/ml lik deney grubu arasında mitotik indeks olgusunda herhangi bir değişiklik olmadığı ( $P>0.05$ ), kontrol grubu ile 3µg/ml ve 30µg/ml lik deney grupları arasında mitotik indeksin önemli seviyede etkilendiği ( $P<0.01$ ) ve 0.3µg/ml lik deney grubu ile 3µg/ml ve 30µg/ml arasında ise 0.05 seviyesinde etkilendiği saptanmıştır (Çizelge 21).

Çizelge 21. 24 Saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması

Karşılaştırılan Dozlar	t Değeri	Tablo 0.05	Değeri 0.01	SONUÇ
Kontrol - 0.3 µg/ml	1.88	1.860	2.892	P>0.05
Kontrol - 3 µg/ml	4.05	1.860	2.892	P<0.01
Kontrol - 30 µg/ml	4.34	1.860	2.892	P<0.01
0.3 µg/ml - 3 µg/ml	2.258	1.860	2.892	P<0.05
0.3 µg/ml - 30 µg/ml	2.569	1.860	2.892	P<0.05
3 µg/ml - 30 µg/ml	0.325	1.860	2.892	P>0.05

#### 4.4.1.3. 48 Saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması

Bleomycinin 48 saat süre ile farklı dozlarda deneklere uygulanması sonucu elde edilen veriler karşılaştırıldığında; kontrol grubu ile 0.3µg/ml lik deney grubu, 0.3µg/ml lik deney grubu ile 3µg/ml lik deney grubu ve 3µg/ml

lik deney grubu ile 30µg/ml lik deney grubuna geçişte mitotik indeksin önemli seviyede etkilenmediği ( $P>0.05$ ), kontrol grubu ile 3µg/ml lik deney grubu ve 30µg/ml lik deney grupları arasında geçişte mitotik indeksin önemli seviyede etkilendiği ( $P<0.01$ ), 0.3µg/ml lik deney grubu ile 30µg/ml lik deney grubu arasında geçişte ise mitotik indeksin 0.05 seviyesinde etkilendiği saptanmıştır (Çizelge 22).

Çizelge 22. 48 Saatlik sürede mitotik indeks karşılaştırması

Karşılaştırılan Dozlar	t Değeri	Tablo 0.05	Değeri 0.01	SONUÇ
Kontrol - 0.3 µg/ml	1.184	1.860	2.892	$P>0.05$
Kontrol - 3 µg/ml	2.936	1.860	2.892	$P<0.01$
Kontrol - 30 µg/ml	3.65	1.860	2.892	$P<0.01$
0.3 µg/ml - 3 µg/ml	1.78	1.860	2.892	$P>0.05$
0.3 µg/ml - 30 µg/ml	2.52	1.860	2.892	$P<0.05$
3 µg/ml - 30 µg/ml	0.76	1.860	2.892	$P>0.05$

#### 4.4.1.4. Mitotik indeksin toplam ortalamalarının istatistiksel değerlendirmesi.

Kontrol gruplarının toplam ortalaması ile deney gruplarının tek tek ortalamaları karşılaştırıldığında; Kontrol grubu ile 0.3µg/ml lik deney grubu arasında ve 3µg/ml lik deney grubu ile 30µg/ml lik deney grubu arasında mitotik indeksin önemli seviyede etkilenmediği ( $P>0.05$ ), kontrol grubu ile 3µg/ml ve 30µg/ml lik deney grupları arasında, 0.3µg/ml lik deney grubu ile 3µg/ml ve 30µg/ml lik deney grupları arasında mitotik indeksin önemli seviyede etkilendiği saptanmıştır ( $P<0.01$ ) (Çizelge 23).

#### 4.5. Satelit Assosiyasyonlarına Ait Bulgular

Satellit assosiyonları sayısal ya da yapısal kromozom düzensizliği olarak değerlendirilmemekle beraber kaydedilmiş ve genel sonuçlar tablosunda (Çizelge 32) gösterilmiştir. Toplam 728 satelit assosiasyonunun

215'i kontrol grubundan, 215'i 0.3µg/ml lik deney grubunda, 177'si 3µg/ml lik deney grubunda ve 121'i de 30µg/ml lik deney grubunda tespit edilmiştir (Çizelge 24).

Satellit assosiasyonları en çok kontrol grubu ve 0.3µg/ml lik deney grubunda bulunmuştur. 30µg/ml lik deney grubunda ise satellit assosiasyonu yüzdesinde bir düşme olduğu görülmektedir (Çizelge 24).

Çizelge 23. Mitotik indekse ait toplam ortalamaların istatistiksel değerlendirmesi.

Karşılaştırılan Dozlar	t Değeri	Tablo Değeri 0.05	SONUÇ
Kontrol - 0.3 µg/ml	1.84	1.860	P>0.05
Kontrol - 3 µg/ml	5.67	1.860	P<0.001
Kontrol - 30 µg/ml	6.97	1.860	P<0.001
0.3 µg/ml - 3 µg/ml	3.88	1.860	P<0.001
0.3 µg/ml - 30 µg/ml	5.25	1.860	P<0.001
3 µg/ml - 30 µg/ml	1.43	1.860	P>0.05

#### 4.5.1. Satellit Assosiasyonlarının İstatistiksel Değerlendirmesi.

6, 24, ve 48 saatlik deney gruplarında farklı dozlar için belirlenen satellit assosiasyonlarının birbirlerine göre fark gösterip göstermedikleri t oran testi ile değerlendirilmiştir.

##### 4.5.1.1. 6 Saatlik Sürede Satellit Assosiasyonu Karşılaştırması.

Yapılan istatistiksel değerlendirmede 6 saatlik kültürlerde satellit assosiasyonları açısından kontrol grubu ile doz grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı tespit edilmiştir (P>0.05) (Çizelge 25).

Çizelge 24. Satellit Assosiasyonlarının Sayı ve Yüzdeleri.

Doz - Süre Kombinasyonu	İncelenen Metafaz Sayısı	Satellit Assosiasyonu Sayısı	Satellit Assosiasyonu %’si
Kontrol 6 Saat	213	55	25.82
Kontrol 24 Saat	250	82	32.80
Kontrol 48 Saat	216	78	36.11
TOPLAM	679	215	31.66
0.3µg/ml-6 Saat	216	64	29.63
0.3µg/ml-24 Saat	250	76	30.40
0.3µg/ml-48 Saat	230	75	32.61
3µg/ml- 6 Saat	250	71	28.40
3µg/ml-24 Saat	196	55	28.06
3µg/ml-48 Saat	204	51	25.00
30µg/ml-6 Saat	238	53	22.27
30µg/ml-24 Saat	194	43	22.16
30µg/ml-48 Saat	182	25	13.74
TOPLAM	1960	513	26.17

Çizelge 25. 6 Saatlik süre uygulamasında deney grupları ile kontrol grubunun karşılaştırılması.

Karşılaştırılan Dozlar	t Değeri	Tablo Değeri 0.05	SONUÇ
0.3µg/ml- Kontrol	0.46	1.645	P>0.05
3µg/ml - Kontrol	0.62	1.645	P>0.05
30µg/ml - Kontrol	0.88	1.645	P>0.05



#### 4.5.1.2. 24 Saatlik Sürede Satelit Assosiasyonu Karşılaştırması.

24 saatlik sürede deney grupları ile kontrol grubunun istatistiksel olarak karşılaştırılmasında; kontrol grubu ile 0.3µg/ml ve 3µg/ml lik deney grupları arasında anlamlı bir farkın olmadığı ( $P>0.05$ ), kontrol grubu ile 30µg/ml lik deney grubunda ise anlamlı bir farkın olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.05$ ) (Çizelge 26).

Çizelge 26. 24 Saatlik süre uygulamasında deney grupları ile kontrol grubunun karşılaştırılması.

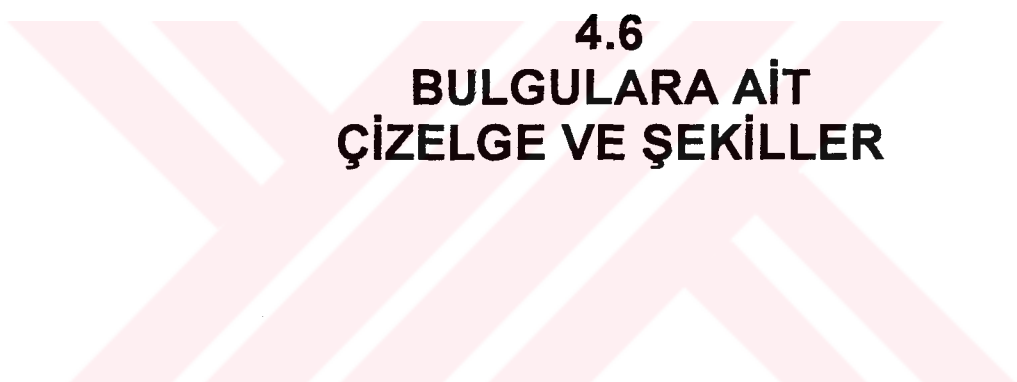
Karşılaştırılan Dozlar	t Değeri	Tablo Değeri 0.05	SONUÇ
0.3µg/ml- Kontrol	0.57	1.645	$P>0.05$
3µg/ml - Kontrol	1.19	1.645	$P>0.05$
30µg/ml - Kontrol	2.47	1.645	$P<0.05$

#### 4.5.1.3. 48 Saatlik Sürede Satelit Assosiasyonu Karşılaştırması.

48 Saatlik sürede satelit assosiasyonları açısından yapılan istatistiksel değerlendirmede; kontrol grubu ile 0.3µg/ml lik deney grubu arasında anlamlı bir fark olmadığı ( $P>0.05$ ), kontrol grubu ile 3µg/ml ve 30µg/ml lik deney grupları arasında ki farkın ise anlamlı olduğu tespit edilmiştir ( $P<0.001$ ) (Çizelge 27).

Çizelge 27. 48 Saatlik süre uygulamasında deney grupları ile kontrol grubunun karşılaştırılması.

Karşılaştırılan Dozlar	t Değeri	Tablo Değeri 0.05	SONUÇ
0.3µg/ml- Kontrol	1.14	1.645	$P>0.05$
3µg/ml - Kontrol	2.80	1.645	$P<0.01$
30µg/ml - Kontrol	5.37	1.645	$P<0.001$



**4.6**  
**BULGULARA AİT**  
**ÇİZELGE VE ŞEKİLLER**

Kıyasal Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin İncelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu
Kontrol 6 Saat	213	190	23	10.80	3	1	16	2	1	-	-	23	10.80	1	-	24	11.27	5
Kontrol 24 Saat	250	226	24	9.60	5	3	16	1	1	-	-	26	10.40	1	-	27	10.80	8
Kontrol 48 Saat	216	199	17	7.87	4	1	11	-	1	-	-	17	7.87	3	-	20	9.26	7
0.3pg/ml-6 Saat	216	139	77	35.65	10	9	78	20	12	2	4	135	62.50	1	1	137	63.43	64
0.3pg/ml-24 Saat	250	201	49	19.60	18	3	47	-	-	-	-	68	27.20	1	-	69	27.60	7
0.3pg/ml-48 Saat	230	168	62	26.96	6	3	93	3	3	1	-	109	47.39	2	-	111	48.26	7
3pg/ml-6 Saat	250	75	175	70.00	27	50	25	86	21	4	23	466	186.40	2	-	468	187.20	71
3pg/ml-24 Saat	196	72	124	63.27	7	25	225	41	5	-	2	305	155.61	-	1	306	156.12	55
3pg/ml-48 Saat	204	72	132	64.71	23	70	240	51	5	-	15	404	198.04	3	-	407	199.51	51
30pg/ml-6 Saat	238	66	172	72.27	24	55	248	120	22	3	29	537	225.63	1	-	538	226.05	53
30pg/ml-24 Saat	194	61	133	68.56	14	33	217	73	7	2	11	357	184.02	-	-	357	184.02	43
30pg/ml-48 Saat	182	66	116	63.74	8	30	177	129	11	-	10	365	200.55	1	-	366	201.10	25
<b>TOPLAM</b>	<b>2639</b>	<b>1535</b>	<b>1104</b>	<b>-</b>	<b>149</b>	<b>283</b>	<b>1659</b>	<b>526</b>	<b>89</b>	<b>12</b>	<b>94</b>	<b>2812</b>	<b>-</b>	<b>16</b>	<b>2</b>	<b>2830</b>	<b>-</b>	<b>726</b>
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	5.65	9.02	62.86	19.93	3.37	0.45	3.56	106.56	-	0.661	0.08	107.24	-	27.5

Çizelge 28. Deneklere ait bulguların genel sonuçlar tablosu.

Kimyasal Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu
Kontrol 6 Saat	50	47	3	6.0	3	-	-	-	-	-	-	3	6.00	-	-	3	6.0	13
Kontrol 24 Saat	50	45	5	10.0	3	-	2	1	-	-	-	6	12.00	-	-	6	12.0	19
Kontrol 48 Saat	38	35	3	7.89	3	-	-	-	-	-	-	3	7.89	2	-	5	13.16	12
0.3pg/ml-6 Saat	50	39	11	22	5	-	5	-	1	-	-	11	22.00	-	-	11	22.00	13
0.3pg/ml-24 Saat	50	45	5	10.00	1	-	5	-	-	-	-	6	12.00	-	-	6	12.00	16
0.3pg/ml-48 Saat	50	35	15	30.00	4	2	15	-	2	-	-	24	48.00	1	-	25	50.00	20
3pg/ml-6 Saat	50	14	36	72.00	9	9	48	3	8	3	1	82	164.00	-	-	82	164.00	15
3pg/ml-24 Saat	50	17	33	66.00	-	-	43	-	-	-	-	43	86.00	-	-	43	86.00	14
3pg/ml-48 Saat	50	-	50	100.00	12	36	80	18	3	-	8	157	314.00	-	-	157	314.00	8
30pg/ml-6 Saat	50	23	27	54.00	7	7	40	3	5	1	-	63	126.00	-	-	63	126.00	5
30pg/ml-24 Saat	40	2	38	95.00	9	19	69	31	5	-	6	139	347.50	-	-	139	347.50	7
30pg/ml-48 Saat	32	3	29	90.63	-	5	47	44	6	-	2	104	325.00	-	-	104	325.00	4
<b>TOPLAM</b>	<b>560</b>	<b>305</b>	<b>255</b>	<b>45.54</b>	<b>56</b>	<b>78</b>	<b>354</b>	<b>101</b>	<b>30</b>	<b>4</b>	<b>18</b>	<b>641</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>644</b>	<b>-</b>	<b>126</b>
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	10.00	13.93	63.21	18.04	5.36	0.71	3.21	114.46	-	0.53	10.00	115.00	-	22.50

Cizelge 29. 1 Numaralı deneyin genel sonuçlar tablosu.

Kıyasal Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme (Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin İncelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu
Kontrol 6 Saat	13	11	2	15.38	-	-	2	-	-	-	-	2	15.38	-	-	2	15.38	2
Kontrol 24 Saat	50	44	6	12.00	-	1	4	-	1	-	-	6	12.00	1	-	7	14.00	6
Kontrol 48 Saat	28	25	3	10.71	-	-	2	-	1	-	-	3	10.71	-	-	3	10.71	9
0.3pg/ml-6 Saat	16	8	8	50.00	3	6	18	1	6	1	-	35	218.75	1	-	36	225.00	3
0.3pg/ml-24 Saat	50	35	15	30.00	17	1	-	-	-	-	-	18	56.00	1	-	19	38.00	9
0.3pg/ml-48 Saat	30	16	14	46.67	-	-	21	1	-	1	-	23	76.67	-	-	23	76.67	6
3pg/ml-6 Saat	50	26	24	48.00	7	3	37	-	5	1	1	54	108.00	-	-	54	108.00	8
3pg/ml-24 Saat	13	4	9	69.23	4	7	20	-	4	-	2	37	284.62	-	-	37	284.62	3
3pg/ml-48 Saat	17	8	9	52.94	5	4	14	-	2	-	-	25	147.06	3	-	28	164.71	2
30pg/ml-6 Saat	50	9	41	82.00	4	9	70	41	6	-	8	138	276.00	-	-	138	276.00	10
30pg/ml-24 Saat	50	21	29	58.00	1	7	37	4	2	2	-	53	106.00	-	-	53	106.00	12
30pg/ml-48 Saat	36	8	28	77.78	1	3	37	31	1	-	2	75	208.33	-	-	75	208.33	1
TOPLAM	403	215	182	46.65	42	41	262	76	26	5	13	469	-	6	-	475	-	71
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	10.42	10.17	65.01	19.35	6.95	1.24	3.23	116.38	-	1.49	0.0	117.87	-	17.62

Çizelge 30. 2 Numaralı deneyin genel sonuçlar tablosu.

Kıyasal Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu
Kontrol 6 Saat	50	46	4	8.0	-	-	3	-	-	-	-	3	6.00	1	-	4	8.0	18
Kontrol 24 Saat	50	48	2	4.0	-	-	2	-	-	-	-	2	4.00	-	-	2	4.0	19
Kontrol 48 Saat	50	48	2	4.0	-	-	3	-	-	-	-	3	6.00	-	-	3	6.0	24
0.3µg/ml-6 Saat	50	19	31	62.0	1	2	23	17	4	-	4	51	102.00	-	-	51	102.00	14
0.3µg/ml-24 Saat	50	45	5	10.0	-	1	11	-	-	-	-	12	24.00	-	-	12	24.00	21
0.3µg/ml-48 Saat	50	35	15	30.0	1	-	31	1	-	-	-	33	66.00	1	-	34	68.00	19
3µg/ml-6 Saat	50	5	45	90.0	1	15	51	41	2	-	7	117	234.00	1	-	118	236.00	20
3µg/ml-24 Saat	50	4	46	92.0	1	18	118	40	-	-	-	177	354.00	-	-	177	354.00	12
3µg/ml-48 Saat	50	-	50	100.0	4	29	119	27	-	-	5	184	368.00	-	-	184	368.00	12
3µg/ml-6 Saat	50	1	49	98.0	1	8	68	31	4	1	4	117	234.00	-	-	117	234.00	15
30µg/ml-24 Saat	25	-	25	100.0	1	1	44	18	-	-	4	68	272.00	-	-	68	272.00	4
30µg/ml-48 Saat	14	2	12	85.71	1	9	31	31	2	-	-	74	528.57	-	-	74	528.57	-
<b>TOPLAM</b>	<b>539</b>	<b>253</b>	<b>286</b>	<b>53.06</b>	<b>11</b>	<b>83</b>	<b>504</b>	<b>206</b>	<b>12</b>	<b>1</b>	<b>24</b>	<b>841</b>	<b>-</b>	<b>3</b>	<b>-</b>	<b>844</b>	<b>-</b>	<b>177</b>
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	2.04	15.40	93.51	38.22	2.23	0.19	4.45	156.03	-	0.56	0.00	156.59	-	32.84

Cizelge 31. 3 Numaralı deneyin genel sonuçlar tablosu.

Karyasal Bozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı				Yapısal Bozukluklar										Diğer			
	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme/Delesyon	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoredüplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu	
Kontrol 6 Saat	50	42	8	16.00	-	-	6	2	-	-	-	8	16.00	-	-	8	16.00	14
Kontrol 24 Saat	50	46	4	8.00	-	2	2	-	-	-	-	4	8.00	-	-	4	8.00	16
Kontrol 48 Saat	50	45	5	10.00	-	-	4	-	-	-	-	4	8.00	1	-	5	10.00	23
0.3pg/ml-6 Saat	50	33	17	34.00	-	1	20	1	1	1	-	24	48.00	-	1	25	50.00	10
0.3pg/ml-24 Saat	50	40	10	20.00	-	-	15	-	-	-	-	15	30.00	-	-	15	30.00	13
0.3pg/ml-48 Saat	50	41	9	18.00	-	1	16	-	1	-	-	18	36.00	-	-	18	36.00	20
3pg/ml-6 Saat	50	14	36	72.00	1	2	46	2	1	-	5	57	114.00	1	-	58	116.00	13
3pg/ml-24 Saat	33	22	11	33.33	2	-	12	-	1	-	-	15	45.45	-	-	15	45.45	11
3pg/ml-48 Saat	37	27	10	27.03	1	1	14	6	-	-	2	24	64.86	-	-	24	64.86	14
30pg/ml-6 Saat	38	19	19	50.00	-	-	31	4	1	-	3	39	102.63	-	-	39	102.63	12
30pg/ml-24 Saat	29	15	14	48.28	-	3	29	6	-	-	1	39	134.48	-	-	39	134.48	8
30pg/ml-48 Saat	50	31	19	38.00	1	4	29	13	2	-	2	51	102.00	-	-	51	102.00	8
TOPLAM	537	375	162	-	5	14	224	34	7	1	13	298	-	2	1	301	-	162
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	0.93	2.61	41.71	6.33	1.30	0.19	2.42	55.50	-	0.37	10.19	56.05	-	30.17

Çizelge 32. 4 Numaralı deneyin genel sonuçlar tablosu.



Kıyasal Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu
Kontrol 6 Saat	50	44	6	12.0	-	1	5	-	1	-	-	7	14.0	-	-	7	14.0	8
Kontrol 24 Saat	50	43	7	14.0	2	-	6	-	-	-	-	8	16.0	-	-	8	16.0	22
Kontrol 48 Saat	50	46	4	8.0	1	1	2	-	-	-	-	4	8.0	-	-	4	8.0	10
0.3pg/ml-6 Saat	50	40	10	20.0	1	-	12	1	-	-	-	14	28.0	-	-	14	28.0	24
0.3pg/ml-24 Saat	50	36	14	28.0	-	1	16	-	-	-	-	17	34.0	-	-	17	34.0	17
0.3pg/ml-48 Saat	50	41	9	18.0	1	-	10	-	-	-	-	11	22.0	-	-	11	22.0	10
3pg/ml-6 Saat	50	16	34	68.0	9	21	73	40	5	-	8	156	312.0	-	-	156	312.0	15
3pg/ml-24 Saat	50	25	25	50.0	-	-	32	1	-	-	-	33	66.0	-	1	34	68.0	15
3pg/ml-48 Saat	50	37	13	26.0	1	-	13	-	-	-	-	14	28.0	-	-	14	28.0	15
30pg/ml-6 Saat	50	14	36	72.0	12	31	75	41	6	1	14	180	360.0	1	-	181	362.0	11
30pg/ml-24 Saat	50	23	27	54.0	3	3	38	14	-	-	-	58	116.0	-	-	58	116.0	12
30pg/ml-48 Saat	50	22	28	56.0	5	9	33	10	-	-	4	61	122.0	1	-	62	124.0	12
TOPLAM	600	387	213	-	35	67	315	107	12	1	26	563	-	2	1	566	-	171
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	5.83	11.17	52.50	17.83	2.0	0.17	4.33	93.83	-	0.33	10.17	94.33	-	26.50

Çizelge 33. 5 Numaralı deneyin genel sonuçlar tablosu.

Kimyasal Dozu ve Uygulama Süresi																		
	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu
Kontrol 6 Saat	213	190	23	10.80	3	1	16	2	1	-	-	23	10.80	1	-	24	11.27	55
Kontrol 24 Saat	250	226	24	9.60	5	3	16	1	1	-	-	26	10.40	1	-	27	10.80	82
Kontrol 48 Saat	216	199	17	7.87	4	1	11	-	1	-	-	17	7.87	3	-	20	9.26	78
TOPLAM	679	615	64	9.43	12	5	43	3	3	-	-	66	9.72	5	-	71	10.46	215
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	1.77	0.074	6.33	0.44	0.44	-	-	9.72	-	0.74	-	10.46	-	31.66

Cizelge 34. Kontrol gruplarının farklı sürelerdeki kromozomal düzensizlik bulguları.

Kimyasal Dozu ve Uygulama Süresi																		
	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre sayısı	Düzensizlik İçeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyonu
0.3µg/ml 6 Saat	216	139	77	35.65	10	9	78	20	12	2	4	135	62.50	1	1	137	63.43	64
0.3µg/ml 24 Saat	250	201	49	19.60	18	3	47	-	-	-	-	68	27.20	1	-	69	27.60	76
0.3µg/ml 48 Saat	230	168	62	26.96	6	3	93	3	3	1	-	109	47.39	2	-	111	48.26	75
TOPLAM	696	508	188	30.17	34	15	218	23	15	3	4	312	44.83	4	1	317	45.55	215
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	4.89	2.16	31.32	3.30	2.16	0.43	0.57	44.83	-	0.57	0.14	45.55	-	30.89

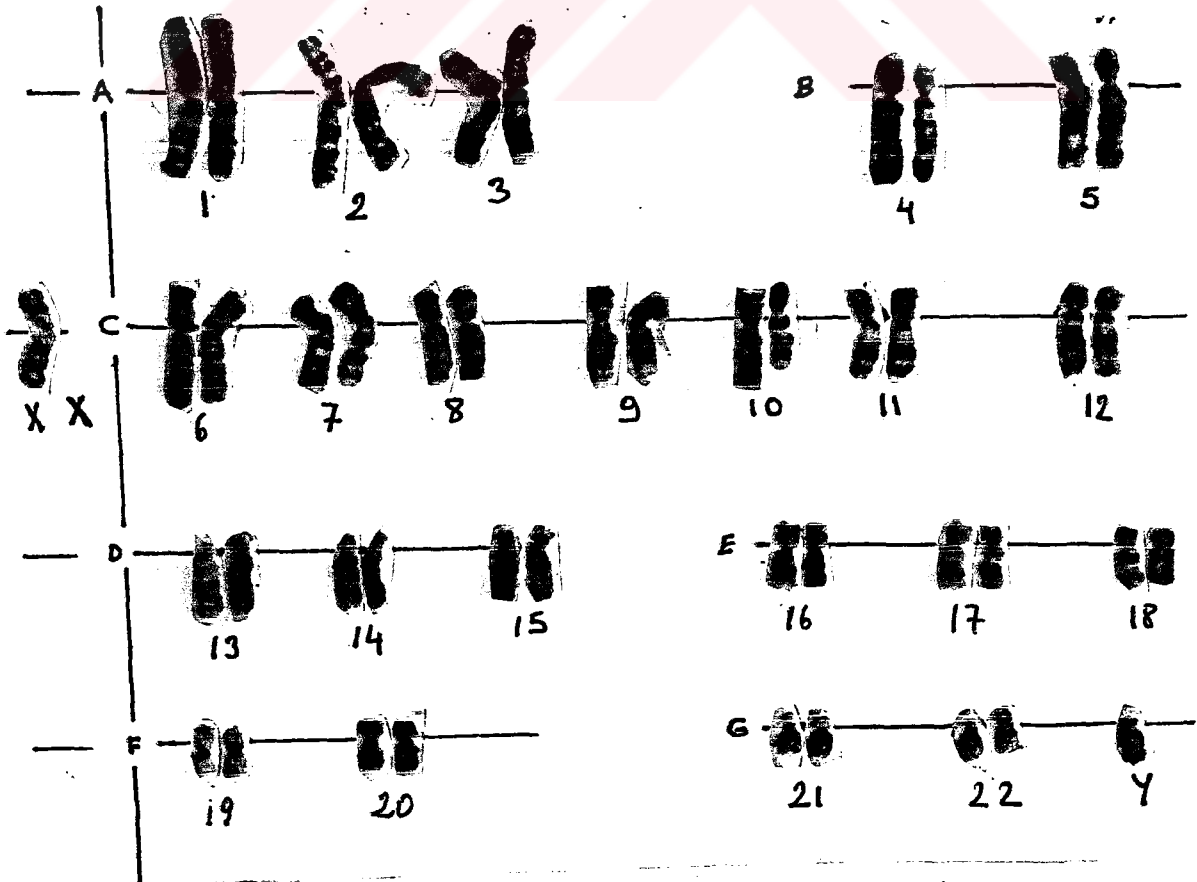
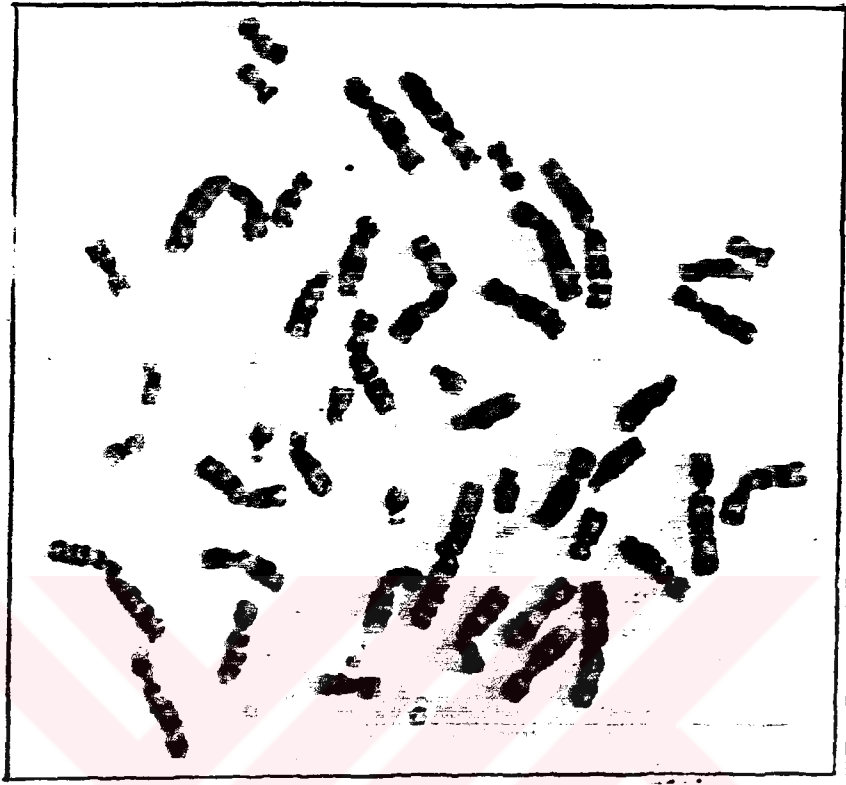
Cizelge 35. 0.3µg/ml'lik doz ve farklı sürelerde bleomycinin neden olduğu kromozomal düzensizlik bulguları.

Kıyasal Dozu ve uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksime(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satelit Assosiasyonu
3µg/ml 6 Saat	250	75	175	70.0	27	50	255	86	21	4	23	466	186.40	2	-	468	187.20	71
3µg/ml 24 Saat	196	72	124	63.27	7	25	225	41	5	-	2	305	155.61	-	1	306	156.12	85
3µg/ml 48 Saat	204	72	132	64.71	23	70	240	51	5	-	15	404	198.04	3	-	407	199.51	51
TOPLAM	650	219	431	62.92	57	145	720	178	31	4	40	1175	180.77	5	1	1181	181.69	177
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	8.77	22.31	111	27.38	4.77	0.62	6.15	180.77	-	0.77	0.15	181.69	-	27.23

Çizelge 36. 3µg/ml'lik doz ve farklı sürelerde bleomisin neden olduğu kromozomal düzensizlik bulguları.

Kıyasal Dozu ve Uygulama Süresi	İncelenen Metafaz sayısı	Normal Metafaz sayısı	Düzensizlik içeren Hücre sayısı	Düzensizlik içeren Hücre yüzdesi	Kromatid Gap	İzokromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Kırık	Eksilme(Delesyon)	Fragment	Diğer yapısal Düzensizlikler	Toplam yapısal düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	Endomitoz	Endoreduplikasyon	Toplam düzensizlikler	Toplam düzensizlik yüzdesi	Satellit Assosiasyon	
30µg/ml 6 Saat	238	66	172	72.27	24	55	284	120	22	3	29	537	225.63	1	538	226.05	53	
30µg/ml 24 Saat	194	61	133	68.56	14	33	217	73	7	2	11	357	184.02	-	357	184.02	43	
30µg/ml 48 Saat	182	66	116	63.74	8	30	177	129	11	-	10	365	200.55	1	366	201.10	25	
<b>TOPLAM</b>	614	193	421	68.57	46	118	678	322	40	5	50	1259	205.05	2	1261	205.37	121	
Toplam yapısal Düzensizliklerin İncelenen Metafaz Sayısına Oranı	-	-	-	-	7.49	19.22	110.42	52.44	6.51	0.81	8.14	205.05	-	0.33	-	205.37	-	19.71

Çizelge 37. 30µg/ml'lik doz ve farklı sürelerde bleccycinin neden olduğu kromozomal düzensizlik bulguları.



Sekil 2. Denver sistemine göre Giemsa Bantlama ile hazırlanmış bir erkeğe ait karyotip.



Sekil 3. A-DDD satellit assosiasyonu, B,C,D,E,F,I. Kromatit kırık, E.H izokromatit kırık.



Sekil 4. A-Triradial kromozom, B. Kromatid kırık.

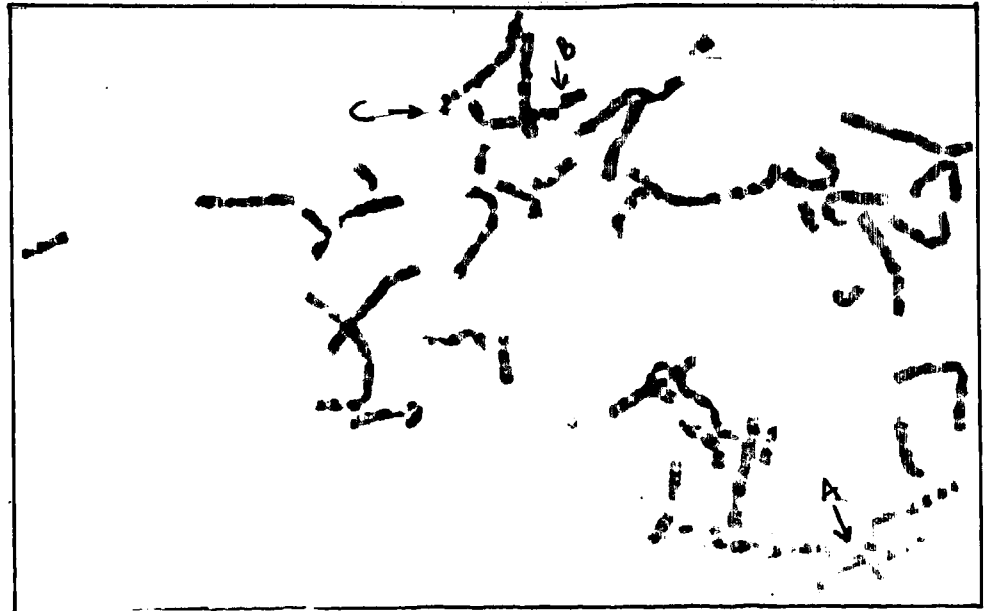


Sekil 5. A-Disentrik kromozom, B. 6 grubu kromozomda satelit

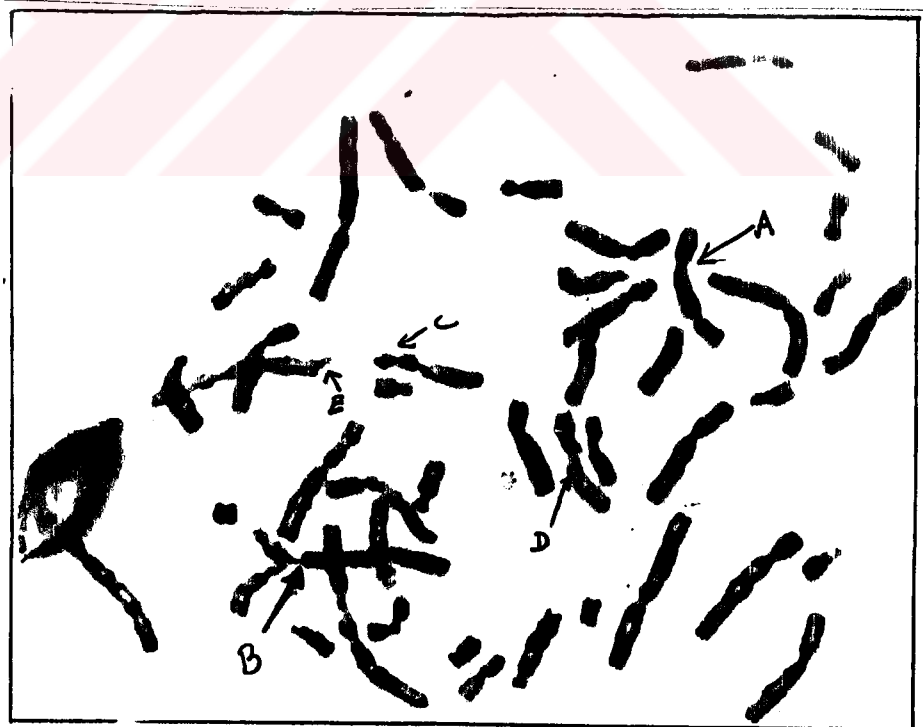


Sekil 6. Quadri radial kromozom, B-izokromatid gap, C-kromatid gap.





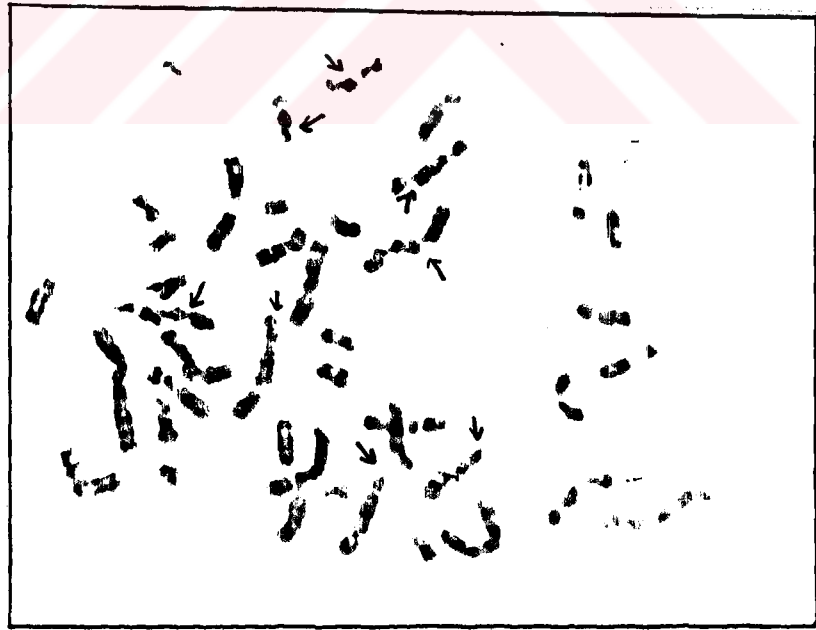
Sekil 7. A-Quadriradial kromozom, B-izokromatid kırık, C-kromatid kırık



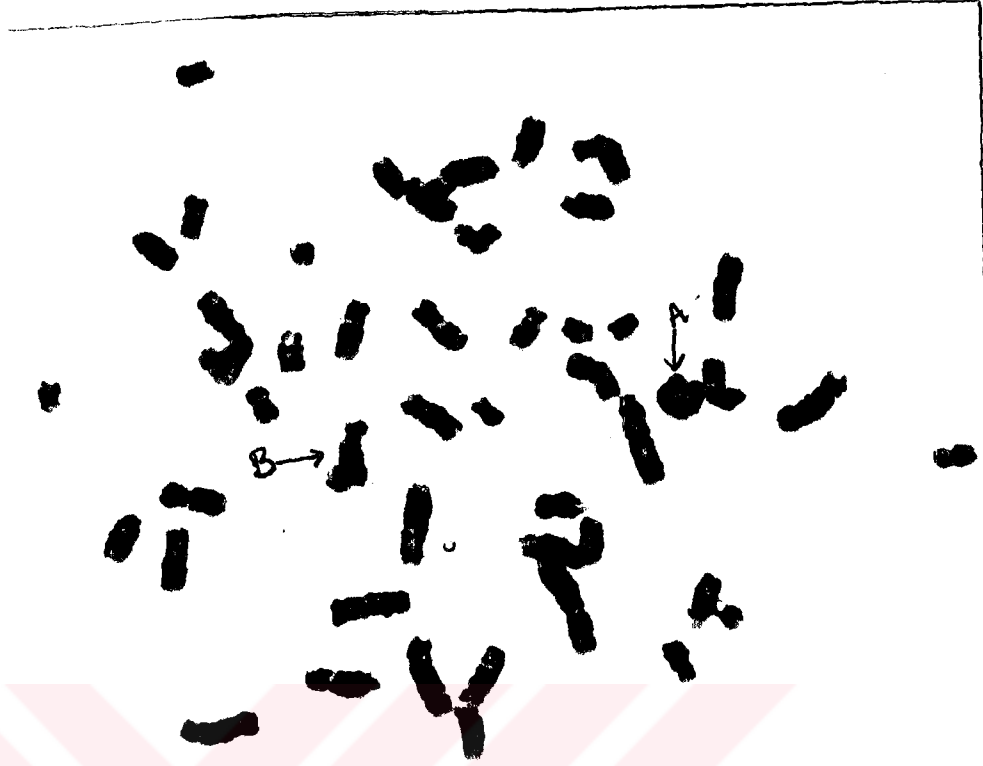
Sekil 8. A. Disentrik kromozom, B-Triradial kromozom, C,D-izomatid kırık, E-Kromatid kırık.



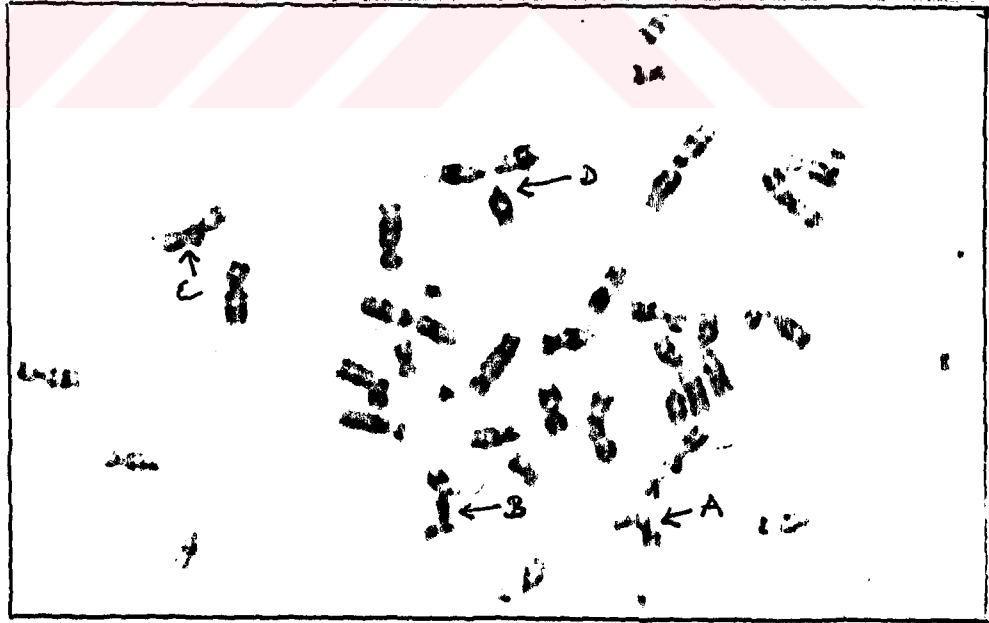
Şekil 9. A-Kromatid kırık, B,D,E-izokromatid kırık,F-Kromatid gap, G-DG assosiasyonu, H-DD assosiasyonu



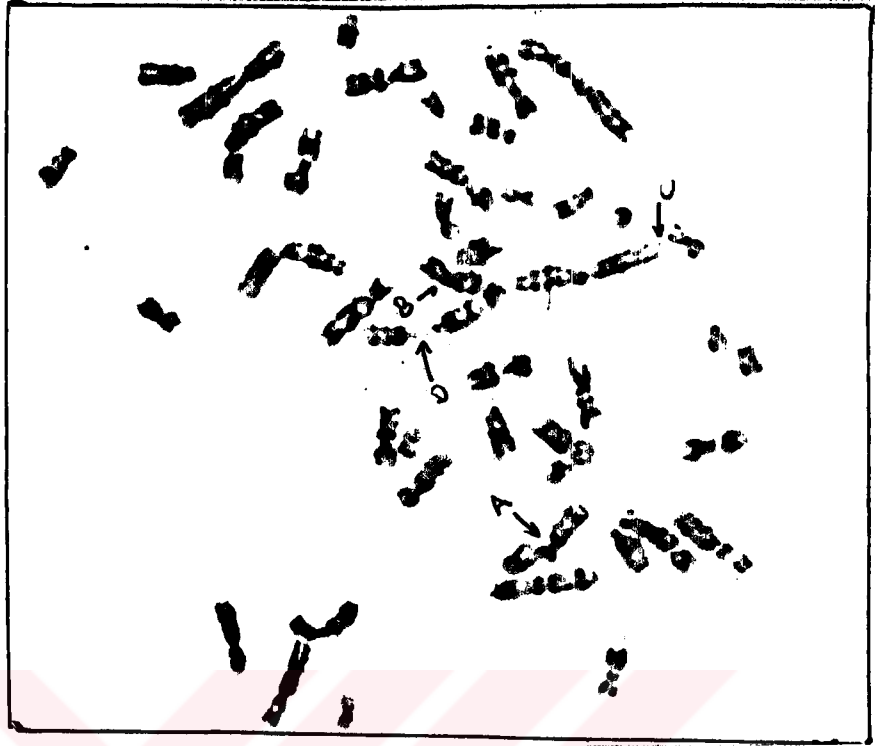
Şekil 10. Multipl aberasyonlu bir metafaz.



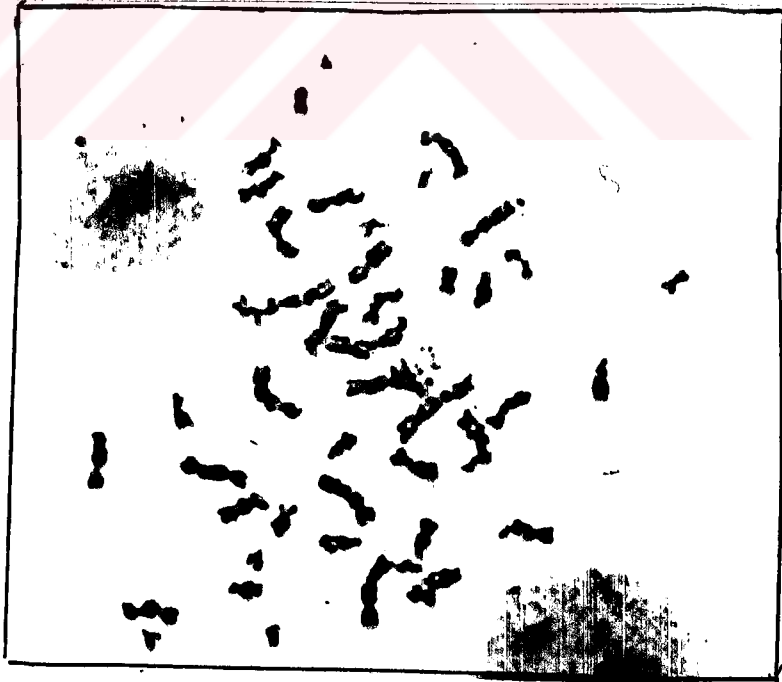
Sekil 11. A-Ring kromozom, B-izokromatid kırık.



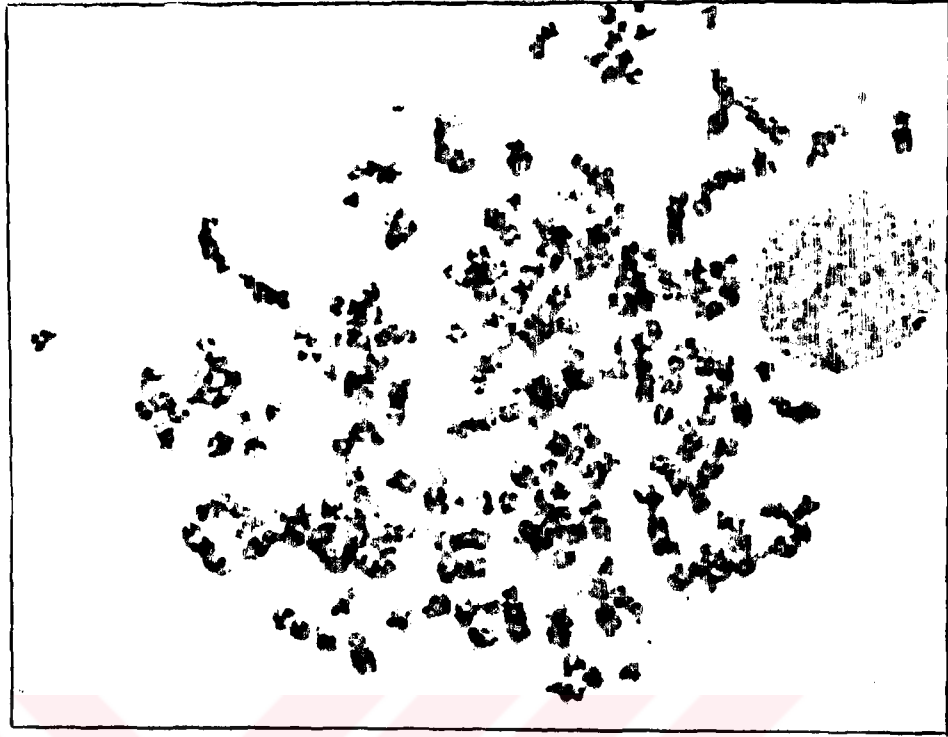
Sekil 12. A,B-Izokromatid kırık, C-kromatid kırık, D-DDD kromozom assosiasyonu.



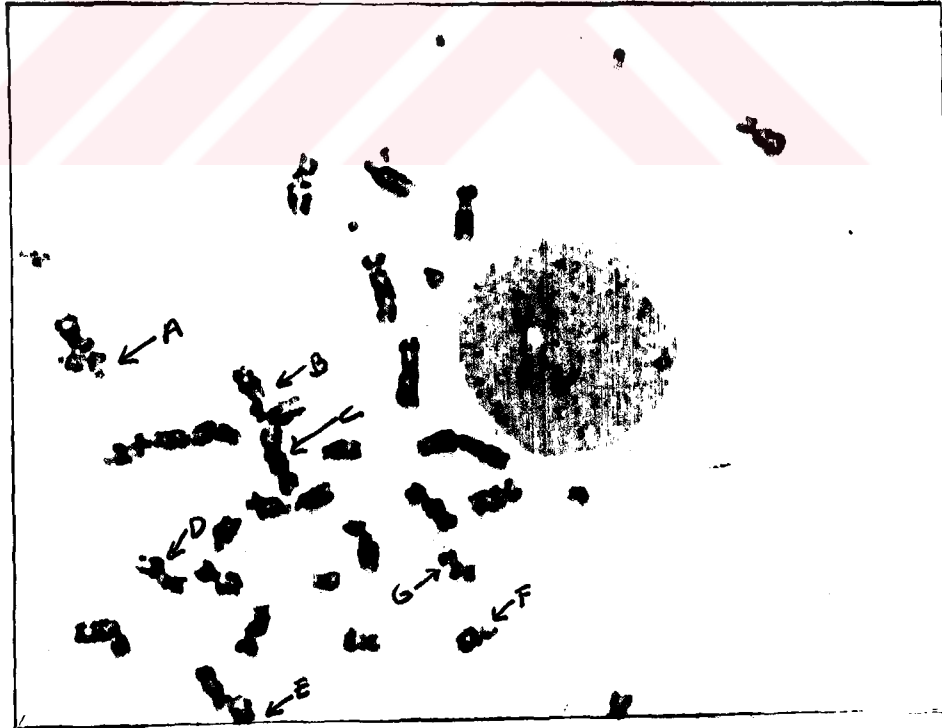
Sekil 13. A-İzokromatid kırık, B-Disentrik kromozom, C-kromatid kırık, D-DD kromozom assosiasyonu



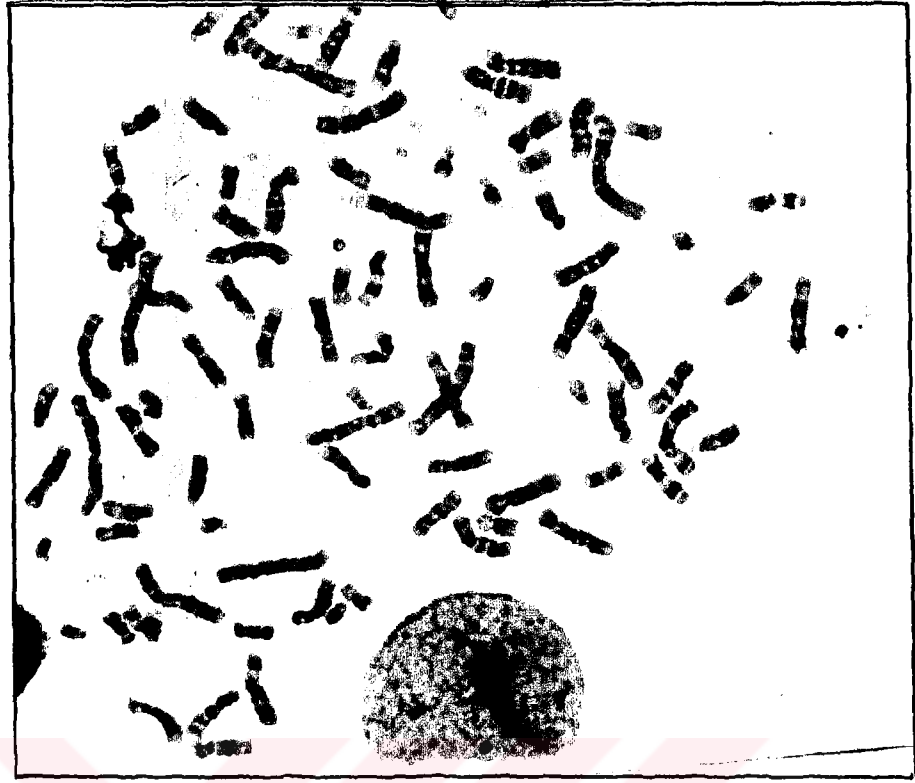
Sekil 14. Multipl aberasyonlu bir metafaz.



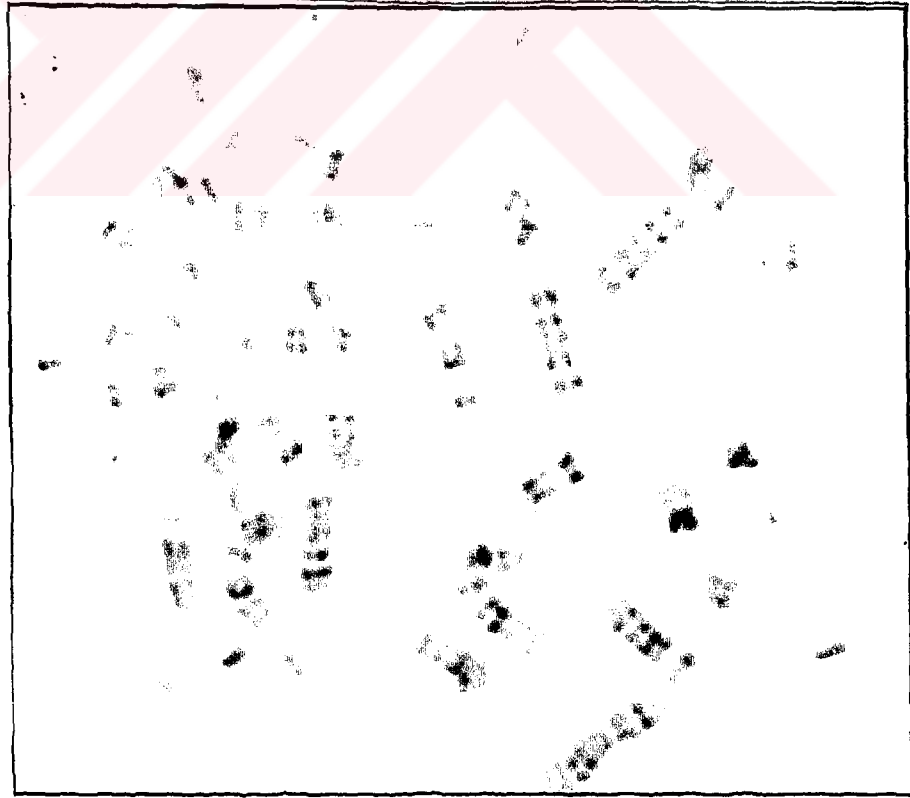
Sekil 15. Multipl aberasyonlu tetraploid hücre.



Sekil 16. A,B,G,F-Kromatid kırık,E-izomatid kırık,C-Disentrik kromozom.



Şekil 17. Tetraploid bir hücre (endomitoz).



Şekil 18. Endoreduplikasyon geçirmiş bir hücrenin metafaz plağı.

## 5.TARTIŞMA

3 doz, 3 süre kombinasyonu ile 5 bireyde ve kontrollü olarak yapılan çalışmamızda bulgular kendi içinde ve mevcut literatür bilgileri ışığında tartışılmıştır.

### 5.1. Sayısal Düzensizlikler.

679'u kontrol grubunda olmak üzere incelenen toplam 2639 metafazda 18 adet tetraploid ( $4n=92$ ) tipi sayısal düzensizlik içeren hücre belirlenmiştir. Bunlardan 5 tanesi kontrol grubundan 13 tanesi de deney gruplarında belirlenip yapılan istatistiksel değerlendirmede kontrol grubu ile deney grupları arasında bir fark olmadığı anlaşılmıştır. Ancak doz dışlandığında 24 saat ve 48 saat deney grupları arasındaki farkın anlamlı olduğu anlaşılmıştır ( $P<0.05$ ). Çalışma gruplarının tetraploidi yüzde değerleri şöyle bulunmuştur. Kontrol grubu %0074; 0.3µg/ml lik deney grubu %0072; 3µg/ml lik deney grubu %0033 ve 30µg/ml lik deney grubu da %0033 olarak bulunmuştur (Çizelge 16).

Erkan'ın (11) 1989 da yaptığı bleomycinin in-vitro olarak insan kromozomlarına etkisi çalışmasında kontrol grubunda (sigara içmeyen bireyler) %1.84; 0.3µg/ml lik bleomycin doz grubunda %3.13; 3µg/ml lik deney grubu %2.37 ve 30µg/ml lik deney grubunda da %1.15 oranında tetraploid hücre tespit etmiştir.

Das ve Sharman (9) 1987 de X-radyasyon ile lenfositlerde kromozomal aberasyonlara etkisi üzerine yaptıkları çalışmada anafaz esnasında serbest halde oluşan disentrikler kolay bir şekilde sonraki bölünmelere geçebilir. Ancak, bu disentrikler birbirlerine bağlı kalsalar ya hücre ölümünden elimine olurlar ya da anafaz ayrılması ve sitokinez olmamasından dolayı poliploid şekle dönüşürler.

Poliploid hücre oluşumu üzerine bizim ve Erkan'ın (11) değerleri arasında fark bulunmaktadır. Erkan'ın poliploidi değerleri daha yüksek bulunmuştur. Das (9) radyasyonun poliploidi oluşumu üzerine etkili olabileceğini belirtmekte ancak istatistiki bir değer vermediği için bulgularımızı karşılaştırma olanağımız olmadı.



## 5.2. Yapısal Düzensizlikler.

### 5.2.1. Kontrol Grubu.

6, 24, ve 48 saatlik uygulama süresine ait incelenen toplam 679 metafazdan 66 tane yapısal düzensizlik kaydedilmiştir. Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı %9.72, toplam düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı ise %10.46 olarak bulunmuştur. Düzensizlik içeren 64 hücrenin metafaz sayısına oranı ise %9.43 tür. Kromatid gap sıklığı %1.77, izokromatid gap %0.074, kromatid kırık %6.33, izokromatid kırık %0.44, delesyon %0.44 oranında tespit edilmiştir (Çizelge 34).

Erkan'ın (11) 1989 da yaptığı çalışmada kontrol grubunda (sigara içmeyen ve radyasyona maruz kalmamış) toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı %5.02, düzensizlik içeren hücrelerin incelenen metafaz sayısına oranı ise %5.64 olarak bulunmuştur. Kromatid gap %1.94, izokromatid gap %0.71, kromatid kırık %0.82, izokromatid kırık %1.43 ve fragmentleri de %0.10 sıklığında tespit etmiştir.

Shubber ve Shaikhly'in (41) 1989 da radyoloji çalışanlarında yaptıkları çalışmada %10.18 lik disentrik ve ring kromozomlarında dahil olduğu kromozomal aberasyonlar saptanmıştır. Kontrol grubunda (radyasyona maruz kalmıyan) bu oran %1.17 dir ( $P < 0.01$ ).

Wijayalaxmi ve Burkart'ın (46) 1989 da bleomycine adapte olmuş lenfositlere (0.01 µg/ml ve 0.05 µg/ml dozlarında) verilen 1.5 µg/ml lik bleomycin ile ortalama %30 oranında kromatid ve izokromatid aberasyon tespit etmiştir. Adapte olmamışlarda aynı dozda %82 oranında kromatid ve izokromatid kırık tespit etmişlerdir.

1,5 Gy seviyesinde verilen X-ray ile birinci bölünmede %67, 2. bölünmede %31 ve 3. bölünmede %1.5 oranında yapısal anomali tespit etmiştir. 0.01 µg/ml lik dozda bleomycinin kontrol grubu seviyesinde kromatid ve izokromatid kırıklara neden olduğu belirtilmiştir (46).

Shubber ve Shaikhly'in (41) 1989 da radyoloji çalışanlarında yaptıkları çalışmada bu bireylerin SCE sıklığı ( $11.2 \pm 0.9$  SCE) kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ( $6.9 \pm 0.2$  SCE) anlamlı bir yükselme olduğu görülmüştür.

Vorechovsky, Munzarava ve Lokaj'ın (47) normal ve immundefektli bireylerde yaptıkları çalışmada total aberasyonlar içinde kromozomal tip

abersasyonların oranını kontrollerde %2.8 ve immundefekli bireylerde %5 olarak saptamışlardır.

Hittelman ve Sen'in (18) 1988 de Ataxia Tellangiectasia (AT) hastalarında bleomycin ve radyasyonun kromozomal harabiyetin onarımını tespit etmek için yaptıkları çalışmada X-radyasyondan sonra AT hücrelerinde onarıma rağmen kromozom kırıkları başlangıçtaki 5-6 katı fazladır. Bleomycin AT hücrelerinde radyasyondan daha fazla aberasyon sıklığına neden olmaktadır.

Stenstrandin (44) 1985 te sigara içen ve sigara içmeyenlerde iyonize radyasyonun kromozomal aberasyonlara etkisi üzerine yaptığı çalışmada, disentrikler sigara içenlerin lenfositlerinde 3 kat daha fazla artış göstermiştir. Sigara ve iyonize radyasyon mikronüklei oluşumunda etkilidir. Radyasyona tabi tutulan ve tutulmayanlar arasındaki fark 3.6 normal bireylerde ise 1.2 olarak bulunmuştur. Sigara içenlerde disentriklerin oranı 0.003548 (33/9300) olarak bulunmuştur.

Kromatid değişimleri sigara içenlerde içmeyenlerden 3 kat daha fazla bulunmuştur (44).

Lloyd ve arkadaşlarının(26) 1988 de düşük dozda X-radyasyonun kromozom aberasyonları sıklığına etkisi üzerine yaptıkları çalışmada cevap platosunun 50 mGy üzerinde, anlamlı bir kontrol seviyesininde 4 mGy altında olduğunu gözlemiştir. Belirli bir eşik mevcut değildir. 0-300 mGy üzerinde respons lineer bir eşiğe uygundur. En düşük doz 4 mGy kullanıldığında oluşan aberasyonlar belirgin bir şekilde kontrol grubunun altında idi.

Disentrik ve ringler için 3, 6 ve 10 mGy noktaları sıfır dozun altında bir redüksiyon göstermektedirler. 20 mGy ve üzerindeki dozlarda ürünlerde anlamlı bir aberasyon yükselmesi göstermektedir (26).

Das ve Sharma (9) 1987 de X-radyasyonun lenfositlerde kromozomal aberasyonlara etkisi üzerine yaptıkları çalışmada 4 Gy uygulamasıyla birinci döngüde hücrelerin %94'ü anormalken, ikinci döngüde %73 olarak saptandı. Üçüncü döngüde disentrik, ring ve aberasyonlu hücre sayısında önemli bir azalma saptandı. Birinci mitozdan ikinciye disentriklerin %50'si ve ringlerin sadece %12 sinin geçtiğini saptamıştır.

Brown ve arkadaşlarının (4) 1985 te iki kanserli bireylerde yaptıkları kromozom aberasyonu ve Sister Chromatid Exchangersi üzerine yaptıkları araştırmada yüksek SCE şüpheli hastalardan tedavi öncesi kan örneğinin alınması ve bu hastaların lenfositlerinin ılımlı kanserojenlere in vitro olarak

maruz bırakıp yüksek duyarlıkta bir cevap oluşturup oluşturmadığına bakılmasının yararlı olacağı belirtilmektedir.

İki kanserli bazı hastalarda farklı hücrelerde farklı kromozom bölgelerinde kırılmaların ortaya çıktığı saptanmıştır (4). Gelişmiş olan kanser türleri dokularda belirli onkogenlerin aktive edilmesine bağlıdır. Yüksek SCE frekanslı durumlar kanser şüphesi göstermektedir.

Li ve Lin'in (24) 1990 da fragil-x hastaları ve normal bireylerin lenfosit kültürlerinde bleomycine duyarlılıkları ile ilgili yaptıkları çalışmada fragil-x hastalarının kromatid kırıklarına normal bireylerden anlamlı bir seviyede yüksek olduğunu göstermiştir. Fragil-x hastaları belkide kansere yakalanma eğilimindedir veya buna potansiyel oluşturabilirler (24).

Normal bireylerde aynı uygulama dozunda bleomycin'in Rpm 1- 1640 ve M-Medium kullanılarak hazırlanan farklı besiyerlerinde anlamlı seviyede farklı sonuç çıkmıştır (24).

Hsu ve arkadaşları (20) 1989 da yaptıkları bir çalışmada kanserli bireylerin radiomimetik bir drug olan bleomycine normal populasyondan daha duyarlı olduklarını belirtmektedir. Bazı bireylerin de normal populasyondan daha fazla duyarlı olmaları bunların da gelecekte muhtemelen kansere yakalanma riskini taşıdıklarını belirtmektedir.

Kuwabara ve arkadaşlarının (23) 1986 da yayınladıkları bir çalışmada iyonize radyasyonun lenfosit kromozomlarında düzensizliklere neden olduğunu, sister chromatid exchange lerde artışa neden olduğunu, ring ve disentrik kromozom sıklığında bir artışa neden olmadığını belirtmişlerdir.

Diagnostik seviyede verilen mikro dalganın kromozom yapısı ve sayısı, sister chromatid exchange, ring ve disentrik kromozom sıklığında anlamlı bir artışın olmadığı belirtilmiştir (23).

Guedeney, Malarbet ve Doloy (16) 1989 da yayınladıkları çalışmada yüksek dozda verilen radyasyonun düşük dozda (aynı miktarda) verilenden daha fazla disentrik kromozom oluşumunu arttırdığını belirtmişlerdir. Doz arttıkça disentrik sıklığında artma gözlenmektedir. Radyasyonun kesilmesinden sonra yavaş yavaş disentrik sıklığında azalma meydana gelmektedir.

Kontrol grubu olarak yaptığımız değerlendirilmede verilerimizin diğer araştırmacılarla uyum içinde olduğu söylenebilir. Özellikle Shubber ve Shaikhly'nin (41) radyoloji çalışanlarında elde ettiği veriler bizim verilerle uyum içinde olmuştur.

## 5.2.2. Deney Grupları.

### a- 0.3µg/ml lik Deney Grubu.

0.3µg/ml ilaç dozunda 6, 24 ve 48 saatli 3 ayrı uygulama süresinde toplam 696 metafaz incelenmiş bunlardan 188 tanesinde kromozom düzensizliğine rastlanmıştır. Toplam yapısal düzensizliklerinin incelenen metafaz sayısına oranı %44.83 olarak tespit edilmiştir. Yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı sırası ile kromatid gap %4.89, izokromatid gap %2.16, kromatid kırık %31.32, izokromatid kırık %3.30, delesyon %2.16, fragment %0.43 ve diğer yapısal düzensizliklerde %0.57 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 35).

Erkan'ın (11) 1989 da 0.3µg/ml lik bleomycin çalışmasında toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı %29.55 olarak bulunmuştur. Yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı kromatid gap %4.65, izokromatid gap %1.82, kromatid kırık %8.40, izokromatid kırık %8.90, eksilme %1.41 oranında bulunmuştur.

Wegner ve arkadaşlarının (48) 1988 de yaptıkları çalışmada 1 µg/ml lik bleomycin dozunun AT'li hastalarda 0.96, normal kontrollerde ise 0.14 oranında yapısal düzensizlik saptamıştır.

Vijayalaxmi ve Burkart'ın (46) 1989 daki çalışmalarında 0.10 µg/ml lik bleomycin dozunun lenfositlerde ortalama %80 oranında yapısal anomali saptanmıştır.

Bu çalışmadaki uygulanan doz-süre kombinasyonlarında elde edilen sonuçların bizim sonuçlarımızla tam uygun içinde olmadığı ancak potansiyel olarak farklı deneklerin kullanılması nedeniyle sonuçlarında farklı olabileceği kanısına varılmıştır.

### b- 3µg/ml lik Deney Grubu.

3µg/ml lik deney grubunda uygulanan 6, 24 ve 48 saatlik sürelerde toplam 650 metafaz kaydedilmiş, bunlardan 431 tanesinde yapısal kromozom düzensizliğine rastlanmıştır. Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı %180,77, düzensizlik içeren hücrelerin incelenen metafaz sayısına oranı ise %62.92 olarak bulunmuştur. Toplam

yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı kromatid gap için %8.77, izokromatid gap %22.31, kromatid kırık %11, izokromatid kırık %27.38, delesyon %4.77, fragment %0.62 ve diğer yapısal düzensizlikler %6.15 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 36).

Erkan'ın (11) 1989 da yaptığı 3µg/ml lik bleomycin çalışmasında toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı %66.77, düzensizlik içeren hücrelerin incelenen metafaz sayısına oranı ise %36.67 olarak bulunmuştur. Yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı gap için %10.24, izokromatid gap %4.53, kromatid kırık %18.12, izokromatid kırık %24.05, eksilme %3.12, fragment %5.17 ve diğer düzensizlikler için %1.51 olarak tespit etmiştir.

Wegner ve arkadaşlarının (48) 1988 de yaptıkları çalışmada 10µg/ml lik bleomycin dozunun normal bireylerde 1.08, AT'li hastalarda ise 2.26 oranında yapısal düzensizlik saptamıştır.

Vijayalaxmi ve Burkart'ın (46) 1989 daki çalışmalarında 1.5µg/ml lik bleomycin dozunun lenfositlerde %82 oranında kromatid ve izokromatid kırık olduğunu tespit etmiştir.

Hittelman ve Sen'in (18) 1988 de normal insan hücrelerinde 2 µg/ml lik bleomycin'in 30 dakika etkileşimi ile hücre başına 2-4 kırık meydana geldiği belirtilmiştir.

Li ve Lin'in (24) 1990 da normal bireylere uyguladıkları 10µg/ml lik bleomycin dozunda hücre başına 0.2 kromatid kırık tespit etmişlerdir.

Diğer araştırmacılarla farklı doz-süre kombinasyonlarında çalıştığımız için veriler tam bir uyum içinde değildir.

Ancak tüm çalışmalarda bleomycin dozunun artışı ile hücredeki yapısal anomalilerin sayısında artışa neden olduğu belirtilmektedir. Çalışmamız da bu görüşle uyum içindedir.

### **c- 30µg/ml lik Deney Grubu.**

30µg/ml lik bleomycin dozunda 6, 24 ve 48 saatlik 3 ayrı uygulama süresinde toplam 614 metafaz incelenmiş, bunlardan 421 tanesinde yapısal kromozom düzensizliğine rastlanmıştır. Bunların incelenen metafaz sayısına oranı %68.57 dir. Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı %205.05 tir. Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı kromatid gap %7.49, izokromatid gap %19.22, kromatid kırık %110.42, izokromatid kırık



%52.44, delesyon %6.51, fragment %081 ve diğ er yapısal düzensizlikler %8.14 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 37).

Erkan'ın (11) 1989 da uyguladığı 30µg/ml lik doz grubunda toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı %172.72, düzensizlik içeren hücrelerin incelenen metafaz sayısına oranı %66.06, toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı sırası ile kromatid gap %23.81, izokromatid gap %7.42, kromatid kırık %42,25, izokromatid kırık %67.73, eksilme %7.04, fragment %1.79 ve diğ er yapısal düzensizlikler için ise %6.53 olarak tespit etmiştir.

Sankaranarayanan ve arkadaşlarının (37) 1990 da yüksek dozda bleomycin ile yaptıkları çalışmada kromozom yapısı ve kromatid yapısında, disentrik, ring ve asentriklerin oluşmasında artmaya neden olduğu gözlenmiştir. 60µg/ml lik dozda disentrik ve ringlerin oranı %16.5, 120µg/ml lik dozda %20.5 ve 180µg/ml lik dozda %25.5 şeklinde artış göstermiştir. Preparasyondan 2 saat önce uygulanan bleomycinin 60µg/ml lik dozunda asentriklerin oranı %2.5, 120µg/ml lik dozda %5 ve 180µg/ml lik dozda %13 oranında artış göstermiştir.

Vorechovsky, Munzarova ve Lokaj'ın (47) 1989 da normal ve immundefektli bireylerde yaptıkları çalışmada preparasyondan 6 saat önce uygulanan 30µg/ml lik bleomycin dozunun kontrol bireylerde (normal sağlıklı) %37.5 ± 23.7 ve immundefektli bireylerde de %62.6 ± 21.3 oranında aberasyonlu hücre saptamışlardır (P<0.01). Aberasyonlar içinde kromatid kırıkların oranı kontrollerde %97, immundefektli bireylerde %94.1 olarak saptanmıştır (P<0.001). Hücre başına düşen kırıkların oranı ve dağılımı hücreler arasında pozitif bir ilişki olduğu belirtilmektedir (P<0.001).

Hittelman ve Sen'in (18) 1988 de normal insan hücrelerinde uyguladığı 50µg/ml lik bleomycin'in 30 dakika muamele edilmesiyle hücre başına 9 kırık 10µg/ml lik bleomycinle de hücre başına 8-10 kırık olduğu tespit edilmiştir.

Schantz ve arkadaşlarının (39) 1989 da baş ve boyun kanserli gençlerde bleomycinin lenfosit kromozomlarına etkisi üzerine yaptıkları çalışmada, hücreler 30µg/ml doz da 5 saat süreyle bleomycine maruz bırakıldı. Kontrol grubu ile hasta genç yetişkinler (40'ın altındaki populasyon) arasında anlamlı bir farklılık vardır (P<0.005). En yüksek kromozom duyarlılığı değerleri en genç kanserlilerde (30 yaşın altında) görüldüğü belirtilmektedir.

Li ve Lin'in (24) 1990 da fragil-x hastalarından alınan kan ve normal kan kültürüne 50µg/ml lik bleomycin dozunu 5 saat süreyle uyguladıktan

sonra fragil-x hastalarında duyarlılığın daha fazla olduğunu belirtmişlerdir. Normal kanda hücre başına bir kırık şeklinde aberasyon saptanmıştır.

30µg/ml lik bleomycin dozdan zamana göre kromatidlerdeki kırık sayısı artmaktadır. Bleomycin'in 3,5 saatlik uygulamasında 0.10 kırık, 5 saatlik uygulamada 0.4 kırık, 7 saatlik uygulama süresinde ise hücre başına 1 kırık saptanmıştır.

Antonelli ve arkadaşları (2) 1991 de yaptıkları çalışmada doku kültüründe plazmid kullanarak hücrelerin bleomycine duyarlılıklarını ölçmüşlerdir. 10µg/ml lik bleomycin doz grubu ve 30µg/ml lik doz grubunda bir saatlik uygulamadan sonra doza bağlı olarak hücrede yapısal kromozom aberasyonlarının arttığını belirtmiştir.

Chatterge, Raman ve Mohapatra (7) 1989 da yayınlanan bleomycin'in kromozomal aberasyonlara etkisi üzerine yaptıkları çalışmada 40µg/ml lik bleomycin dozunun 2,5 saat sonra yapılan preparasyonda hücrelerin %25'in de aberasyon saptanmıştır. 84 hücrede 31 terminal delesyon saptamışlar, 17 kromatid kırık, 2 tane interstisial delesyon saptamışlardır. Aberasyonlu metafaz sayısı anlamlı seviyede yüksektir. Fakat bütün deneklerde aynı seviyede değildir.

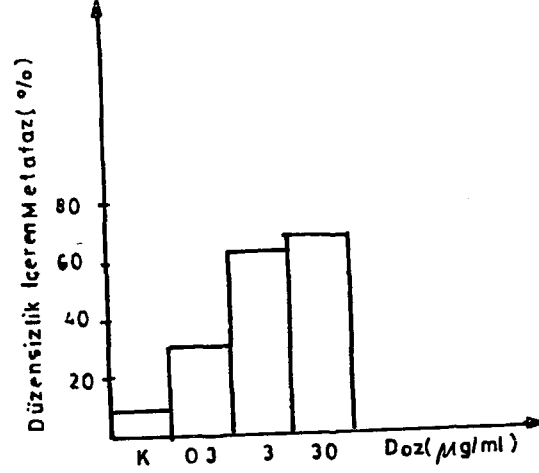
Yüksek dozda bleomycin'in hücrede yapısal anomali sayısını artırdığı çalışmamızla birlikte diğer araştırmacıların (2,7,11,18, 24,37,47) çalışmalarındaki verilerle de desteklenmiştir.

Deneylerimizde, kullandığımız bir anti-tümör antibiyotik olan bleomycin, insan lenfosit kromozomları üzerinde doz artışına paralel olarak artan düzensizliklere neden olmuştur. Bu durum elimizdeki literatürlerle de desteklenmektedir.

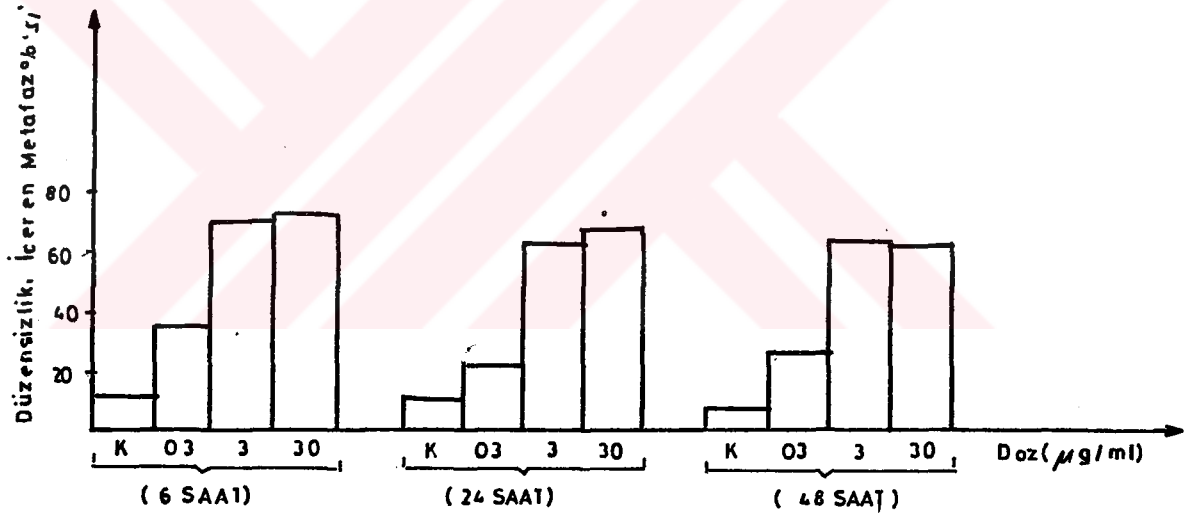
Şekil 19 da gözleneceği üzere deneylerimizdeki biri diğerinin 10 katı olan 0.3, 3 ve 30 µg/ml lik doz uygulamaları kontrollerine göre oldukça farklı değerlere ulaşmış olup, dozun artışına bağlı olarak düzensizlik içeren metafaz sayısında da artışa neden olmuştur. Bu artışın 0.3µg/ml ile 3µg/ml arasında %21 düzeyinde gerçekleştiği gözlenirken 3µg/ml ile 30µg/ml arasındaki farkın ise %6 civarında olduğu gözlenmiştir. Bu durum belirli bir doz seviyesinden sonra düzensizlik oranının birbirine yakın seviyede kaldığını düşündürmektedir (Şekil 19).

Süre ihmal edilerek düzensizlik içeren total metafaz sayısı için yapılan değerlendirmede gözlenen bu durumun farklı 3 uygulama süresi dikkate alındığında da geçerliliğini koruduğu gözlenmektedir (Şekil 20).



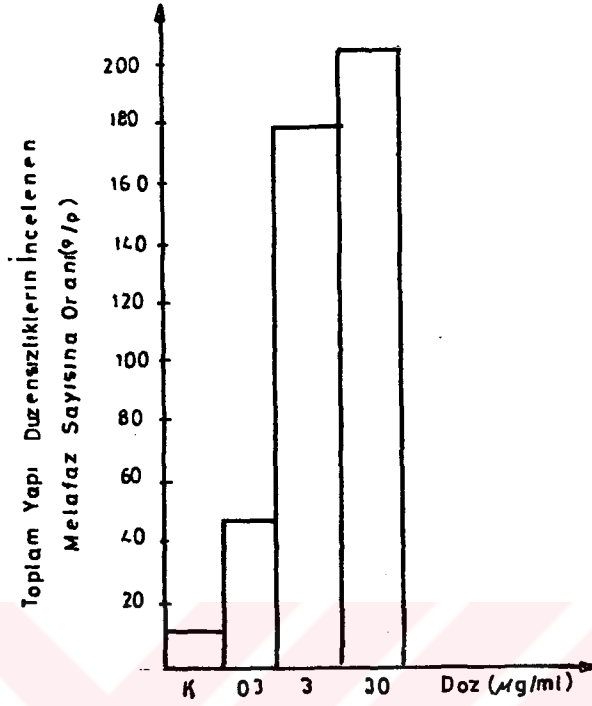


Şekil 19. Kontrol ve deney gruplarında düzensizlik içeren metafaz yüzdeleri.



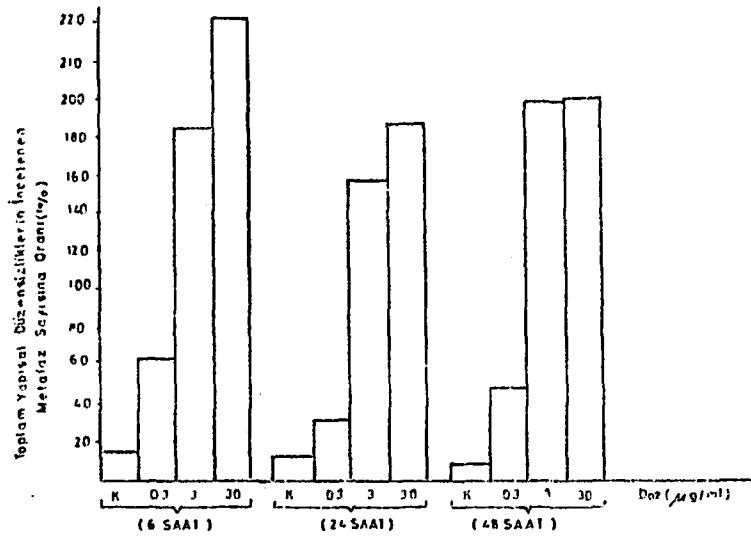
Şekil 20. Yalnız doz gözönüne alındığında düzensizlik içeren total metafaz yüzdeleri.

Toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı ile ilgili total değerler dikkate alınarak yapılan değerlendirmede (Şekil 21), değerlerin kontrollerinden oldukça farklı olduğu, deney gruplarında ise bu farkın 0.3µg/ml ile 3µg/ml arasında yaklaşık %136 düzeyinde gerçekleştiği gözlenirken, doz 10 kat artırılıp 30µg/ml ye çıkarıldığında oluşan marjinal fark %25 düzeyine ulaşmaktadır. Bu durum Şekil 19'da gözlenen doza bağlı marjinal farkın gittikçe arttığını doğrular niteliktedir.



Şekil 21. Doz artışının yapısal düzensizlik oluşumuna etkisi.

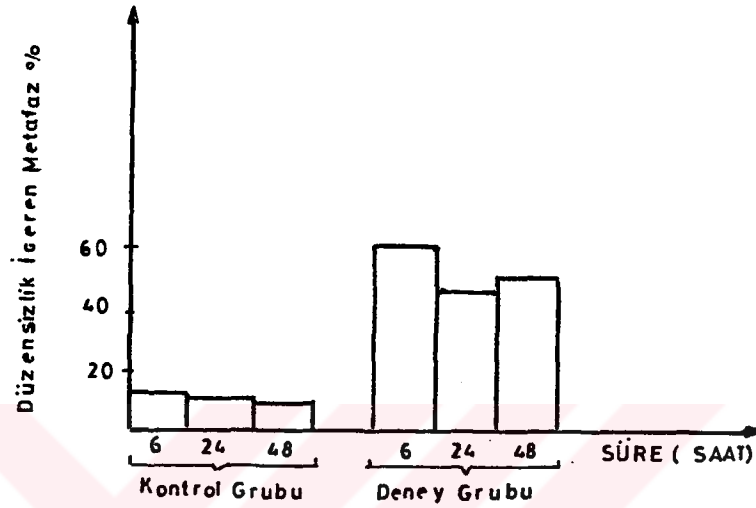
Süre ihmal edilerek toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı ile ilgili total değerler dikkate alınarak yapılan değerlendirmede gözlenen durumun, farklı 3 uygulama süresi dikkate alındığında da geçerliliğini koruduğu gözlenmektedir (Şekil22).



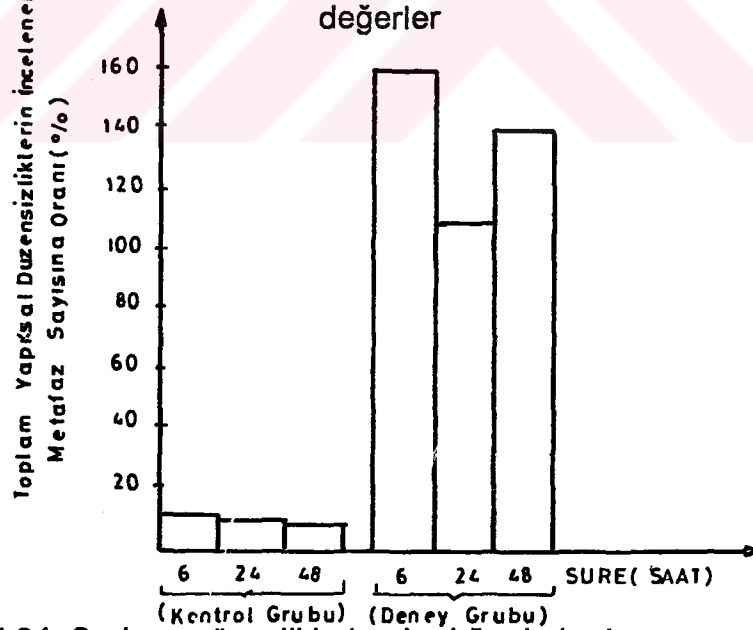
Şekil 22. Aynı sürede doz artışının yapısal düzensizliklere etkisi.

Şekil 23 da görüleceği üzere deneylerimizdeki biri diğerinin 10 katı olan dozlar ihmal edilerek sadece uygulama süreleri dikkate alındığında

düzensizlik içeren metafaz yüzdesi total değerler bakımından, her 3 uygulama süresinde de kontrollerinden farklı olduğu, deney gruplarında ise bu farkın 6 saatlik grupta 24 ve 48 saatten belirgin bir şekilde fazla olduğu 24 ve 48 saatlik uygulama sürelerindeki düzensizlik oranının ise daha düşük düzeyde olduğu gözlenmiştir (Şekil 24).



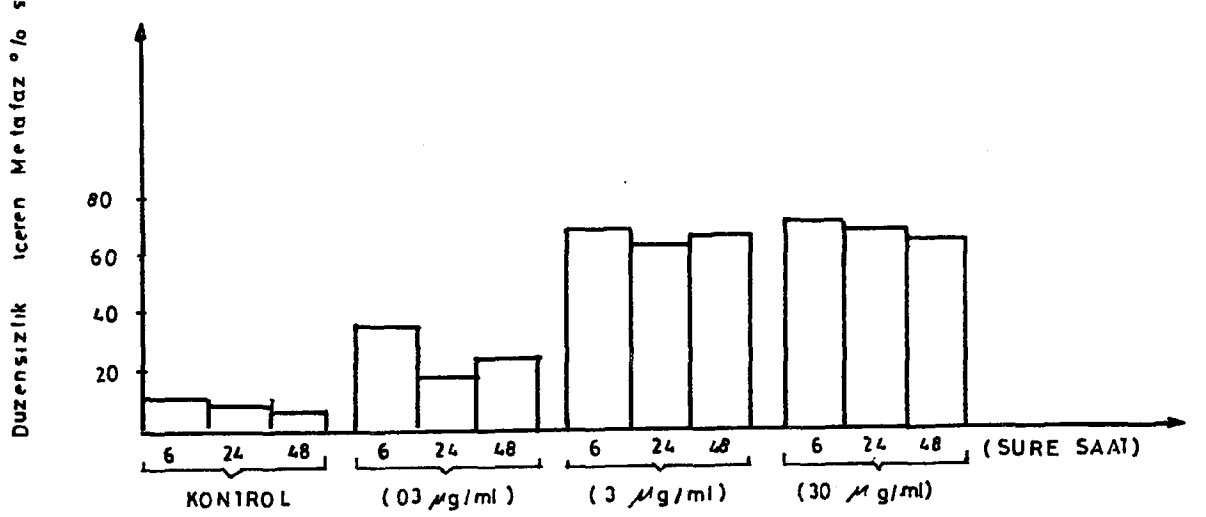
Şekil 23. Sadece süre dikkate alındığında kontrol ve deney gruplarında düzensizlik içeren metafaz yüzdeleri ile ilgili total değerler



Şekil 24. Sadece süre dikkate alındığında toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı ile ilgili total değerler.

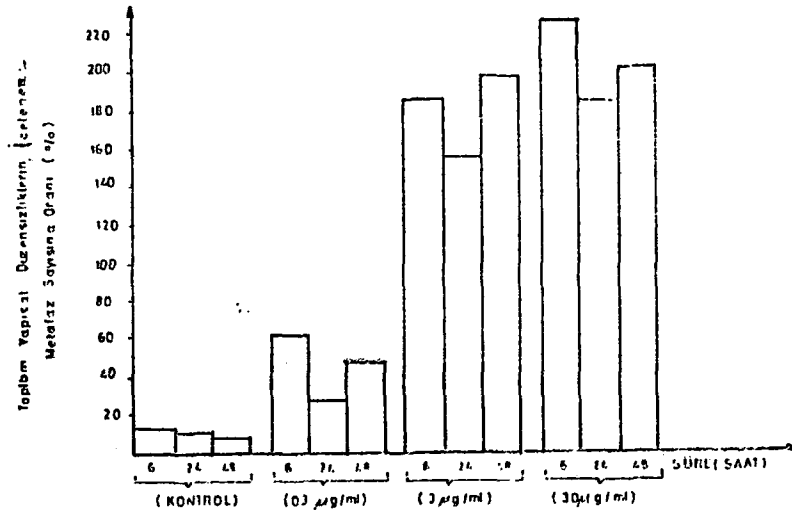
Her üç dozun değişik uygulama sürelerindeki etkileri incelendiğinde; 6 saatlik uygulama süresinde toplam yapısal düzensizlik oranı 0.3µg/ml ve

30µg/ml lik dozlarda yüksek, 3µg/ml lik doz grubunda ise 48 saatlik uygulama süresinde toplam yapısal düzensizlik oranı diğer süre gruplarında yüksek olarak tespit edilmiştir.



Şekil 25. Değişik uygulama sürelerinde düzensizlik içeren metafaz yüzdeleri.

Tüm doz gruplarında 6 saatlik uygulama süresindeki düzensizlik oranının 24 saatlik uygulama süresindekinden yüksek olması uzun süre bleomycin etkisinde kalan hücrelerin düzensizlik nedeniyle ikinci mitozaya giremeyip devre dışı kalabileceklerine bağlanabilir. Bu durumun hem düzensizlik içeren metafaz yüzdesi ile yapılan değerlendirmede (Şekil 25) hemde toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı dikkate alınarak yapılan değerlendirmede (Şekil 26) geçerli olduğu gözlenmektedir. Ayrıca her üç uygulama dozunun da kontrollerinden önemli düzeyde farklı olduğu tespit edilmiştir.



Şekil 26 Değişik uygulama sürelerinde toplam yapısal düzensizliklerin incelenen metafaz sayısının oranı.

### 5.3.Kromozom Gruplarına Göre Yapısal Kromozom Düzensizlikleri

Her bir kromozomda gözlenen düzensizlik değeri Denver-Londra klasifikasyon sisteminde kromozomların relatif uzunluklarına göre dağılımlarında, büyük kromozomların küçük kromozomlara göre daha fazla etkilendiği gözlenmiştir. Düzensizlikler çoğunlukla kırıklar, gapler, delesyon şeklinde saptanmıştır. Nadir de olsa disentrik kromozomlara, quadriradyal ve triradyal kromozomlara rastlanmıştır. Bleomycin DNA zincirinin bölünmesinden sorumlu serbest radikaller oluşturur. Uzun kromozomlarda daha uzun DNA zinciri bulunduğundan doğal olarak bu kromozomlarda oluşan kırık sayısı da fazla olacaktır.

Çalışmamızda 66 sı kontrol grubunda, 2640'ı deney gruplarında olmak üzere toplam 2706 tane kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık ve delesyon tipi düzensizlik kaydedilmiştir. X kromozomu C grubu kromozomları, Y kromozomu da G grubu kromozomları içinde kabul edilerek değerlendirilmiştir. Kontrol ve deney gruplarında belirlenen kromatid ve izokromatid kırık ve gap ayrıca delesyon tipi kromozom düzensizliklerinin, kromozom gruplarına ve kromozomlardaki konumlarına göre dağılımları Çizelge 13 ve 14 te gösterilmiştir.

İki çizelge genel olarak değerlendirildiğinde, kontrol gruplarına göre deney gruplarında düzensizliklerin çeşit ve miktarlarında belirgin bir artış göze çarpmaktadır.

Düzensizliklerin kromozom gruplarına göre dağılımlarına bakıldığında; kontrol grubunda en çok C grubu kromozomlarda, sonra A, B, D ve E grubu kromozomlarda düzensizlik saptanmıştır. Buna karşılık, deney gruplarında en fazla A grubu kromozomlarda sonra sırasıyla C, B, D, E, F ve G grubu kromozomlarda yapısal düzensizlik saptanmıştır. Kontrol ve deney gruplarında en fazla kromatid kırık şeklinde yapısal düzensizlik saptanmıştır.

Ayrıca düzensizliklerin kromozomlardaki konumu açısından kontrol gruplarında %94 oranında kromozomun q kolunda, %6 oranında p kolunda yer almıştır. Deney gruplarında da %18 oranında p kolunda %82 oranında kromozomun q kolunda yapısal düzensizlik saptanmıştır (Çizelge 13,14).

Erkan'ın (11) 1989 da yaptığı çalışmada kromozomal düzensizliklerin gruplara göre dağılımlarını kontrol grubunda A, C-X, B, D, F ve G-Y; deney gruplarında da bu sıra C-X, A, B, D, E, F ve G-Y şeklinde saptamıştır.

Kontrol grubunda %89.58 oranında kromozomun uzun kolunda (q kolu), %10.41 oranında kısa kolda (p kolu) yer alırken deney gruplarında ise

%81.21 oranında q kolunda, %18.78 oranında kısa kolda düzensizlik olduğunu saptamıştır.

Vorechovsky, Munzarova ve Lokaj'ın (47) 1989 daki çalışmalarında aberasyonların kontrol ve immundefekli bireylerdeki kromozom grupları üzerinde anlamlı bir farklılık saptanmamıştır. D grubu kromozomların kırılmasında azalma saptanmıştır. 2q kolunda relatif kırılma saptanmış %8.6 ve 7.5 ve Bq %11.1 ve 8.8 oranında kırılma saptanmıştır. Kontrol ve hastalar arasındaki fark anlamlı bulunmamıştır. Kromozomun kısa kolundaki (p) kırıkların oranı ortalama %23 civarında saptanmıştır.

Giaccia ve arkadaşları (12) 1990 da hibrid hücre kullanarak yaptıkları çalışmada 5,6,11,19,21 ve X kromozomlarının gamma radyasyona ve bleomycine daha dirençli olduklarını belirtmişlerdir. 5 nolu korozom gamma radyasyonun ve bleomycinin meydana getirdiği hasarı onarmaktadır.

Chatterjee, Raman ve Mohapatra (7) 1989 da bleomycinin kromozomal aberasyonlara etkisi üzerine yaptıkları çalışmada hücrenin G1 fazındaki uygulamada disentrik ve ring sayısı  $G_0$  dan daha yüksek olarak bulunmuştur. Bu da muhtemelen G1 deki yenilenme seviyesinin mekanizmasının  $G_0$  ile ilişkili olmasındandır.

Bizim çalışmamız ile diğer araştırmacıların verileri aynı değerlerde olmasa bile birbirlerine yakın ifadeler taşımaktadır.

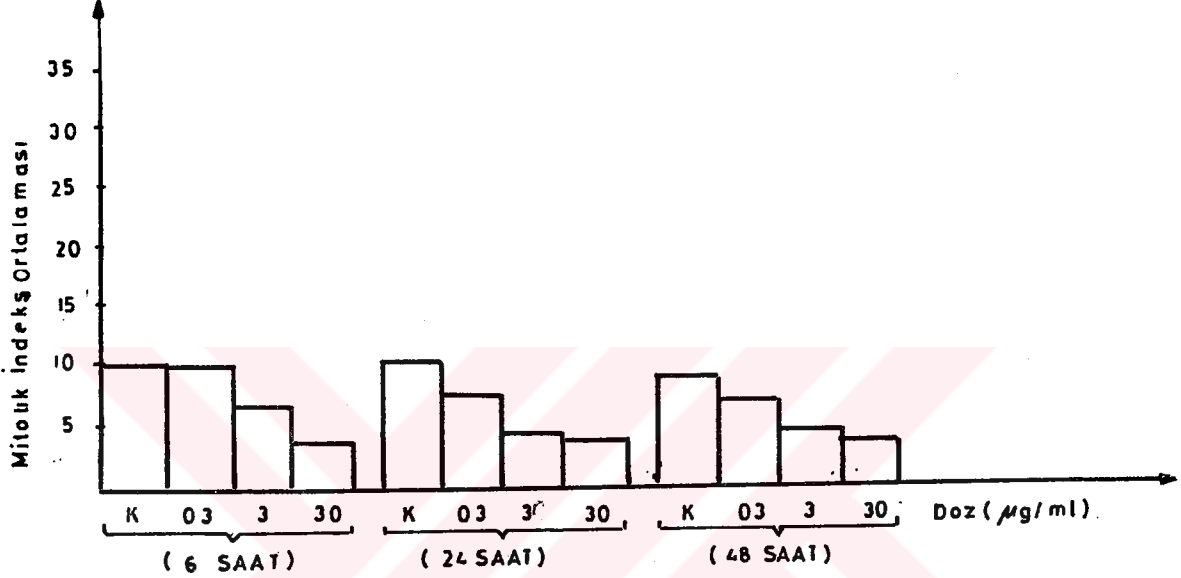
#### **5.4. Mitotik İndeks.**

Çalışmamızda bleomycinin kromozomlarda yapısal düzensizliklerde yol açması yanında, hücrenin mitotik aktivitesinde de bir yavaşlamaya neden olduğu belirlenmiştir. 6, 24 ve 48 saatlik sürelerde, kontrol grupları ile deney gruplarının mitotik indeks değerleri karşılaştırıldığında; kontrol gruplarının ortalama 10.86 olan mitotik indeks değerlerinin 0.3µg/ml lik deney grubunda 8.73'e, 3µg/ml lik deney grubunda 5.0'a ve 30µg/ml lik deney grubunda da 3.93'e düştüğü görülmektedir (Çizelge 19). Buradan doz artışına paralel olarak mitotik indeksin düştüğü sonucuna varılabilir. Bizim verilerimizde 3µg/ml lik deney grubu ile 30µg/ml lik deney grubunun mitotik indeks değerleri birbirine yakın olarak tespit edildi.

Erkan'ın (11) 1989 da yaptığı çalışmada ortalama mitotik indeks değerini kontrol grubunda (sigara içmeyen, radyasyona maruz kalmamış bireylerde) 29.86, 0.3µg/ml lik deney grubunda 26.20, 3µg/ml lik deney grubunda 18.66 ve 30µg/ml lik deney grubunda ise 14.26 olarak bulmuştur.

Shubber ve Shaikhly (41) 1989 da radyoloji çalışanlarında mitotik indeksi ortalama ( $2.23 \pm 0.21$ ) sı kontrol grubundan ( $5.20 \pm 0.21$ ) anlamlı seviyede düşüktü ( $P < 0.01$ ).

Çalışmamızdaki verilerle diğer araştırmacıların verilerin arasında bir yakınlık yoktur. Ancak radyasyona maruz kalan bireylerin normal populasyondan daha düşük mitotik indeks değerine sahip olduğu diğer araştırmacıların verileriyle de desteklenmektedir(11,41).



Şekil 27. Aynı sürede doz artışında mitotik indeks değerleri.

### 5.5. Satellit Assosiasyonları.

Satellit assosiasyonları bir kromozom düzensizliği olarak kabul edilmemekle beraber, bunların aneuploidy tipi kromozom düzensizliklerine neden olduğu konusunda görüşler ileri sürülmektedir (40).

Rastlanan satellit assosiasyonlarının büyük bir çoğunluğu DD, DG, GG biçiminde ikili veya D ve G grubu kromozomlarının değişik kombinasyonlarından oluşan üçlü, dördü, altılı assosiasyonlara da rastlanmıştır. Kontrol grubunda sayılan metafazlarda %31.66 oranında satellit assosiasyonu tespit edilirken, 0.3µg/ml lik deney grubunda %30.89, 3µg/ml lik deney grubunda %27.23 ve 30µg/ml lik deney grubunda da %19.70 oranında assosiasyon olduğu gözlenmiştir. 6 saatlik süre uygulamasında kontrol grubu ile doz grupları arasında bir fark görülmezken ( $P > 0.05$ ), 24 saatlik süre uygulamasında kontrol grubu ile 30µg/ml lik deney grubu arasındaki farkın anlamlı olduğu ( $P < 0.05$ ), 48 saatlik süre uygulamasında da kontrol grubu ile 3µg/ml ve 30µg/ml lik doz grupları arasında istatistiksel olarak farkın anlamlı olduğu ( $P < 0.01$ ) tespit edilmiştir.



Erkan'ın (11) 1989 da yaptığı çalışma düşük dozdaki bleomycin uygulanmasının satelit assosiasyonunu teşvik ettiğini, yüksek dozdaki bleomycininde satelit assosiasyonunu düşürdüğünü belirtmiştir.

Çalışmamızdaki verilerle Erkan'ın (11) verileri doz artışına bağlı olarak assosiasyon sayısında azalma olduğu yönünde aynı araştırmacı ile uyum içindedir.



## 6. SONUÇ

3 farklı doz, 3 farklı süre ve bunların kontrollerinden oluşan çalışmamızda elde ettiğimiz bulguların değerlendirme sonuçları aşağıya çıkarılmıştır.

1. Belirli seviyede radyasyona maruz kalan bireylerde kromozomal düzensizlik insidansı normal toplumdaki daha yüksektir.

2. Düzensizlik içeren metafaz oluşumunu bleomycin dozunun artırılması, süre sabit tutularak dozun artırılması artırırken, bleomycin dozunun artırılmasına paralel olarak sürenin artırılması ve doz sabit tutularak sürenin artırılması etkilememektedir. Li ve Lin'in (24) 1990'daki çalışmalarında zamana bağlı olarak düzensizlik artışı ifade edilmektedir.

3. Kromozomlarda yapısal düzensizlik oluşumunu bleomycin dozunun artırılması, süre sabit tutularak dozun artırılması artırırken, aynı dozda 24 ve 48 saatlik deney grubunda yapısal düzensizlik oranı 6 saatlik deney grubundan daha düşük olmuştur. Ancak bu fark istatistiksel açıdan anlamlı bulunmamıştır.

Aynı sürede farklı dozlarda oluşan yapısal kromozom düzensizlikleri açısından bakıldığında 6, 24 ve 48 saat için kontrol grubu ile 0.3µg/ml lik doz grubu ve 30µg/ml lik doz grubu ile 3µg/ml lik doz grubu arasındaki farkın anlamlı olmadığı ( $P>0.05$ ), 3µg/ml lik doz grubu ile kontrol grubu, 3µg/ml-0.3µg/ml 30µg/ml-kontrol ve 30µg/ml-0.3µg/ml lik doz grupları arasındaki farkı anlamlı bulunmuştur.

Aynı dozda süre artışının yapısal kromozom düzensizliklerini artırması tüm uygulama sürelerindeki dozlar için gerçek önemli fark düzeyinin altında kalmaktadır.

Doz grupları arası fark gerçek önemli fark düzeyinde anlamlı bulunmuştur.

Süre gözönüne alınmadan doz grupları ortalamaları arası fark değeri ile karşılaştırıldığında 0.3µg/ml lik doz grubu ile kontrol grubu ve 30µg/ml lik doz grubu ile 3µg/ml lik doz grubu arasındaki fark anlamlı bulunmuştur.

Yapısal kromozom düzensizliği oluşması açısından deneklerin kısmen de olsa farklı ölçülerde etkilendikleri belirlenmiştir.

Yapısal kromozom düzensizliklerinin konumu ve kromozom gruplarına göre dağılımı açısından inceleme yapıldığında; kontrol gruplarına göre deney gruplarında düzensizliklerin çeşit ve miktarlarında belirgin bir artış olduğu gözlenmiştir. Düzensizlikler kromozom grupları dikkate alınarak

incelendiğinde; kontrol gruplarında en fazla C-X, A, B, D ve E grubunda kromozomal düzensizliklere rastlanmıştır. F grubu ve G-Y grubu kromozomlarda düzensizliğe rastlanmamıştır. Deneysel gruplarında ise A, C-X, B, D, E, F, G-Y şeklinde bir sıralama ile çoktan aza doğru düzensizlik içeren gruplar sıralanmıştır. Kontrol ve deneysel gruplarında kromozomların uzun kolları kısa kollarından daha çok düzensizlik içermişlerdir.

4. Doz artırılması poliploid hücre oluşumunu etkilemezken, uygulama sürelerine göre poliploid hücre oluşumu artmaktadır.

5. Mitotik indeks değerleri açısından yapılan değerlendirmede 6, 24 ve 48 saatlik uygulama süresinde kontrol grubu ile 0.3µg/ml lik uygulama grubu 3µg/ml lik doz grubu ile 30µg/ml lik doz grubu ve 48 saatlik uygulama süresinde 0.3µg/ml lik doz grubu ve 3µg/ml lik doz grubu arasında mitotik indeks olgusunun etkilenmediği belirlenmiştir. Diğer gruplar arasında mitotik indeks olgusu anlamlı seviyede farklı bulunmuştur. En yüksek mitotik indeks değeri kontrol grubunda 11.8, en düşük mitotik indeks değeri de 30µg/ml lik doz grubunda 3.60 olarak bulunmuştur.

6. Satelit assosiasyonları herhangi bir kromozomal düzensizlik olarak kabul edilmemekle beraber değerlendirilmiş ve düşük dozdaki bleomycinin satelit assosiasyonunu etkilemediği ancak yüksek dozdaki bleomycinin satelit assosiasyonları üzerinde oluşumu düşürücü etki yaptığı sonucuna varılmıştır.

## 7. ÖZET

Kronik olarak radyasyona maruz kalan 5 deneğe ait 0.3, 3 ve 30µg/ml lik dozda bleomycin ve 6, 24, 48 saat süre uygulayarak in-vitro koşullarda kontrollü olarak yapılan bu çalışmada toplam 2639 metafaz değerlendirilmiştir.

Elde edilen bulgular değerlendirildiğinde kronik olarak radyasyona maruz kalan bireylerde düzensizlik içeren hücre oluşumu ve yapısal düzensizlik içeren hücre oranı normal toplum ortalamasından yüksektir. Bleomycin uygulama gruplarında düzensizlik içeren hücre oluşumunda doza bağlı olarak bir artış görülmektedir. Toplam düzensizliklerin incelenen metafaz sayısına oranı kontrol gruplarında (bireyler kronik olarak radyasyona maruz kalmışlardır). %10.46, 0.3µg/ml lik deney grubunda %45.55, 3µg/ml lik deney grubunda %181.69 ve 30µg/ml lik deney grubunda da %205.37 ye yükselmektedir. Ayrıca bleomycin dozunun artmasına bağlı olarak yapısal düzensizliklerin çeşit ve miktarında artma olmaktadır. Poliploid hücre oluşumu üzerinde 24 ve 48 saatlik uygulama grupları arasında anlamlı seviyede fark tespit edilmiştir. Doza bağlı olarak poliploid oluşumu üzerinde anlamlı seviyede bir fark tespit edilmemiştir.

Kontrol ve deney gruplarına ait preparatların herbirinden 1000 hücre sayılarak mitotik indeks belirlenmiş olup, çalışmada kullanılmış olan bleomycinin hücrelerin mitoza girme oranlarını düşürdüğü sonucuna varılmıştır. Bleomycin dozunun artmasına bağlı olarak satellit assosiasyonlarında bir düşme olmaktadır.

## 8. SUMMARY

In this study Bleomycin in doses 0.3, 3 and 30 $\mu$ g/ml was used with periods 6, 24 and 48 hours on 5 samples who were exposed to radiation chronically, in in vitro conditions, and under control so totally 2639 metaphases were evaluated.

When the findings were evaluated it was observed that the average rate of cell which contains structural irregularity and cell formation which contains irregularity at the individuals, who were exposed to radiation chronically, were higher than the ordinary individuals.

An increase was noticed at the irregular formation of cell due to dose at Bleomycin application groups. The proportion of total irregularities to the number of metaphase at control groups (Individuals were chronically exposed to radiation). Was %10.46, it was %45.55 at the 0.3 $\mu$ g/ml experiment group, 181.69 at 3 $\mu$ g/ml experiment group, and rose to %205.37 at the 30 $\mu$ g/ml experiment group. Apart from this due to increased Bleomycin dose an increase occurred at the kind and quantity of structural irregularities.

On poliploid cell formation a significant difference was determined between 24 and 48 hours application groups. Due to dose no significant difference was determined on poliploid formation.

The mitotic index was determined by means of counting 1000 cells from preparations belong to control and experiment groups and as a result it was seen that the Bleomycin used in the study, reduced the rate of cells to lead to mitoz. Due to the increased dose of the Bleomycin a reduction was observed at the association of satellit.

## 9. KAYNAKLAR

- 1-ALP, M.N.: Malignite ile tek gen mutasyonları ve kromozom düzensizliklerinin ilişkisi üzerine araştırmalar (Doktora tezi).Diyarbakır,1983.
- 2- ANTONELLI, A., ELLI, R., MARCUCCI, L. and at all. : Human cells (Normal and ataxia telangiectasia) transfected with PR plasmid are hypersensitiv to DNA strand-breaking agents. MUTATION RESEARCH, DNA. Repair, 255:111-118, 1991
- 3- BAŞARAN,, N.:Tıbbi Genetik Ders Kitabı 4.Baskı Bilim ve Teknik Yayınevi. Eskişehir, 1986.
- 4- BEDFORD, J.S and GOODHEAD, D.T.: Breakage of Human Interphase chromosomes by alpha particles and X-rays. Int. J.RADIAT. BIOL., 55(2):211-216,1989.
- 5- BROWN, T., DAWSON, A.A., McDONALD, I.A. and at all: Chromosome damage and sister Chromatid exchanges in lymphocytes cultures from patients with two primary cancers. Cancer Genetics and Cytogenetics, 17: 35-42, 1985.
- 6- BUDAK, T.: Güneydoğu Anadolu Bölgesinde sıklıkla kullanılan insektisitlerden Malathion ve Lindane'nin fare kromozomları üzerine in vivo etkilerinin araştırılması (Doçentlik tezi). Diyarbakır, 1981.
- 7- CHATTERJEE, A. , JACOB-RAMAN, M. and MOHAPATRA, B: Potentiation of bleomycin-induced chromosome aberrations by the radioprotector reduced glutathione.Mutation Research, 214: 207-213,1989.
- 8- CONFORTH, M.N.: On the nature of interactions leading to radiation-induced chromosomal exchange. Int.Radiat. BIOL. VOL. 56(5):635-643, 1989.
- 9- DAS, B.C. and SHARMA, T.: The fate of X-ray-induced chromosome aberrations in blood lymphocyte culture. Mutation Research, 176:93-104, 1987.
- 10- DIGIVSEPPE, J. A., HUNTING, D.J.and DRESLER,S.L.: Aphidicolin-sensitive DNA repair synthesis in human fibroblasts damaged with bleomycin is distinct from UV-induced repair. CARCINOGENESIS, 11(6):1021-1026, 1990.
- 11- ERKAN, A.: Bleomycin'in insan kromozomları üzerine etkisi (Yüksek lisans tezi). Diyarbakır, 1989.
- 12- GIACCIA, A.J. , DENKO, N. , MacLERAN, D. and at all.: Human chromosome 5 complements the DNA Double-strand Break Repair Dificiency and Gamma-Ray Sensitivity of the XR-I Hamster Variant. Am.J. HUM.GENET, 47 :459-469,1990.
- 13- GIACCIA, A.J. , LEWIS, A.D., DONKO, N.C. and at all.: The hypersensitivity of the Chinese Hamster Ovary Variant BL-10 to Bleomycin; Killing Is due to a lack of Glutathione S-Transferase- $\alpha$  Activity 1. CANCER RESEARCH, 51:4463-4469,1991.
- 14- GREEN, E. and WATERSON, R.H. : İnsan Genom Projesi.JAMA. Cilt, 5(9) Gen Teknolojisi Eki:5-15,1992.

- 15- GOODMAN-GILMAN, A., RALL, R.W., NIES, A.S. and TAYLOR, P.: The Pharmacological Basis of Therapeutics. Eight Edition. Pergamon Pres. Inc.1990.
- 16- GUEDENEY, G., MALARBET, J.L. and DOLOY, M.T.: Chromosomal aberrations in cynomolgus peripheral lymphocytes during and after fractioned Whole-body -irradiation Int. J. RADIAT. BIOL., 55(5):861-870, 1989.
- 17- HERAS, J.G. and COCO, R.: X-Radiation-Induced Chromosome breakage in retinoblastoma lymphocytes. MUTATION RESEARCH, 178:225-233, 1987.
- 18- HITTELMAN, W.N., SEN, P.: Heterogeneity in Chromosome Damage and Repair Rates After Bleomycin in Ataxia Telangiectesia cells. CANCER RESEARCH, 48:276-279, 1988.
- 19- HUGHES, M.R. and CASKEY, T.: Tibbi Genetik. JAMA 5.cilt., sayı 9, Gen Teknolojisi Eki, 3-4, 1992.
- 20- HSU, T.C., JOHNSTON, D.A., CHERRY, L.Y. and at all.: Sensitivity to cytogenetic effects of Bleomycin in humans: Possible Relationship to Environmental Carcinogenesis. Int. J. CANCER, 43:404-409, 1989.
- 21- KAKATI, S., KOWALCZYK, J.R., GIBAS, Z. AND SAUNDBERG, A.A.: Use of Radiation Induced Chromosomal Damage in Human Lymphocytes as a Biological Dosimeter is Questionable. CANCER GENET. CYTOGENET., 22:137-141, 1986.
- 22- KAYAALP, S.O.: Rasyonel Tedavi yönünden Tibbi Farmakoloji cilt 1. 6.Baskı, ANKARA, 1991.
- 23- KUWABARA, Y., MATSUBARA, S., YOSHIMATSU, S. and SUZUKI, S.: Combined Effects of Ultrasound and Ionizing Radiation on Lymphocyte Chromosome. Acta Radiologica Oncology, 25. Fasc, 4-6:291-294, 1986.
- 24- LI and LIN, J.: Differential bleomycin Susceptibility in cultured lymphocytes of fragile-X patients and normal individuals. HUM.GENET., 85:267-271, 1990.
- 25- LIN, P., QUAMO, S., HO, K. and BAUR, K.: The Diethylthiocarbamate concentration Effects and Interactions With Other cytotoxic Agents on Chinese Hamster Cells (V79). RADIATION RESEARCH, 102: 271-282, 1985.
- 26- LLOYD, D.C. and at all: Frequencies of chromosomal aberrations induced in human blood lymphocytes by low doses of X-rays. INT.J.RADIAT.BIOL., 53(1):49-55, 1988.
- 27- MOORE, C.W.: Further characterizations of Bleomycin-sensitive (blm) mutants of Saccharomyces cerevisiae with implications for a Radiomimetik model. JOURNAL of BACTERIOLOGY, 173(11): 3605-3608, 1991.
- 28- MOORE, C.W.: Internucleosomal cleavage and chromosomal Degradation by Bleomycin and phleomycin in yeast Cancer Research, 48:6837-6843, 1988.



- 29- MORGAN, W.F. , DIORDJEVIC, M.C., JOSTES, R.F. AND PANTELİAS G.E.: Delayed repair of DNA Single Strand breaks does not increase cytogenetic damage. Int.J. RADIAT. BIOL., 48(5):711-721, 1985.
- 30- NAGASAWA, H. AND LITTLE, J.B.: Changes in frequencies of chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges during confluent holding recovery in X-irradiated normal human diploid fibroblasts. Int. J.RADIAT. BIOL., 48(4):597-602, 1985.
- 31- ÖNEN, S.: Radyasyon Biyofiziği Ders Kitabı. İstanbul Üniversitesi Basımevi, İSTANBUL,1993.
- 32- ÖZBAYRAK, S.:Diş Hekimliğinde Röntgen Işınları, Etkileri ve Radyasyondan Korunma.Cemay Organizasyon matbaacılık İSTANBUL, 1987.
- 33- RANDAL, T.: Mitokondrial DNA. Edinsel ve Doğumsal Gen Bozukluklarında yeni bir öncü.JAMA. cilt 5 ,sayı 9 Gen Teknolojisi Eki: 20-22 , 1992.
- 34- ROBIN S.L. and KUMAR, V: PATOLOJİ. 1987 4. Baskısının Türkçeye çevirisi. ULUOĞLU Ömer. W.B. Saunders Company. Güneş Kitabevi. Ankara, 1990
- 35- SADAMORI, N., HONDA, T. and TORİYAMA, F. : chromosome abnormalities in skin Fibroblasts Probably Induced by an Anti-Cancer Drug. The Journal of Dermatology. 17:155-158, 1990
- 36- SADLER T.W.: LANGMANS Medical Embriyoloji 6. baskısının Türkçeye çevirisi, BAŞAKLAR CAN.Palme Yayın Dağıtım ANKARA, 1993.
- 37- SANKARANARAYANAN, K., DUYN, A.V., LOSS, M.J., MESCHINI, R. and NATARAJAN, A.T.: Effects of sodium butyrate on X-ray and bleomycin-induced chromosome aberrations in human Peripheral blood lymphocytes. Genet.Res. Comb., 56 :267-276,1990.
- 38- SAUNDERS, W.B.: Medical Dictionary 27.th Edition. Philadelphia,1991.
- 39- SCHANTZ, S.P., HSU, T.C. AINSLE, N., MOSER, R.P.: Young Adults with head and Neck Cancer Express Increased susceptibility to mutagen-Induced Chromosome DamageJAMA. 262(23):3313-3315, 1989.
- 40- SEZGİN, I., ATALAY, A.: Nitrosopyxolidin'in insan lenfosit kromozomlarına etkisi. Biyokimya Dergisi. XI. Ulusal Biyokimya Kongresi Özel Sayısı no:81 1992.
- 41- SHUBBER, E.K. and AL-SHAİKHLY, A.W.: Cytogenetic analysis of blood lymphocytes from X-ray radiographers.Int. Arch of Occup Environ Health, 61:385-389, 1989.
- 42- SODEMAN, W.A.: SODEMAN'S FİZYOPATOLOJİSİ. Sodeman's Pathologic Physiology Mechanisms of Disease 1985 seventh. Türkçe çevirisi 1.cilt. ANKARA, 1991.
- 43- SPITZ, M.R. FUEGER, J.J., BEDDİNGFIELD, N.A. and at all.:Chromosome sensitivity to bleomycin-induced Mutagenesis an independent Risk-Faktor for Uppear Aerodigestive tract cancers.Cancer Research, 49: 4626-4628, 1989.

- 44- STESTRAND, K.: Effect of ionizing radiation of chromosome aberrations, sister chromatid exchanges and micronuklei in lymphocytes of smokers and non smokers. Hereditas, 102:71-76, 1985.
- 45- THOMPSON, M.W.: Thompson and Thompson : Genetics in medicine.Fifth Edition. Philadelphia, 1991.
- 46- VIJAYALAXMI and BURKART, W.: Resistance and Cross-Resistance to chromosome damage in human blood lymphocytes adapted to bleomycin.Mutation Research, 21: 1-5,1989.
- 47- VORECHOVSKY, I., MUNZAROVA, M. and LOKAJ, J.: Increased bleomycin-induced chromosome damage in lymphocytes of patients with Common variable immunodeficiency indicates an involuement of chromosomal instability in their Cancer Prediposition. Cancer Immunology-Immunotherapy, 29(4):303-306, 1989.
- 48- WEGNER, R.D. at all : A new chromosomal instability disorder confirmed by complementation studies. Clinical Genethics,3:20-32, 1988.
- 49- YURTSEVEN, N.: Deneysel İstatistiksel metotlar. Tarım Orman ve Köy işleri Bakanlığı, Köy Hizmetleri Genel Müdürlüğü Toprak ve Gübre Araştırma Enstitüsü Yayınları.TeknikYayın No:56:90-313, ANKARA ,1984.
- 50- ZUCKERMAN, J.E.,RAFFIN,T.A.,BROWN, J.M. and at all.: In-vitro Selection and cheracterization of a bleomycin-resistant subline of b:16 Melanoma. Cancer-Res-46 (4-1):1748-1753, 1986.

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ

T.C. YÜKSEKÖĞRETİM KURULU  
DOKÜMANTASYON MERKEZİ