

T.C.
KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

**FARE KEMİK İLİĞİ HÜCRELERİNDE SİKLOFOSFAMİD TARAFINDAN
İNDÜKLENEN GENOTOKSİSİTEYE KARŞI TARHUN (*Artemisia dracunculus*
L.) YAPRAK EKSTRAKTININ OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN
MİKRONÜKLEUS TESTİ İLE BELİRLENMESİ**

Hatice ULU
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE

Haziran 2020

KARS

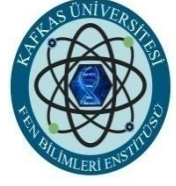


T.C.

KAFKAS ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI



**FARE KEMİK İLİĞİ HÜCRELERİNDE SİKLOFOSFAMİD TARAFINDAN
İNDÜKLENEN GENOTOKSİSİTEYE KARŞI TARHUN (*Artemisia dracunculus*
L.) YAPRAK EKSTRAKTININ OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN
MİKRONÜKLEUS TESTİ İLE BELİRLENMESİ**

Hatice ULU

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE

**Bu tez çalışması 2020-FM-03 nolu proje ile Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma
Projeleri Koordinatörlüğü tarafından desteklenmiştir.**

Haziran 2020

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Hatice ULU'nun Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE danışmanlığında Yüksek Lisans tezi olarak hazırladığı "Fare Kemik İliği Hücrelerinde Siklofosfamid Tarafından İndüklenen Genotoksisiteye Karşı Tarhun (*Artemisia dracuncululus* L.) Yaprak Ekstraktının Olası Koruyucu Etkisinin Mikronükleus Testi ile Belirlenmesi" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek.....ile kabul edilmiştir.

25/ 06/2020

Adı ve Soyadı

İmza

Başkan : Prof. Dr. Abdullah DOĞAN

Üye : Doç. Dr. Furkan ORHAN

Üye : Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun .../.../2020 gün ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fikret AKDENİZ

Enstitü Müdürü

ETİK BEYAN

Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dökümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,

bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

İmza

Hatice ULU

25.06.2020

ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

FARE KEMİK İLİĞİ HÜCRELERİNDE SİKLOFOSFAMİD TARAFINDAN İNDÜKLENEN GENOTOKSİSİTEYE KARŞI TARHUN (*Artemisia dracunculus* L.) YAPRAK EKSTRAKTININ OLASI KORUYUCU ETKİSİNİN MİKRONÜKLEUS TESTİ İLE BELİRLENMESİ

Hatice ULU

Kafkas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE

Bu çalışma; siklofosfamidin (CP) genotoksitesine karşı, tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) yaprak ekstraktının olası koruyucu etkisinin, mikronükleus testi ile belirlenmesi amacıyla yapılmıştır. Çalışmada her bir grupta 8 hayvan olacak şekilde toplam 6 grup oluşturuldu. Bu gruplar; I. grup: negatif kontrol grubu, II. grup: pozitif kontrol grubu (50 mg/kg, i.p. CP), III. grup: 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubu, IV. grup: 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubu, V. grup: 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + CP (50 mg/kg, i.p.) grubu, VI. grup: 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + CP (50 mg/kg, i.p.) grubu şeklindedir. 14 gün boyunca tarhun yaprak ekstraktı oral gavaj yol ile farelere verildi. Fareler disloke edilmeden 24 saat önce (15. gün) intraperitoneal olarak siklofosfamid enjekte edildi. Disloke edilen farelerin kemik iliği hücrelerinde mikronükleus testi yapılarak, mikronükleus oranları tayin edildi.

Çalışma sonunda; mikronükleus sayılarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi neticesinde negatif kontrol grubu ile kıyaslama yapıldığında, CP uygulanan grubun MN sayısının negatif kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiş ($p<0.001$), CP ile birlikte 75 mg/kg ve 150 mg/kg dozlarında AD uygulamasına bağlı olarak ise, MN sayılarında CP grubuna göre oldukça önemli düzeyde azalma tespit edilmiştir ($p<0.001$).

PCE/NCE oranları açısından değerlendirme yapıldığında ise, yine negatif kontrol grubuna göre CP grubu değerlerinin oldukça düşük olduğu ($p<0.001$), CP ile birlikte 75 mg/kg AD uygulandığında ($p<0.005$) ve 150 mg/kg AD uygulandığında ($p<0.001$) CP grubuna göre PCE/NCE oranlarının azaldığı belirlenmiştir.

Sonuç olarak; *Artemisia dracunculus* L. yaprak ekstraktının 75 mg/kg ve 150 mg/kg dozlarının fare kemik iliği hücrelerinde siklofosfamidin neden olduğu mikronükleus artışını azaltarak koruyucu etki gösterdiği belirlendi.

Anahtar Kelimeler: *Artemisia dracunculus* L., *Mus musculus*, Siklofosfamid, Mikronükleus Testi

2020, 61 sayfa

ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

DETERMINATION OF THE POSSIBLE PROTECTIVE EFFECT OF TARHUN (*Artemisia dracunculus* L.) LEAF EXTRACT IN THE MOUSE BONE MARROW CELLS AGAINST CYCLOPHOSPHAMID BY MICRONUCLEUS TEST

Hatice ULU

Kafkas University

Institute of Science

Department of Biology

Supervisor: Assistant Professor Pınar AKSU KILIÇLE

This work; had been carried out by aiming the determination of the possible protective effect of the tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) leaf extract against genotoxicity of cyclophosphamide (CP), by micronucleus test. In the study, 6 test groups were formed and each group was involved 8 animals. These groups were named as: I. group is negative control group, II. group is positive control group which is formed from 50 mg/kg, i.p. CP, III. group denotes 75 mg/kg tarragon leaf extract group, IV. group denoted 150 mg/kg tarragon leaf extract group, V. group is formed from 75 mg/kg tarragon leaf extract + CP (50 mg/kg, i.p.) and VI. group is formed from 150 mg/kg tarragon leaf extract + CP (50 mg/kg, i.p.). The tarragon leaf extract was given to the mice via oral gavage during 14 days. Cyclophosphamide was injected intraperitoneally to the mice before 24 hours of the dislocation (day 15) of them. The micronucleus ratios were determined by the performing of the micronucleus tests to the bone marrow cells of dislocated mice.

At the end of the study; when the statistical evaluation of micronucleus numbers were compared with the negative control group, it was determined that the MN numbers increased in the group which was exposed to CP ($p<0.001$) according to the negative control group. On the other hand, it was determined that the MN numbers of CP group were significantly decreased when the 75 mg/kg and 150 mg/kg doses AD in addition to the CP ($p<0.001$) were applied to the CP group.

When an evaluation was carried out upon the PCE/NCE ratios, it was determined that values of the CP group ($p<0.001$) were less than values of the control group, on the other hand, when 75 mg/kg AD applied with CP ($p<0.005$) it was observed that the PCE/NCE ratios were decreased compared to the situation that applied 150 mg/kg AD to the CP group ($p<0.001$).

As a result; it was determined that 75 mg/kg and 150 mg/kg doses of *Artemisia dracunculus* L. leaf extract showed protective effect in mouse bone marrow cells by leading to decrease of the increase in micronucleus which was caused by cyclophosphamide.

Key Words: *Artemisia dracunculus* L., *Mus musculus*, Cyclophosphamide, Micronucleus Test

2020, 61 pages

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi, Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE danışmanlığında hazırlanarak Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'ne Yüksek Lisans Tezi olarak sunulmuştur.

Yüksek Lisans eğitimim boyunca bana danışmanlık eden, değerli bilgi ve tecrübelerinden yararlanmama imkan sağlayan, gösterdiği gülyüz ve disiplinli çalışma azmi ile beni hiç yalnız bırakmayan çok kıymetli danışman hocam Dr. Öğr. Üyesi Pınar AKSU KILIÇLE'ye teşekkür ve saygılarımı sunarım.

Tez yazım dönemimde benden yardımlarını esirgemeyen saygıdeğer hocalarım Dr. Öğr. Üyesi Mustafa Kemal ALTUNOĞLU ve Dr. Öğr. Üyesi Evren KOÇ'a, çalışmamın laboratuvar aşamasında bana destek olan Uzman Biyolog Erhan ULUMAN'a, ayrıca bu çalışmayı destekleyen Kafkas Üniversitesi Bilimsel Araştırma Projeleri Koordinatörlüğü'ne katkılarından dolayı teşekkür ederim.

Beni bugünlere getiren değerli aileme, özellikle rahmetli annem Meryem GÜZEL, canım babam İbrahim GÜZEL ve desteğini benden hiç eksik etmeyen biricik kayınvalidem Güli ULU'ya gönül borçlusuyum. Hayatımın her alanında olduğu gibi tez çalışmamda da bana her zaman güç veren, en büyük destekçim sevgili eşim Serkan ULU'ya, çalışmam esnasında o küçücük yürekleri ve gösterdikleri büyük sabırla hep yanımda olan candan öte evlatlarım Yusuf Ali ULU ve Hüma ULU'ya minnettarım.

İmza

Hatice ULU

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ETİK BEYAN	i
ÖZET	ii
ABSTRACT	iv
ÖNSÖZ	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ	ix
TABLolar DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ	xi
SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GENEL BİLGİLER	1
1.1. Giriş.....	1
1.2. Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Bitkisinin Genel Özellikleri ve Tarihçesi... 3	
1.2.1. Tarhun Bitkisinin Kullanım Alanları	6
1.2.1.1. Tarhun Bitkisinin Alternatif Tıp Alanındaki Kullanımı	6
1.2.1.2. Tarhun Bitkisinin Mutfak Alanındaki Kullanımı.....	8
1.2.1.3. Tarhun Bitkisinin Diğer Kullanım Alanları	8
1.3. Antioksidanlar	9
1.4. Genotoksisite.....	12
1.4.1. Mikronükleus (MN) Testi	13
1.4.1.1. Mikronükleus Sayımında Kullanılan Kriterler.....	15
1.5. Siklofosfamid (CP)	15
2.MATERYAL VE METOT	19
2.1. Materyal	19
2.1.1. Hayvan Materyali.....	19
2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler.....	19

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları.....	21
2.1.4. Tarhun Bitkisinin Uçucu Yağ Analizi	21
2.1.5. Genotoksisitenin Araştırılması.....	23
2.1.5.1. Çalışmada Kullanılan Ekstraksiyon Tekniği.....	23
2.1.5.2. Deney Grupları.....	25
2.1.5.3. Mikronükleus Testi	25
3. BULGULAR.....	29
3.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Frekansı Üzerindeki Etkileri	29
3.1.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	35
3.1.2. 50 mg/kg Siklofosfamid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	35
3.1.3. 75 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	36
3.1.4. 150 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	37
3.1.5. 75 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı + 50 mg/kg CP Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	38
3.1.6. 150 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı + 50 mg/kg CP Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları	39
4. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	41
5.KAYNAKLAR	47
ÖZGEÇMİŞ.....	61

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 1.1. Antioksidanların elektron transferi ile serbest radikali nötralize etmesi	10
Şekil 1.2. Antioksidanların Sınıflandırılması.....	11
Şekil 1.3. Mikronükleus Taşıyan Bir Hücrenin Oluşum Aşamaları	14
Şekil 1.4. CP'nin Kimyasal Yapısı	16
Şekil 1.5. CP Kimyasal Yapı ve Metabolizması.....	19
Şekil 2.1. <i>İn vivo</i> Mikronükleus Test Protokolü	27
Şekil 2.2. Çalışmanın Grafikselsel Abstraktı	28
Şekil 3.1. Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait PCE/NCE Oranları	32
Şekil 3.2. Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait MNPCE Oranları	32

TABLolar DİZİNİ

Sayfa

Tablo 2.1. <i>Artemisia dracunculus</i> Uçucu Yağının Bileşimi	29
Tablo 3.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Mikronükleus Test Sonuçları	30
Tablo 3.2. Kontrol ve Deney Gruplarına Ait Mikronükleus ve PCE/NCE Oranlarının İstatistiki Sonuçları	31
Tablo 3.3. Negatif Kontrol Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları.....	35
Tablo 3.4. Siklofosfamid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları	36
Tablo 3.5. 75 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları.....	37
Tablo 3.6. 150 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları.....	38
Tablo 3.7. 75 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı + Siklofosfamid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları.....	39
Tablo 3.8. 150 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı + Siklofosfamid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları.....	40

RESİMLER DİZİNİ

Sayfa

Resim 3.1: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$).....	33
Resim 3.2: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$).....	33
Resim 3.3: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde 2 Mikronükleuslu MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$).....	34
Resim 3.4: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde 2 Mikronükleuslu MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$).....	34

SEMBOLLER VE KISALTMALAR DİZİNİ

%	: Yüzde
°C	: Santigrat derece
µmol	: Mikromol
IV.	: Dördüncü
ABD	: Amerika Birleşik Devletleri
ABTS	: Radikal katyon yakalama aktivitesi
ACR	: Acrolein
AD	: <i>Artemisia dracunculus</i> L.
ALS	: Alkali labil bölgeler
CA	: Kromozomal aberasyon
cm	: Santimetre
CP	: Siklofosfamid
CUPRAC	: Cu (II) (bakır) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite
DNA	: Deoksiribonükleik asit
DSB	: Çift zincir kırığı
DPPH	: Radikali giderme aktivitesi
FAM	: Fosforamid mustard
FRAP	: Fe ³⁺ (ferik iyonu) indirgeme gücü
GC-MS	: Gaz kromatografisi/kütle spektrometrisi
HAAD	: Hidro-alkolik <i>Artemisia dracunculus</i> ekstraktı
i.p.	: İntraperitoneal
MÇ	: Mikroçoğaltım
ml	: Mililitre
mm	: Milimetre
MN	: Mikronükleus
MNPCE	: Mikronükleuslu polikromatik eritrosit
MO	: Mikroorganizma
MÖ	: Milattan önce
NCE	: Normokromatik eritrosit
PCE	: Polikromatik eritrosit

RNA	: Ribonükleik asit
SCE	: Kardeş kromatid değişimi
SBB	: Tek zincir kırığı
SMART	: Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi
UV	: Ultraviyole
yy.	: Yüzyıl



1. GENEL BİLGİLER

1.1. Giriş

İnsanlığın var oluşu ile birlikte, bitkiler geleneksel tıpta hastalıkların tedavisi için kullanılmıştır. Tedaviye ek olarak bitkiler; gıda, ilaç, kozmetik, vücut bakımı, baharat, tütsü, parfüm, alkollü ve alkolsüz içecekler, aroma, boyacılık, çay, sabun, hardal ve sirke yapımında, hatta cesetlerin mumyalanması ve dini törenler gibi çok çeşitli alanlarda kendilerine yer bulmuştur [1-3].

MÖ (milattan önce) 5000 yıllarında, bitkilerin tedavi amacı ile kullanımına ait kayıtların ilki Mezopotamya uygarlığında bulunmuştur. Eski Mısır'da yapılan kazılarda ise bitkilerin gıdalarda kullanılmasına ilişkin ilk kayıtlara rastlanmıştır. Anadolu insanının bitkiler ile hastalıklara çare araması da çok eskiye dayanmaktadır. Hitit dönemindeki tıbbi tabletler üzerine çizilen reçetelerde bitki isimleri tespit edilmiştir. Bitkilerin hastalıklara karşı çözüm olarak kullanımı, ülkelerin gelişmişlik düzeyi ile paralel şekilde kendini göstermektedir. Gelişim seviyesi düşük olan ülkelerde bu oran düşük iken, gelişmiş ülkelerde yüksektir [4-7].

Hastalıkları tedavi etmek için başvurulmuş sentetik ilaçlar birçok yan etkiye sahiptirler. Bunun yanı sıra sürekli kullanım durumunda bu ilaçlar direnç göstermektedirler. Tüketilen sentetik ilaçlardaki etken maddelerin etkisi, tıbbi bitkilerde bulunan etken maddelere oranla daha azdır. Bu nedenlerden dolayı doğal bir antioksidan kaynağı olan bitkilere yönelme ve bu bitkilerin bilimsel olarak araştırılmasında artış yaşanmıştır [1, 8].

Antioksidanlar, çeşitli hastalıklara neden olan birçok ajanı inaktif hale getiren ve serbest radikallerin meydana gelmesini önleyen maddelerdir. Bu maddeler vücudumuz tarafından üretilebildiği gibi, tükettiğimiz sebze ve meyvelerin tohum, yaprak, çiçek, kök ve kabuklarında da bulunabilmektedir. Sentetik antioksidan kullanımının toksik etki yaratmasından dolayı doğal olan antioksidanlara yönelim gün geçtikçe artmaktadır [9-12].

Alternatif tıp alanında şifa bulmak için tercih edilen bitkilerden bir tanesi de tarhundur. Farklı dillerde; *Artemisia dracunculoides*, tarragon, tarkhun, estragon gibi çeşitli isimlere sahip olan tarhun "küçük ejderha" anlamına gelen çok yıllık otsu bir

bitkidir. Asteraceae (papatyagiller) familyasından olan tarhunun (*Artemisia dracunculus* L.) ana yurdu Sibirya'dır. Sonrasında Asya, Avrupa ve Kuzey Amerika'ya yayılmıştır. Türkiye'de de Bayburt, Erzurum, Gaziantep ve Şanlıurfa'da yetiştirilmektedir. Tarhun bitkisi, Fransız ve Rus Tarhunu olmak üzere iki varyeteye sahiptir [13-15].

Tarhun yüzyıllar boyunca insanlar tarafından; iştah açıcı, sindirim kolaylaştırıcı, gaz ve idrar söktürücü, kurt düşürücü, kramp çözücü, böcek öldürücü, adet uyarıcı, diş ağrısını gideren, romatizmaya iyi gelen, kan dolaşımını artırıp zindelik veren, uykusuzluğu önleyen, cilt iltihaplarını gideren, hayvan ısırıklarını iyileştiren, kardiovasküler hastalıklar, sıtma, ülser, iskorbüt, gece körlüğü, epilepsi ve diyabet gibi çok çeşitli hastalıkların tedavisi için kullanılmıştır. Ayrıca Fransız tarhunundan elde edilen uçucu yağ; antioksidan, antifungal, antikanser ve antibakteriyel etkiler göstermektedir [16-19].

Hastalıklara karşı tedavinin dışında, tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) mutfak dünyasında da kendine geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Aromasından ötürü içeceklerde, yemeklerde, salatalarda, sirkede, çorbalarda, konservelede, likör yapımında, barbeküde, omletlerde, şekerlemelerde ve peynir yapımında kullanılmaktadır. Tarhun aroması mutfak dışında parfüm yapımında da yer almıştır [20-22].

İnsanoğlu sahip olduğu bir hayvanın hem etinden, hem sütünden, hem de derisinden faydalanmayı bildiği gibi, tarhunun da hem yaprağını, hem saplarını hem de köklerini farklı amaçla kullanmıştır. C vitamini kaynağı olan tarhun yaprakları baharat olarak tüketilmiştir. Tarhun sapları sert olduğu için insanlar bunları ev temizliğinde süpürge olarak kullanmıştır. Bitkinin kökünde bulunan quercetin flavonoidinden elde edilen sarı renk boya ise yün, deri ve ipekleri boyamada kullanılmıştır [23].

Uzun yıllardır yapılan bilimsel çalışmalarda tarhun bitkisinden elde edilen yağlardaki mevcut bileşenler araştırılmıştır. Bu bileşenler bölgelerin ekolojik durumuna göre değişiklik göstermektedir. Farklı coğrafik bölgelerde yapılan çalışmalarda tarhun bitkisinde en sık rastlanan bileşenler; estragol, elemisin, metil öjenol ve terpinolen olmuştur [24-26].

Kimyasal veya fiziksel toksik ajanların genetik materyal yani DNA (deoksiribonükleik asit) üzerinde meydana getirdiği hasarlara genotoksik etki veya genotoksisite denilmektedir. Sonraki nesillere aktarılabilen bu hasarlar DNA kalıtım, SBB (tek zincir kırığı), DSB (çift zincir kırığı) ve ALS (alkali labil bölge) olarak kendini göstermektedir. Genotoksisite; DNA kalıtım, SBB, DSB, ALS ve bunlara benzer DNA hasarlarını ve mevcut etmenleri inceleyen bir bilim dalıdır [27-29].

Organizmalar yaşamları boyunca DNA hasarına maruz kalabilmektedirler. Genetik materyalde meydana gelen hasarlara, doğrudan veya dolaylı yoldan etki eden alkilleyici ajanlar sebep olmaktadır. Dolaylı etkiye sahip ajanlardan biri olan siklofosfamid (CP) hücrel proteinlerin fonksiyonlarını değiştirip DNA yapısına zarar vermektedir. Siklofosfamid sitotoksik bir ilaç olarak malign (kötü huylu) olmayan hastalıkların ve kanserin tedavisinde kullanılmaktadır. Ayrıca sahip olduğu immunosüpresif aktivite özelliği sayesinde organ transferlerinde ve bazı otoimmün hastalıkların tedavisinde kullanılmaktadır. Bu avantajlarının aksine yüksek dozda alınan siklofosfamid kemik iliği ve kanda toksisiteye neden olmaktadır [30-32].

Bu çalışma ile, hücrel proteinlerin işlevini değiştirip DNA'ya hasar vererek alkilleyici ajan görevi gören siklofosfamidin, fare kemik iliği hücrelerinde meydana getirdiği genotoksitete karşı *Artemisia dracunculus* L. yaprak ekstraktının koruyucu etkisinin mikronükleus testi ile araştırılması amaçlanmıştır.

1.2. Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Bitkisinin Genel Özellikleri ve Tarihçesi

Çiçekli bitkilerin içerisinde yaklaşık olarak 1000 cins ve 20.000 tür ile en zengin familya ünvanı Asteraceae familyasına aittir. Bu zengin familyanın 1333 cinsi ve 1156 türü Türkiye'de bulunmaktadır. Kuzey Yarım Küre bölgesinde Asteraceae familyasının *Artemisia* cinsine ait 250 türü görülmektedir. Ülkemizde ise *Artemisia* cinsine bağlı 22 tür mevcuttur. *Artemisia dracunculus* L. (tarhun), bu 22 türünden sadece biridir [33-35].

Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Asteraceae familyasına ait, otsu ve çok yıllık bir bitkidir. Doğrusal olarak büyüyen, demet halinde bulunan ve yukarı kısımları çatallara ayrılan bitki, kuvvetli köklere ve kısa yan köklere sahiptir. Bitkinin gövdesi ise yuvarlak hatlıdır ve 60-120 cm uzunluğa kadar erişebilmektedir. Tarhun açık veya

koyu yeşil, mat veya parlak renkte olup, bitkinin alt kısımlarına indikçe renk kahverengi bir hal almaktadır. Bitkinin yaprak uçları sivri, dikenimsi ve kenarları hafif dişli yapıdadır. Sapsız ve mızrak şeklindeki yapraklar, genellikle 2-10 mm genişliğindedir. Sadece orta damarı belirgin olan tarhun yaprakları az veya orta derecede tüylü yapıya sahiptir. Tarhun yapraklarının alt kısmında bulunan yağ bezeleri sayesinde, bitki aromatik bir özellik kazanmaktadır. *Artemisia dracunculus* L. (AD), Fransız ve Rus tarhununu olmak üzere iki varyeteye sahiptir [36-38, 23].



Resim 1.1: Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.)

Artemisia dracunculus L., kökeni Farsça olan “tarhun”un Latince adı olup; tarkhun (Arapça, Rusça), estragon (Fransızca, Rusça, İtalyanca, Almanca ve Norveççe), estrag (İspalyonca), targone (İtalyanca), tarhun (İbranice), esutoragon (Japonca), estragao (Portekizce), ejderha (Hollandaca, İsveççe) olmak üzere bitki çok çeşitli şekilde adlandırılmaktadır. Ana vatanı Sibirya olan bitkinin batı ile tanışması Moğollar sayesinde olmuştur [39,40]. Orta Asya’dan göç eden Türkler tarhununu Anadolu ve İran’a getirmiş ve sonrasında bitki dünyaya yayılmıştır [19].

Tarhun bitkisi ağır killi topraklarda kendini tolere edemez. Hafif ve orta kumlu, killi topraklar tercih eden tarhun, humuslu, güneş alan ve zengin topraklarda yüksek verim göstermektedir. İdeal sonuç almak için iyi drene edilmiş veya kuru verimli topraklar

bitki açısından oldukça uygundur. Ayrıca en iyi verim için tarhun bitkisinin ekim sıklığı 45-60×30 cm olarak bildirilmektedir [36, 41, 42]. Belirtilen toprak özellikleri bakımından Türkiye’de de başta Doğu Anadolu ve Güneydoğu Bölgeleri olmak üzere, Bayburt, Erzurum, Gaziantep, Şanlıurfa ve Ankara’da tarhun yetiştirilmektedir [13, 16].

1975 yılında botanikçi Davis, yabancı kökenli bir bitki türü olan tarhunun Türkiye’de İstanbul civarında ve olasılıkla diğer yerlerde baharat olarak kültüre alındığını rapor etmiştir. Davis’e göre tarhun çok yıllık, aromatik özeliğe, basit veya dişli yapraklı, hermafrodit olan ama dişiler steril olduğundan (haploit) kısır yapıda bulunan bir bitki türüdür [33].

Artemisia dracunculus L. kısır bir yapıya sahip olduğu için bitkinin çoğaltılması vegetatif yöntemlerle yapılmaktadır. Bunun için tarhun kökleri parçalara ayrılıp ekilir ve yeni tarhun bitkileri elde edilir. Bitkinin ticari olarak üretimi mikroçoğaltım (doku kültürü) yöntemi ile yapılmaktadır. Mikroçoğaltım (MÇ) yönteminde amaç; yeni bir bitki meydana getirebilme potansiyeli olan bitkinin kök, gövde, tohum, embriyo, sürgün, polen veya kallus kısımlarının aseptik şartlarda ve yapay besin alanlarında yeni bir bitki oluşturabilmesidir. Birçok bitki türünün üretiminde kullanılan bu yöntem, tarhun bitkisinin de çok miktarda ve hızlı bir şekilde üretilmesini sağlamaktadır [43-45].



Resim 1.2: Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Bitkisinin MÇ Yöntemi ile Üretimi [46]

1.2.1. Tarhun Bitkisinin Kullanım Alanları

1.2.1.1. Tarhun Bitkisinin Alternatif Tıp Alanındaki Kullanımı

Bitkilerin ekstrakt haline getirilerek şifa amacı ile kullanılması, Çin’de MÖ 2700 yıllarına kadar dayanmaktadır. Hitit dönemi tıbbi tabletleri üzerinde bulunan reçetelerdeki bitki isimleri ise Anadolu insanının uzun yıllardır yabancı bitkilerden şifa aradığının bir göstergesidir [6, 7].

AD’nin alternatif tıptaki yeri de insanlık tarihi kadar eskidir ve kullanım alanı oldukça geniştir. Tarhun tamamen kurutulduktan sonra öğütülerek veya ezilerek kullanılabilirdiği gibi, taze olarak doğranıp veya çekilerek de kullanılabilir. Kurutulmuş olan tarhun bitkisi, taze olana oranla daha az aromaya sahiptir. Buna karşın kurutulmuş tarhun İran’da hiperlipidemi, koagülopati ve epilepsiyi kontrol altında tutmak amacı ile reçete edilen oral bir ilaçtır [47-49].

Eski Sovyetler Birliği’nde AD alternatif tıp alanında; sinir sisteminde antiepileptik ve hafifletici, boşaltım sisteminde diüretik, karaciğerde koleretik, yara iyileşmesi,

antiülser, antikanser ve antibakteriyel olmak üzere çok geniş bir yelpazede kullanılmıştır [50, 51].

Tarhun sindirim salgularını arttırıp sindirimi kolaylaştırmaktadır. Vücuttaki birikmiş olan tuz ve suyu atarak hazımsızlığı gidermektedir. Bağırsak ve mide gazlarını gideren bitki mide şikayetlerininde azaltmakta, aynı zamanda güçlendirici tonik etkisi yaratmaktadır. Tarhun antiseptik, kramp çözücü, kurt düşürücü ve romatizma engelleyici olarak uzun yıllar kullanılmıştır. Ayrıca kansızlık ve sindirim bozuklukları yaşayan insanlar tarafından yaygın olarak tercih edilmektedir [17]. Tarhun bitkisi, gece körlüğü tedavisinde, iskorbüt ve nevroz hastalığında antikolölsan olarak kullanılmaktadır. Bitkinin suda çözünebilen bileşenlerinden, Çin'de tıp alanında cilt ve diş eti iltihabı, yanık, ülser ve eklem hastalıklarının tedavisi için ayrıca, karaciğeri koruyan bir ajan olarak yararlanılmaktadır [52].

Arap kültüründe tarhun diş ağrılarında, yara ve kesiklerde, cilt tahrişlerinde, dermatit ve alerjik döküntü tedavisinde çoğunlukla kullanılan bir bitkidir. Bunlara ek olarak tedavi amacı ile alınan ilaçların tadını donuklaştırmak için tarhun vazgeçilmezdir [53]. AD, allelopatik, antibakteriyel, antifungal ve böcek öldürücü etkiye sahip olduğu için, endüstriyel alanda sıklıkla kullanılmaktadır [54]. Azerbaycan kültüründe alternatif tıp alanında yemeklerden önce çay olarak yapılan tarhunun tüketilmesinin, müshil, antiepileptik ve antispazmodik etki gösterdiği inancı yaygındır [55, 56]. Antioksidan özellik gösteren tarhun bitkisinin yaprakları yüksek oranda A ve C vitamini, tuz, mineral ve iyot içermektedir [14].

ABD (Amerika Birleşik Devletleri)'de Michigan eyaletine bağlı Chippewa ilçesinde adet döngüsü yaşayan yerli bayanlar, akıntının oranını düşürmek için uzun yıllar boyunca tarhun kökü kullanmıştır. Ayrıca bitkinin kökü çocuk ve yaşlıları güçlendirmek için buhar banyolarında kullanılmıştır. Kalp çarpıntısı için tarhun bitkisinin yaprakları çiğnenmiştir. Kanada Shuswap'da ise sinekleri kovmak için yakılan tarhun bitkisi, aynı zamanda doğum esnasında yardımcı olarak kullanılmıştır. Bunlara ek olarak ABD'nin Ramah Navajo bölgesinde, iyileşmeye katkı sağlaması amacı ile AD losyon haline getirilerek kullanılmıştır [57, 58].

1.2.1.2. Tarhun Bitkisinin Mutfak Alanındaki Kullanımı

AD alternatif tıbbın dışında, mutfak dünyasında da kendisine geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Rus tarhunun mutfak alanındaki tüketim oranı çok azdır. Bu durumun aksine Fransız tarhununu geniş bir yelpaze ile mutfakta tercih edilmektedir [43]. “Şef olan bir insanın en iyi dostu” olarak tanımlanan tarhun bitkisi baharat olarak Fransa mutfağı başta olmak üzere, Güney Avrupa topraklarında yaygın olarak tüketilmektedir. Burada yaşayan halk, lezzetli et, sebze ve balık yapmak için tarhuna başvurmuşlardır. Ayrıca Dijon hardalı üretiminde, sirke yapımında ve bazı diğer baharatların üretilmesinde AD önemli rol oynamaktadır [40, 59].

“Licoriceanise” olarak adlandırılan aromatik tarhun yaprakları Avrupa’da gıdalarda kullanılması amacıyla yetiştirilmektedir. Barbeküleri süsleyen tarhun bitkisinden elde edilen esansiyel yağ, gıda endüstrisinde lezzet ve aroma verici olarak kullanılmaktadır [36, 60]. Rusya, Azerbaycan, Gürcistan, Ukrayna, Estonya ve Ermenistan’da 1980 yıllarında popüler olan, günümüzde de bu popülerliğini koruyan ve “Tarkhun” adı verilen alkol içermeyen içeceğin kaynağı tarhun bitkisidir. Ayrıca diğer ticari içeceklerde yeşil renkte sanatsal bir görünüm elde etmek için AD sıklıkla kullanılmaktadır [61].

Anadolu halkı tarhununu tat vermesi için çeşitli çorbalarda ve salatalarda kullanmaktadır. Mısır’da AD yaprakları baharat olarak yemeklere katılmaktadır. Tarhun esansiyel yağı lezzet verici olarak mayonez, çorba, konserve, likör ve soslarda kullanılmaktadır. Kıymetli yağdan ötürü AD’nin ticari tarımı Fransa önderliğinde birçok ülkede yapılmaktadır. Tarhun bitkisi hoş kokusu ve verdiği lezzetten dolayı biberin, tuzun ve sirkenin yerine geçebilmektedir [13, 21].

1.2.1.3. Tarhun Bitkisinin Diğer Kullanım Alanları

Artemisia dracunculus yapraklarından üretilen ve hoş kokuya sahip olan esansiyel yağ kozmetik, sabun ve parfüm sanayisinde yer almaktadır. Bitkinin sap kısımları sert yapılı ve yüksek olduğu için süpürge olarak kullanılmaktadır. Tarhunun kökünden, sarı renk veren quercetin flavonoidi elde edilir. İnsanlar ipek, yün ve deriyi sarı renge boyamak için tarhun kökünden faydalanmaktadır [23].

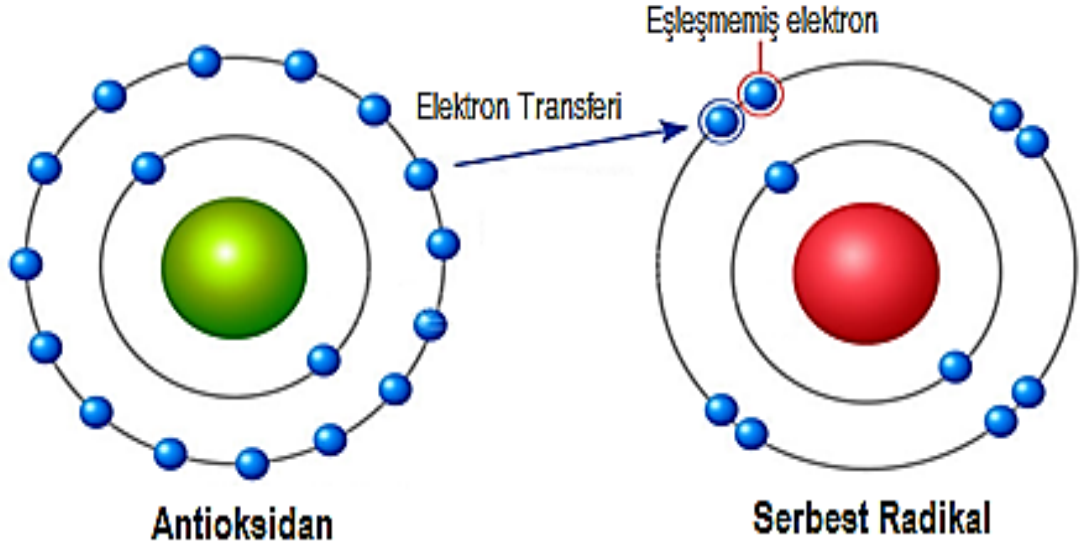
1.3. Antioksidanlar

Moleküler veya atomik yapıda olan, çiftlenme yaşamayan, bir ya da birden fazla tek halde atom barındıran moleküller, serbest radikaller olarak adlandırılırlar. Bu maddeler; ilaç, UV (ultraviyole) ışını, stres, radyasyon, alkol, sigara, immunolojik reaksiyon ve yağ oksidasyonu gibi çok çeşitli yollar ile de oluşabilmektedirler. Birçok hastalığa neden olan bu ajanları inaktive etme görevi ise antioksidanlara düşmektedir. Vücutta belirli oranda sürekli olarak doğal antioksidanlar mevcuttur. Mevcut doğal antioksidanlar bir noktaya kadar, oluşan oksidan molekül yükselişini engelleyebilmektedir. Fakat serbest radikal ajanların sayısının, endojen sellüler çöpçü sistem sınırını aşması durumunda ciddi hücresel hasarlar oluşabilmektedir [62, 63].

Antioksidan savunmasını aşmayı başaran serbest radikaller, yaşlanma ile kendini gösteren patolojik hasarlara ek olarak; kalp hastalıkları, alkolik karaciğer hastalıkları, ateroskleroz, serebrovasküler hastalıklar, bronşit, nörodejeneratif hastalıklar ve kansere sebebiyet vermektedirler [64, 65].

Antioksidanlar; prooksidanlarla başlayan oksidasyon olayını, yükseltgenebilen substratları engelleme adına, düşük derişimler ile önemli oranda geciktirmekte ya da önlemektedirler. Lipid, protein ve nükleik asitlerde çeşitli hastalıkların temelini oluşturan ve oksidatif bozukluk yaratan prooksidanlar, çağımızda değerli bir konumda bulunan antioksidanlar tarafından etkisiz hale getirilmektedirler [66].

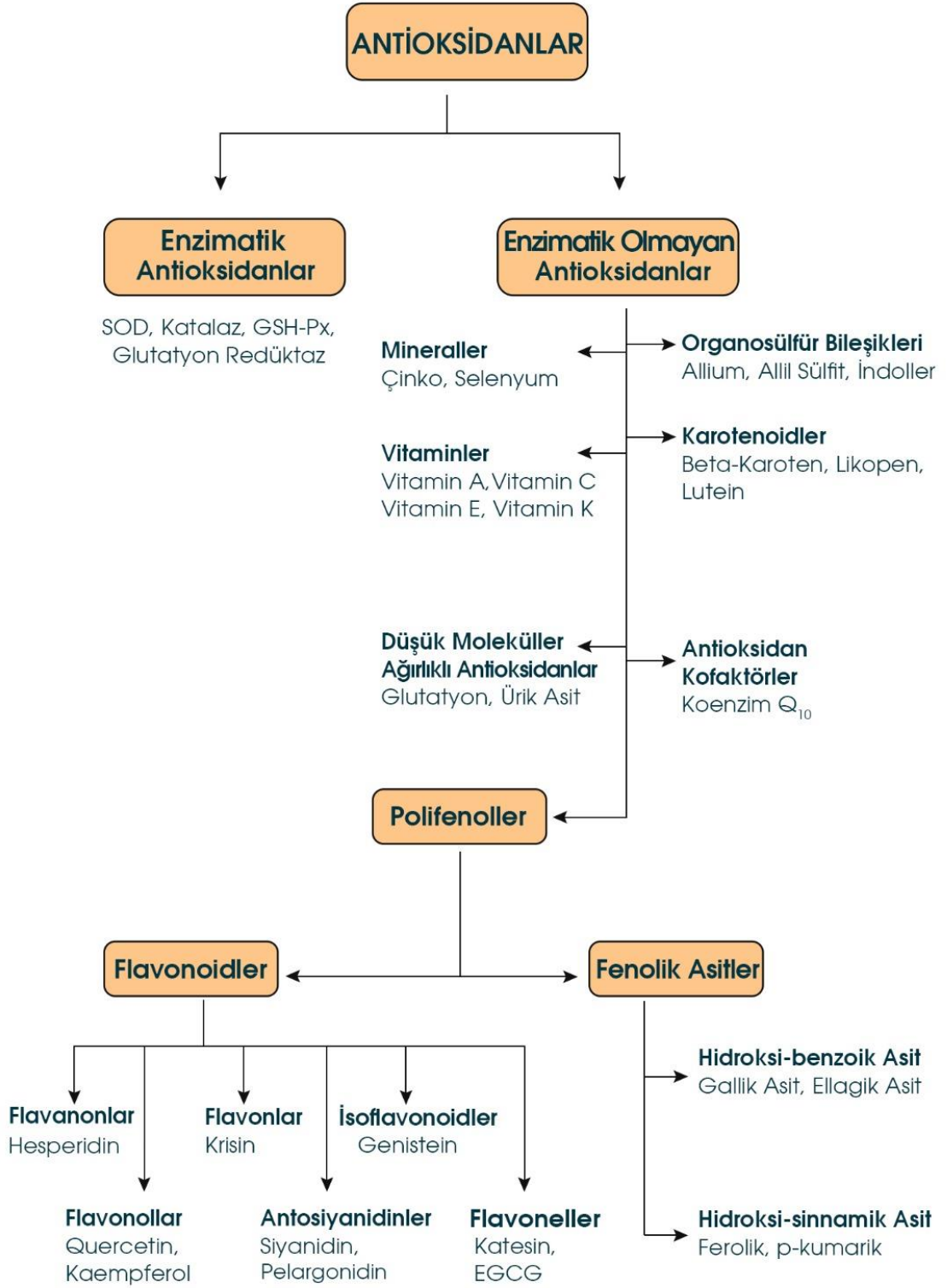
Yapısında fenolik bileşikler olan antioksidanlar, serbest radikal oluşumu ve bu ajanların meydana getirdiği rahatsızlıkları önleyen moleküllerdir [67]. Bu moleküllerin doğal olanları bitkilerin tohum, gövde ve yapraklarında oluşabilen; vitamin, flavonoid, karetenoid, glutatyonin, endojen ve fenol metabolitleridir. Bitki kökenli bu doğal antioksidanlar; serbest radikal giderici, enzim inhibitörü, peroksit parçalayıcı olarak görülmektedirler [68]. Sıralanan bu doğal antioksidanların arasında en önemlileri fenollerdir. Bu değerli bileşik; zincir reaksiyon oluşumunu önleme, birincil serbest radikal ajanları tutma, metal iyon katalizörleri bağlama ve singlet oksijeni tutma özelliği göstererek oksijen derişimini azaltma gibi çok önemli görevler üstlenmektedirler [69].



Şekil 1.1: Antioksidanların elektron transferi ile serbest radikali nötralize etmesi [70]

Çok miktarda antioksidan içeren meyve ve sebze tüketiminin hastalıklarla yüz yüze gelme riskini azaltıp, kanser, kalpdamar hastalıkları ve hatta ölüm oranlarında ciddi bir azalış sağladığı rapor edilmiştir [71].

Okside olma özelliği olan maddelerin okside olabilme hızını azaltan ya da sürecin başlangıcını geciktirebilen antioksidanların sentetik olanları, gıdaların depolanma sürecini uzatma amacı ile endüstriyel alanda sıklıkla kullanılmaktadırlar. Fakat bu yapay antioksidanların olası toksik ve kanserojen etki özelliklerinden ötürü kullanımları sınırlı hale getirilmiştir. Bu nedenle, sentetik antioksidanların yerini alabilecek doğal antioksidanlara olan talep gün geçtikçe artmaktadır [10].



Şekil 1.2: Antioksidanların Sınıflandırılması

1.4. Genotoksisite

Her türlü canlının kendine özgü genetik yapısında, gen rekombinasyon olayından hariç farklı nedenlerle aniden meydana gelen genetik değişiklikler yaşanabilir. Mutasyon olarak tanımlanan bu olay, kendiliğinden oluşabildiği gibi, mutajen veya genotoksin adı verilen kimyasal veya fiziksel ajanların etkisi ile de meydana gelebilir [72, 73].

Normal şartlar altında DNA'daki genetik bilgi, rekombinasyon sonrasında kendinden sonraki nesle aktarılmaktadır. Bu aktarım esnasında genotoksinler ile etkileşime geçen DNA'nın yapısında bozulmalar meydana gelmektedir [28]. Genotoksinlerin genetik materyal olan DNA ve RNA üzerinde yarattığı hasara genotoksik etki veya genotoksisite denilmektedir. Meydana gelen hasarlara örnek olarak; gen mutasyonları, kromozom anomalileri, çekirdek ve kromozomda ortaya çıkan DNA eklentileri, alkali labil bölgeler (ALS), çift zincir kırıkları (DSB) ve tek zincir kırıkları (SSB) verilebilir. Genetik materyalde oluşan bu hasarlar DNA tarafından tamir edilmeye çalışılır. Hasar onarımı yapılamadığı durumda, yaşlanma, doku hasarı, kanser, mutasyon ve infertilite oluşabilir [27, 74, 75].

1927 yılında Muller, *Drosophila melanogaster* ve X ışınları ile ilgili bir deney yapmıştır. Deney sonrasında X ışınlarının standart mutasyon oranını 15 bin kat arttırdığı tespit edilmiştir. Muller'in bu araştırması genotoksisite bilim dalının başlangıcı olmuş ve gelişim gösteren teknolojinin katkıları ile günümüze kadar gelmiştir [76, 77].

Canlılar üzerinde olumsuz etki meydana getiren ve bu etki sonrasında mutasyona neden olan fiziksel ve kimyasal maddelerin belirlenmesi amacı ile birçok test sistemi geliştirilmiştir. Günümüzde oldukça fazla kullanılmakta olan bu test yöntemleri, bileşiklerin genotoksik etkisinin tespitini yapmaktadır. En çok da kimyasallar, çevre kirliliği ve ilaçlar ile oluşan zehirlerde bu test yöntemleri tercih edilmektedir. Fakat yapılan bu testler çoğunlukla yeterli olmaz. Ek olarak akut ve kronik toksisite yöntemleri, antioksidan aktivite ve alerjik testlere de başvurulabilir [78].

Kimyasal maddeler günümüzde başta tarım olmak üzere hemen her alanda kullanıma sunulmuştur. Yaygın kullanım alanına sahip bu kimyasal maddelerin, genom üzerinde

mutasyon oluşturup oluşturmayacağı bilgisi önem taşımaktadır. 1970'lerde kromozom ve gen fonksiyon tespitinde kimyasal mutagenез önemli bir rol almıştır. Robson ve Auerbach 20. yy. (yüzyıl)'da çeşitli kimyasalların *Drosophila melanogaster* üzerinde mutasyon yarattığını bulmuştur. Bu buluş ile genetik toksikoloji ilgi kazanmıştır. Fakat bu test sonuçları bakımından güvenilir olmayıp, duyarlılığı da düşüktür. Bu nedenle test, mutajenite izleminde kendine yer bulamamıştır. 1950 yıllarında *Escherichia coli* üzerinde süspansiyon ve baz değişimine karşı duyarlı olan plaka testleri uygulanmıştır. Araştırma sonrasında uygulanan yöntemin, kalıp kaymasına neden olan mutajenlerin tespitini yapamadığı görülmüştür. Bruce Ames 1971' de spot test yöntemini geliştirmiş ve ames test yöntemini keşfetmiştir. Bakteriyel mutajenite test yöntemi olan ames testinin buluşu ile birlikte birçok test sistemi geliştirilmiştir. Bunlar; memeli hücreleri üzerinde kromozom aberasyon (CA) test yöntemi, gen mutasyon testi, kardeş kromatid değişimi (SCE) testi, mikronükleus testi (MN), kromozomal aberasyon (CA), comet assay testi ve kemik iliği aberasyon test yöntemi gibi test sistemleridir [27, 75, 79, 80]. Schmid' in bulup sonrasında geliştirdiği kemik iliği mikronükleus testi zamanla bu test yöntemlerinin yerini almıştır [81].

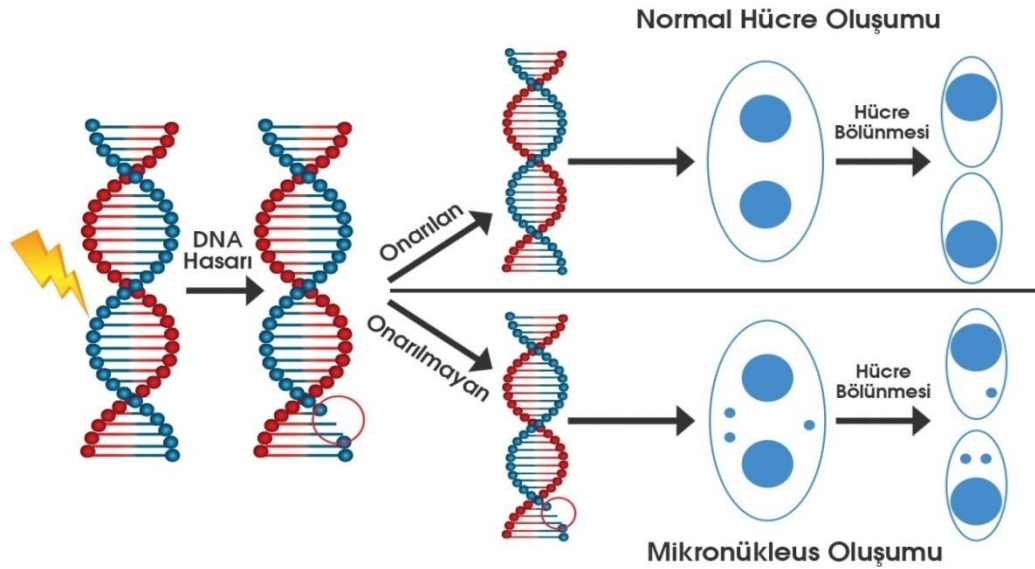
Genetik toksisite test yöntemlerinde ilk olarak hedeflenen DNA'dır. Bu nedenle test sonuçları insan sağlığı açısından değerli tahmin oluşumuna katkı sağlar. Öyle ki, bir kimyasal maddenin bir türün DNA'sında hasar meydana getirmesi, aynı kimyasal maddenin başka türlerde de paralel etki gösterebilmesi mümkündür. Günümüzde mikroorganizma (MO), omurgalı hayvan, bitki ve böcekler üzerinde test edilebilecek, kısa süreli, 200'ü aşkın genotoksisite test yöntemi mevcuttur [82].

1.4.1. Mikronükleus (MN) Testi

Mikronükleuslar, hücre bölünmesi esnasında anafaz safhasında asentrik kromozomların veya kutuplara çekilemeyen kromozomların parçalarından, çeşitli ajanların yarattığı etki ile meydana gelmiş, ana çekirdeğin dışındaki nuklear kökenli fragmentlerdir [83, 84]. İlk kez Howell tarafından 1886'da anemiye sahip kedilerin eritrositlerinde mikronükleus oluşumu gözlenmiştir. Howell'ın çalışmaları 1907'de Jolly tarafından desteklenmiştir. Bu durumdan ötürü mikronükleuslar "Howell-Jolly cisimcikleri" olarak da adlandırılmaktadırlar [85].

Anöploidiyi aktifleştiren ajanlar, iğ ipliklerinde fonksiyon hasarını ve sentromerde yaşanan bölünmedeki birtakım bozuklukları beraberinde getirmektedir. Meydana gelen bu hasarlar mikronükleus oluşumunu tetiklemektedir. Mikronükleus sayısının artışı ile bazı ajanlar tarafından hücrede gerçekleşen sayısal ve yapısal anomalilerden kaynaklı bozukluklar paralellik göstermektedir [86].

Telofaz safhası esnasında iğ ipliklerinde oluşan hasar dolayısıyla, geride kalmış olan kromozomların ve bu kromozomların parçalarının çevresinde nükleer yapıda bir zar oluşmaktadır. Meydana gelen bu nükleer zar yapısının çekirdekten küçük olması nedeniyle, yapı mikronükleus adını almaktadır. Bu küçük yapılar, kromozomda oluşan kırılma ve kayıpları öğrenebilmemiz için bize ışık olan önemli birimlerdir. Hücre döngüsünün binükleer safhasında, çekirdek bölünmesi sonlandıktan sonra meydana gelen mikronükleusları görmek mümkündür [87].



Şekil 1.3: Mikronükleus Taşıyan Bir Hücrenin Oluşum Aşamaları

Mikronükleus, sitoplazmada bir nükleoplazma ile birlikte ana nükleusun yanında bulunmaktadır. Organizmaların karsinojenik, klastojenik ve mutajenik ajanlarla etkileşimi sonucunda DNA üzerinde meydana gelen hasarlar, MN oluşumunu sağlamaktadır. Kısaca; MN oluşumu = DNA hasarı göstergesidir [88].

Mikronükleus testi; *in vivo* ve *in vitro* şeklinde değerlendirilebilen, birtakım kimyasal ve fiziksel maddelerin neden olduğu klastojenik ve anöjenik etkilerin tespitinde kullanılan, genotoksisite test yöntemlerinden biridir. MN test yöntemi 1950'lerde ilk kez bitki hücrelerinde meydana gelen kromozom anomalilerinin tespitinde kullanılmıştır [29]. MN test yönteminin geliştirilmesi ise 1976'da Heddle ve Countryman'ın X ışınlarının neden olduğu genotoksik etkiyi araştırması ile olmuştur. Heddle ve Countryman ilk kez kromozom anomalilerinin, periferal kan lenfositlerinde MN artışı yaşattığını savunmuşlardır [89].

Mikronükleus test yöntemi fazla sayıda hücre türüne uygun, ekonomik, kısa sürede uygulanabilen ve ekstra kültür işlemine gerek duymayan bir testtir. Bu özellikleri bakımından sitogenetik araştırmalarda ve genetik toksikoloji alanında çokça tercih edilmektedir. MN test yöntemi; kromozom kırığı, kromozom kaybı, nükleoplazmik köprüler, apoptosis, nekrosis, gen aplikasyonu ve hücre bölünmesinin inhibe edilmesinin morfolojik ölçütler kapsamında *in vivo* ve *in vitro* şartlarda değerlendirilmesi için kullanılmaktadır [90, 91].

1.4.1.1. Mikronükleus Sayımında Kullanılan Kriterler

Mikronükleus sayımında dikkat edilmesi gereken bazı kriterler bulunmaktadır. Bunlar;

1. MN içeren hücreler, nükleus zarı ile belirgin şekilde çevrilmiş, oval ya da yuvarlak yapıya sahip olmalıdır.
2. MN'nin çapının ana nükleusa oranı 1/3 ya da bu orandan küçük olmalıdır.
3. MN'ler belirgin bir şekilde ana nükleustan ayrı konumlanmış olmalı ya da nükleer sınır ile mikronükleer sınır birbirinden ayırt edilebilmelidir.
4. MN'ler ile ana nükleusun boya alma yoğunluğu eş değer olmalıdır [92-94].

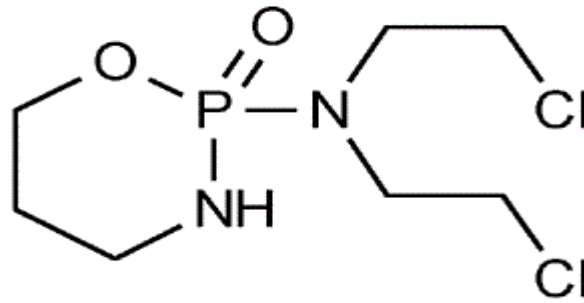
1.5. Siklofosfamid (CP)

Siklofosfamid, azotlu hardal (nitrojen mustard) türü olan alkilleyici özelliğe sahip ilaçlardan biridir. CP, moleküler formülü; $C_7H_{15}C_{12}N_2O_2P$, moleküler ağırlığı; 279.10 g/mol olan, kokusuz, ince beyaz kristal yapıdadır. CP'nin aktif metaboliti FAM

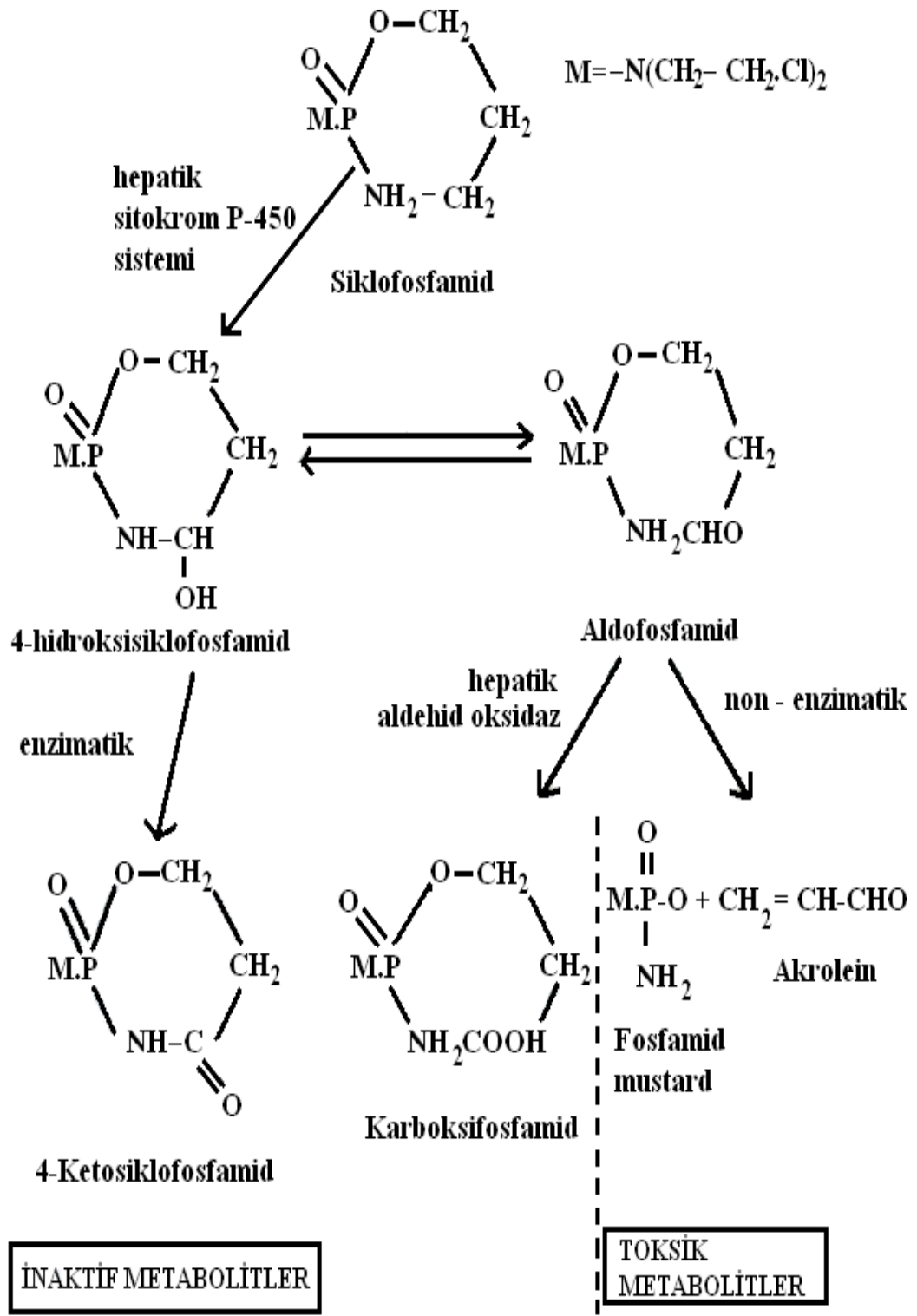
(fosforamid mustard)'dır ve CP karaciğerde bu yapıya dönüşerek etkili hale gelmektedir. Dönüşüm sonrası aktiflik kazanan CP, DNA'ya bağlanarak alkilleşir ve DNA transkripsiyonu ve DNA replikasyonunda hasar meydana getirmektedir [95, 96].

Siklofosfamid, DNA üzerinde genellikle guanin bazının yedi sayılı azot atomuna bağlanır. Bağlantı yerinin alkillenmesi, DNA molekülü üzerinde üç ayrı değişimden birine neden olur. Bunlardan ilki; guanin bazının yedinci azotunun alkillenmesidir. Böylelikle bir numaralı azot atomu asiditesinde artış meydana gelir [97, 98]. İkinci değişim; molekülde meydana gelen değişimden dolayı guanin bazı sitozin bazının yerine timin ile baz çifti oluşturmaya sevk edilir. Sonuç olarak alkilleyicilerin moleküle bağlanması anormal baz çiftinin oluşmasına ve bununla birlikte genetik kodun yanlış okunmasına neden olur. Nihayetinde transkripsiyon ve replikasyon esnasında guanin bazı adenin gibi okunur ve onun gibi işlem görmek durumunda kalır [98]. Oluşan bu durum; guanin bazının imidazol halkasının açılmasına ve guanin bazının parçalanıp yok olmasına yol açar. Bunun sonucunda yeni DNA zincirinde önemli hasarlara sebep olur ve DNA zinciri bu noktadan kırılır. Üçüncü değişim ise; meydana gelen reaktif metabolit, iki ayrı zincir üzerindeki guaninlere çapraz bağlanır yani köprü oluşturur. Bu yüzden DNA transkripsiyonu ve DNA replikasyonu gerçekleşemez [97-99].

Siklofosfamid uygulaması ile ikincil kanserler arasında bir bağ olduğu belirtildiğinden dolayı; CP, insan karsinojeni sınıfına dahil edilmekte ve pro-ilaç olarak adlandırılmaktadır. Metabolik aktivasyonun yaşanmaması durumunda, alkilleyici ajan olarak ACR (acrolein) ve FAM rol almaktadır. Bu nedenden dolayı CP DNA'ya bağlanamamaktadır [100].



Şekil 1.4: CP'nin Kimyasal Yapısı [101]



Şekil 1.5: CP Kimyasal Yapı ve Metabolizması [102]

Siklofosfamid immunosüpresif özelliği sayesinde romatoid artrit, sistemik lupus eritematosuz, multipl skleroz gibi hastalıkların tedavisinde ve organ transferlerinde kullanılmaktadır. CP organ transplantasyon işlemlerinde tolerasyonu geliştirme görevi üstlenmiştir. Kemoterapi tedavisinde ise antikanser ilaçlarla kombin yapılarak veya tek başına kullanılmaktadır [31]. Klinik kullanımda geniş bir yelpazeye sahip olan CP akut-kronik lösemi, lenfoma, multiple myelom, nefrotik sendrom, Behçet hastalığı ve birçok otoimmün hastalıklarında tedavi amacıyla tercih edilmektedir [103].

Lenfositler CP'den en çok etkilenen hücrelerdir. Lenfositlerde gözlemlenen işlev ve sayı değişikliği bağışıklık sisteminin baskılandığını göstermektedir. Yüksek doz kortikosteroidler bağışıklığı baskılayan ilaç grubudur. CP bu ilaç grupları ile birlikte kullanıldığı zaman bağışıklığı baskılamakta ve enfeksiyon riskini arttırmaktadır [104].

Kendisine klinikte geniş bir kullanım alanı bulan CP, insan ve deney hayvanları hücrelerinde sitotoksik bir etki yaratmaktadır. CP kullanan insanlarda, tıbbi endikasyonun yaşandığı çeşitli durumlarda, ikinci bir kanser vakasının oluşma olasılığının yüksek olduğu düşünülmektedir [105, 106].

Siklofosfamidin yan etkileri ilk kez 1960'da bildirilmiştir. Kusma, bulantı, diğer bazı gastrointestinal hastalıklar ve kemik iliği depresyonu CP'nin önemli belirtilerindendir. Kemik iliği depresyonu; trombositopeni, alopesi ve lökopeni gibi bazı hastalıkları da beraberinde getirmektedir. Ayrıca deney hayvanları ve insanlarda görülen mesane kanseri, CP'nin neden olduğu bir hastalık olarak görülmektedir [32]. CP'nin kendisinin ve metabolitlerinin klinikteki kullanımı sonrasında yarattıkları yan etkilerden dolayı, CP kullanımına önemli bir sınırlandırma getirilmiştir [107].

2.MATERYAL VE METOT

2.1. Materyal

2.1.1. Hayvan Materyali

Kafkas Üniversitesi Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu tarafından 2019/133 sayılı izin ile çalışma onayı alındı.

Çalışma esnasında 12 haftalık, ağırlıkları 32-47 gram arasında değişen, *Mus musculus* cinsi albino fare kullanıldı. Mikronükleus analizinin yapılması amacıyla çalışmada farelerden toplam 48 adet kullanıldı. Fareler standart hayvan koşullarına uygun bir şekilde, 121 °C'de otoklave edilebilen ve polikarbon malzemelerden üretilmiş olan kafeslerde 8'li gruplar halinde konumlandırıldı. Su ve yem ihtiyaçlarının ad libitum olması sağlanarak, fareler distile su ve normal fare yemi ile beslendi. Fareler 20 ± 2 °C sıcaklığa ve % 50 bağıl neme sahip, 12 saat aydınlık ve 12 saat karanlık ışık periyodu olan laboratuvar ortam ve koşullarında barındırıldı. Farelerin günlük ağırlıklarına göre çalışmada kullanılacak maddelerin dozları belirlendi. Maddeler distile su ile çözülüp, oral gavaj ve intraperitoneal (i.p.) yöntemler ile farelere verildi.

2.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Çözeltiler

Siklofosfamid (CP)

Çalışmada siklofosfamid pozitif kontrol olarak kullanıldı (Sigma Aldrich USA, 314-771-5765).

Sorenson Tampon (Sorensen Buffer) Çözeltisi

Sorensen tamponu iki stok çözelti halinde hazırlandı; eriyik tampon A ve tampon B şeklinde. Farklı miktarlarda birbirleriyle karıştırılıp hazırlanan sorensen tamponu cam kaplarda ağzı kapalı şekilde, oda sıcaklığı şartlarında muhafaza edildi.

Tampon A: 250 ml saf su içerisinde, 11.34 g KH₂PO₄ (Mono Potasyum Fosfat) çözdürüldü (pH= 4.80).

Tampon B: 250 ml içerisinde, 14.83 g Na₂HPO₄.12 H₂O (Disodyum Hidrojen Fosfat) çözdürüldü (pH= 9.30).

Giemsa

Çalışmada sorensen tamponu içerisinde hazırlanan % 20'lik boya eriği şeklinde giemsa (Sigma, Cat. No: 51811826) boyası kullanıldı. % 20'lik giemsa boyası; 5 ml tampon A, 5 ml tampon B, 70 ml distile su ve 20 ml giemsa boyası ile hazırlandı.

May Grünwald

May Grünwald boyası (Mediko Kimya, Cat. No: 25010231000) mikronükleus preparatlarının boyanması aşamasında kullanıldı. May Grünwald boyası, sorensen tamponu içerisinde % 0,25 ve % 0,125'lik oranlarda hazırlandı.

Eter (Dietyl Eter, Etoksietan)

Düşük kaynama noktası ve kendine özgü kokusu olan eter, dietyl eter veya etoksietan (Merck, Cat. No: 100926) olarak da adlandırılmaktadır. Bu organik çözücünün kimyasal formülü; $C_4H_{10}O$ ($C_2H_5OC_2H_5$), molekül ağırlığı ise 74.12 g/mol'dür. Yaptığımız deneyde anesteziik etki oluşturmaları için, servikal dislokasyon öncesinde farelere eter uygulandı.

Etanol (Ethanol, Etil Alkol)

Ekstraksiyon işleminde ekstraksiyon çözücüsü olarak 650 ml etanol (Merck, CAS-No 64-17-5) kullanılmıştır.

Entellan

Çalışmada lam ile lameli birbirine yapıştırarak, preparatların kullanım ömrünü daimi hale getiren entellan solüsyonu (Merck, Cat. No: 107961) kullanıldı.

2.1.3. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları

Hassas Terazi

Çalışmada tarhun yaprağı ve kimyasalların tartım işlemleri, 0,0001 gr hassasiyete sahip olan PRECİSA XB 220 A marka hassas terazi kullanılarak yapıldı.

Santrifüj

Santrifüj işlemleri, ELEKTRO-MAG marka, 8 tüp kapasiteli, devir hızı 5000 rpm'ye kadar çıkabilen ve 20 dakikalık zamanlayıcı ayarı olan cihaz ile yapıldı.

Mikroskop

Çalışmalarda hazırlanan preparatları incelemek için koordinat cetveline sahip ve fotoğraf makinesi ile kamera monte edilebilen Olympus CX21 marka binoküler ışık mikroskobu kullanıldı.

Etüv

Deney esnasında bazı eriyiklerin 37 °C'ye ısıtılmasında, 0 °C ile 100 °C arasında ayarlama yapılabilen Elektro-mag M 420 Bp marka etüv kullanıldı.

2.1.4. Tarhun Bitkisinin Uçucu Yağ Analizi

Tarhun yaprak ekstraktının uçucu yağ bileşenlerinin ve bu bileşenlerin bağlı yüzdelерinin tayin edilmesi için, kurutulmuş 40 gr tarhun bitkisi Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'ne gönderildi. Merkezde Gaz Kromatografisi (GC) yöntemi ile yağ analizi yapıldı. Yapılan analiz sonucunda elde edilen sonuçlar Tablo 2.1'de gösterilmiştir.

Yöntem

Örnek maddenin uçucu yağının bileşenlerinin tanımlanması için Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi, bağlı yüzdelerin belirlenmesi için ise Gaz Kromatografisi yöntemi kullanılmıştır.

Numune Hazırlama

Hekzan ile hazırlanan (% 10 h/h) örnek 40:1 split oranı ile 1 µL olarak sisteme enjekte edilmiştir.

Gaz Kromatografisi (GC) Şartları

Sistem: Agilent 7890B GC System

Kolon: Agilent HP-Innowax (60 m × 0.25 mm iç çap × 0.25 µm film kalınlığı)

Dedektör: Alev İyonlaşma Dedektörü (FID)

Enjeksiyon Sıcaklığı: 250°C

Dedektör Sıcaklığı: 250°C

Sıcaklık Programı: 60°C (10 dk), 4°C/dk. 220°C (10 dk) 1°C/dk 240°C Toplam 80 dk

Taşıyıcı Gaz: Helyum (0.7 mL/dk)

Gaz Kromatografisi/Kütle Spektrometresi (GC/MS) Şartları

Sistem: Agilent 7890B GC 5977B Mass Selective Dedector System

Kolon: Agilent HP-Innowax (60 m, 0.25 mm iç çap, 0.25 µm film kalınlığı)

Enjeksiyon Sıcaklığı: 250°C

İyon Kaynağı Sıcaklığı: 230°C

İyonizasyon Modu: EI

Elektron Enerjisi: 70 ev

Kütle Aralığı: 35- 450 m/z

Sıcaklık Programı: 60°C (10 dk), 4°C/dk. 220°C (10 dk) 1°C/dk 240°C, Toplam 80 dk

Taşıyıcı gaz: Helyum (0.7 mL/dk)

Tanımlamalar: Wiley 9-Nist 11 Mass Spectral Database [108]

2.1.5. Genotoksisitenin Araştırılması

2.1.5.1. Çalışmada Kullanılan Ekstraksiyon Tekniği

Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Yaprak Ekstraktı

Çalışmada kullanılan tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Bayburt ili Yerlice Köyü'nden haziran ayında toplandı. Bitki mevsiminde ve taze olarak laboratuvar ortamına ulaştırıldı. Kafkas Üniversitesi Botanik Anabilim Dalı uzmanları tarafından teşhis edildi. Bitkinin yaprak kısımları alınarak güneş görmeyen ve hava sirkülasyonuna sahip olan alanda kurutuldu. Tamamen kurutulan bitki yaprakları öğütücü yardımı ile öğütüldü. Ekstraksiyon çözücüsü ile yıkanan soxhlet cihazı kartuşunun içerisine 40 gram öğütülmüş yaprak örneklerinden alınarak konuldu.

Tarhun yaprak örneğini içeren kartuş 500 ml'lik soxhlet ekstraktörü içerisine yerleştirildi. Kaynama balonuna ekstraksiyon çözücüsü olarak 650 ml etanol konuldu.

Yaklaşık olarak 7.30 saat süre ile çözücü berrak hale gelinceye kadar 7-10 kez sifon edilerek ekstrakte edildi. 7.30 saatin sonuna gelindiğinde sıvı ekstrakt elde edildi. Sıvı ekstrakt içerisinde bulunan partiküller, mavi band süzgeç kağıdı kullanılarak uzaklaştırıldı. Partiküllerinden arınan ekstrakt örneğindeki çözücüler, 35-45 °C'de rotary evaporatör ile uçuruldu. Balon içerisinde geriye kalan tarhun yaprak ekstraktı, desikatörde 12 saat süre ile bekletildi. Çok dikkatlice, çözücüsünden tamamen ayrılmış olan tarhun yaprak ekstraktı 0,1 mg olacak şekilde hassas terazide tartıldı. Sonrasında numune ekstrakt kutusuna konularak, yapılacak olan çalışma için +4 °C'de muhafaza edildi [109].



(a)



(b)

Resim 2.1: (a) Kurutulmuş Tarhun Yaprakları, (b) Toz Haline Getirilmiş Tarhun Yaprakları



(a)



(b)

Resim 2.2: (a) Ekstraksiyon İşlemi, (b) Evaporatör ile Çözütünün Uzaklaştırılması İşlemi

2.1.5.2. Deney Grupları

1. GRUP (n:8): Negatif kontrol. Diğer gruptaki fareler ile aynı stresi yaşamaları için, bu gruptaki farelere 14 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile verildi. 15. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

2. GRUP (n:8): 50 mg/kg siklofosfamid (CP). Bu gruptaki farelere 14 gün boyunca distile su oral gavaj yol ile verildi. Farelere 50 mg/kg siklofosfamid 14. gün intraperitoneal yol ile verildi. 15. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı. (CP'nin 24 saatlik etkisine bakıldı).

3. GRUP (n:8): 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı. Bu gruptaki farelere 75 mg/kg tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) yaprak ekstraktı 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. 15. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

4. GRUP (n:8): 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı. Bu gruptaki farelere 150 mg/kg tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) yaprak ekstraktı 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. 15. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

5. GRUP (n:8): 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + CP. Bu gruptaki farelere 75 mg/kg tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) yaprak ekstraktı 14 gün boyunca oral gavaj yol ile verildi. 14. günün sonunda 50 mg/kg dozda CP intraperitoneal yol ile verildi. 15. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

6. GRUP (n:8): 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + CP. Bu gruptaki farelere 150 mg/kg tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) yaprak ekstraktı oral gavaj yol ile 14 gün verildi. 14. günün sonunda 50 mg/kg dozda CP intraperitoneal yol ile verildi. 15. gün eter anestezisi altında servikal dislokasyon yapıldı.

2.1.5.3. Mikronükleus Testi

Yapılan çalışmada mikronükleus testi için fare kemik iliği kullanıldı. İncelemede kullanılmak üzere hazırlanan preparatlar, ilk kez Schmid tarafından 1975 yılında geliştirilen kemik iliği preparat yöntemi ışığında yapıldı.

Öncelikle ilik için farelerden çıkarılan femur kemiği kaslarından tamamen temizlendi ve iki ucundan bistüri yardımı ile kesildi. Enjektör ile kemik içerisindeki ilik, 3 ml

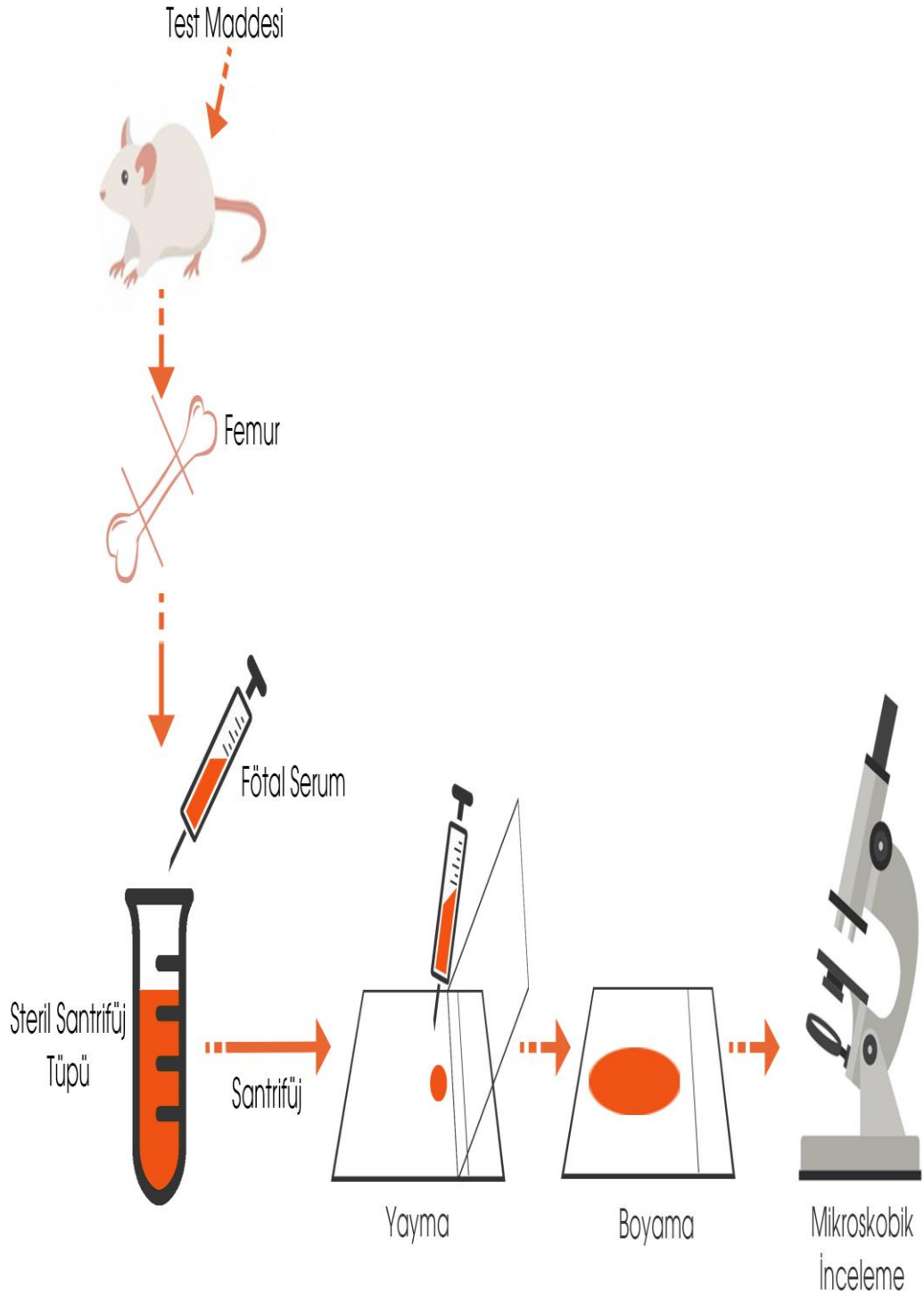
föetal dana serumu içeren santrifüj tüpüne aktarıldı. Tüpler 5 dakika boyunca 2000 rpm'de santrifüj edildi ve sonrasında süpernatantları pasteur pipetle alınarak atıldı. Sonrasında tüp içerisine bir damla föetal dana serumu eklendi ve hücreler süspanse edildi. Tüplerden birer damlalık örnekler alındı ve temiz lamlara yayıldı. Yayma işleminden sonra havada kurutulan preparatlar, 10 dakika boyunca metil alkolde fikse edildi [81].

Boyama İşlemi

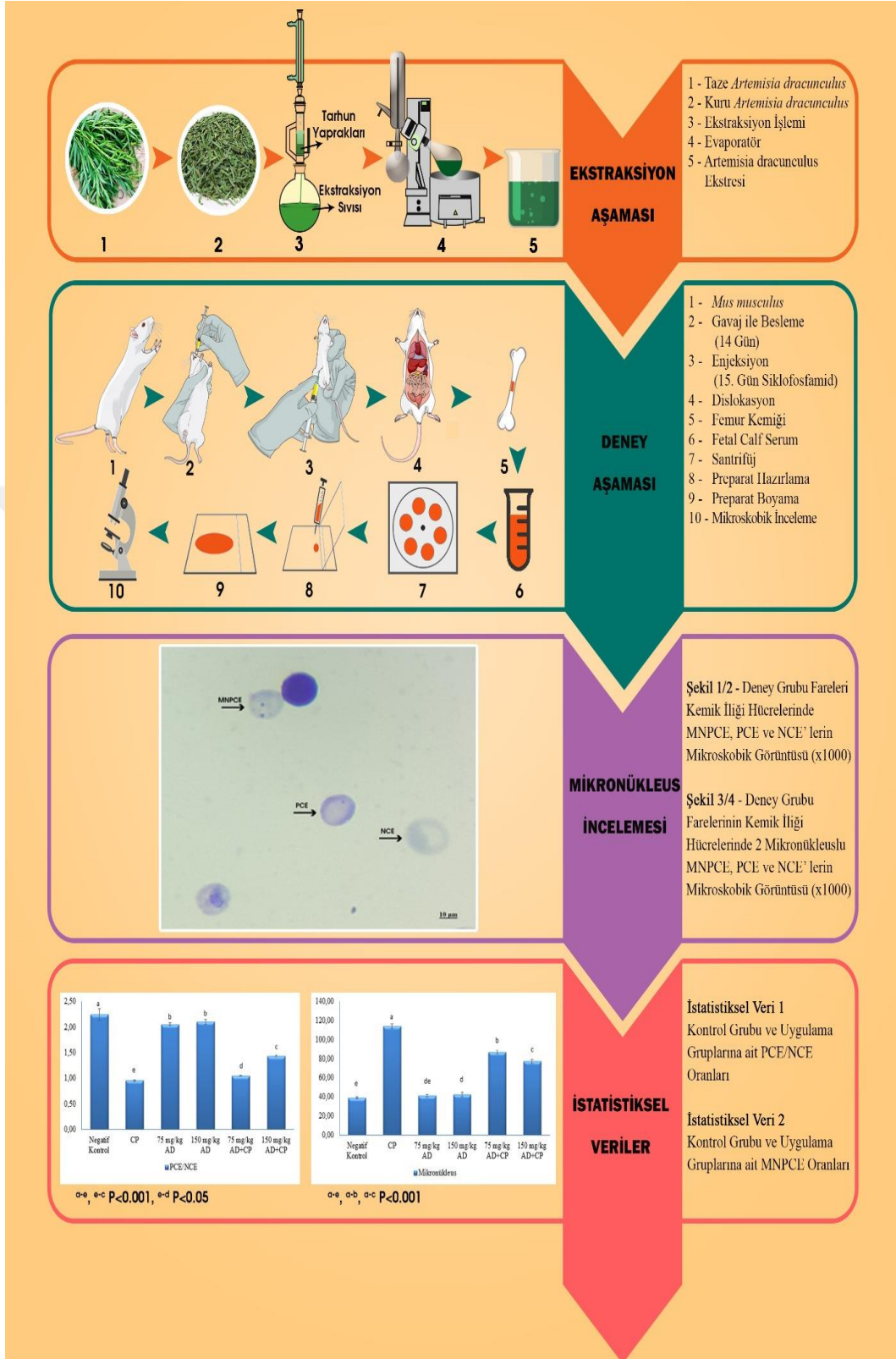
Preparatlar fikse edildikten sonra, ilk olarak % 0.25'lik May Grunwald boyası ile 5 dakika boyunca boyandı ve saf su ile yıkandı. Sonrasında preparatlar % 0.125'lik May Grunwald boyası ile tekrar 5 dakika boyunca boyanıp, saf su ile yıkandı. Son olarak % 20'lik Giemsa boyası ile 30 dakika boyunca boyanan preparatlar, saf su ile yıkandı oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı. Boyanıp kuruyan preparatlar daimi olmaları için etellan ile kapatıldı. Hazırlanan preparatların incelenmesi, Olympus CX21 marka ışık mikroskobu kullanılarak yapıldı. İmmersiyon objektifinde (1000'lik büyütme) her deney grubundan gelişigüzel 2000 adet polikromatik eritrosit (PCE) hücre sayıldı. Mikronükleuslu polikromatik eritrosit (MNPCE) içeren hücreler sayılarak, MNPCE oranları belirlendi. Bunlara ek olarak 1000 adet normokromatik eritrosit (NCE) ve PCE sayılarak, PCE/NCE yüzdeler oranları tespit edildi.

İstatistik Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Çalışmadan elde edilen verilerin istatistiksel analizleri için SPSS 22 paket programı kullanıldı. Kontrol ve deney grupları arasındaki farklılığın belirlenmesi için, tek yönlü varyans analizi (One-Way ANOVA) yapıldı ve $p < 0.05$ istatistiksel olarak önemli kabul edildi.



Şekil 2.1: *In vivo* Mikronükleus Test Protokolü



Şekil 2.2: Çalışmanın Grafıksel Abstraktı

3. BULGULAR

Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi'nde yapılan Gaz Kromatografisi yöntemi ile bitkinin uçucu yağ bileşenleri ve bunların bağıl yüzdeleri belirlendi (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: *Artemisia dracunculus* Uçucu Yağının Bileşimi

No	Bileşik*	Bağıl yüzde (%)
1	Estragol	67,7
2	(Z)- β -Osimen	5,5
3	(E)- β -Osimen	5,1
4	Spatulenol	4,5
5	Limonen	3,9
6	Metil öjenol	2,0
7	α -Pinen	1,4
(* \geq % 1)Toplam		90.1

3.1. Kontrol ve Deney Gruplarının Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Frekansı Üzerindeki Etkileri

Onkolojide tümör tedavisinde kullanılan, alkilleyici etkiye sahip ve toksik özellik sergileyen siklofosfamidin, antioksidan etki gösteren *Artemisia dracunculus* (tarhun) yaprak ekstraktının *Mus musculus* var. *albinos* cinsi dişi fare kemik iliği hücrelerinde sitotoksik etki yaratıp yaratmadığının tespiti için her bir grupta 8 fare olmak üzere toplam 6 grup (48 fare) oluşturuldu.

Gruplar; 1. grup negatif kontrol, 2. grup siklofosfamid CP (50 mg/kg, i.p.), 3. grup 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı, 4. grup 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı, 5. grup 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + CP (50 mg/kg, i.p.), 6. grup 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + CP (50 mg/kg, i.p) şekilde oluşturuldu.

14 gün boyunca oral gavaj yol ile; negatif kontrol grubuna distile su, 75 mg/kg ve 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubuna belirtilen miktarda tarhun yaprak ekstraktı

distile su ile sulandırılarak verildi. Servikal dislokasyondan 24 saat önce pozitif kontrol grubu olan CP grubuna, 75 mg/kg ve 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubuna 50 mg/kg oranında CP intraperitoneal olarak uygulandı.

Mikronükleus testi için gruptaki her bir fare için 3 adet kemik iliği preparatı hazırlandı. Mikronükleus frekansının belirlenmesi adına her bir hayvandan 2000 adet PCE (Polikromatik Eritrosit) sayımı yapıldı (Tablo 3.1).

Tablo 3.1: Kontrol ve Deney Gruplarının Mikronükleus Test Sonuçları

Gruplar	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE (%)	Grup Ortalaması	Toplam Eritrosit (PCE+ NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
Negatif Kontrol	16000	312	1,950	39,00	8000	5533	2467	2,24
50 mg/kg CP	16000	913	5,70	114,125	8000	3912	4088	0,95
75 mg/kg AD	16000	329	2,056	41,12	8000	5382	2618	2,05
150mg/kg AD	16000	338	2,106	42,25	8000	5422	2578	2,09
75 mg/kg AD + 50 mg/kg CP	16000	695	4,34	86,875	8000	4099	3901	1,04
150 mg/kg AD + 50 mg/kg CP	16000	617	3,85	77,125	8000	4719	3281	1,43

***PCE:** Polikromatik Eritrosit, **NCE:** Normokromatik Eritrosit, **MNPCE:** Mikronükleuslu Polikromatik Eritrosit.

PCE/NCE oranları açısından değerlendirme yapıldığında; negatif kontrol grubuna göre CP grubu değerlerinin oldukça düşük olduğu ($p<0.001$), CP ile birlikte 75 mg/kg AD yaprak ekstraktı uygulandığında ($p<0.05$) ve 150 mg/kg AD yaprak ekstraktı

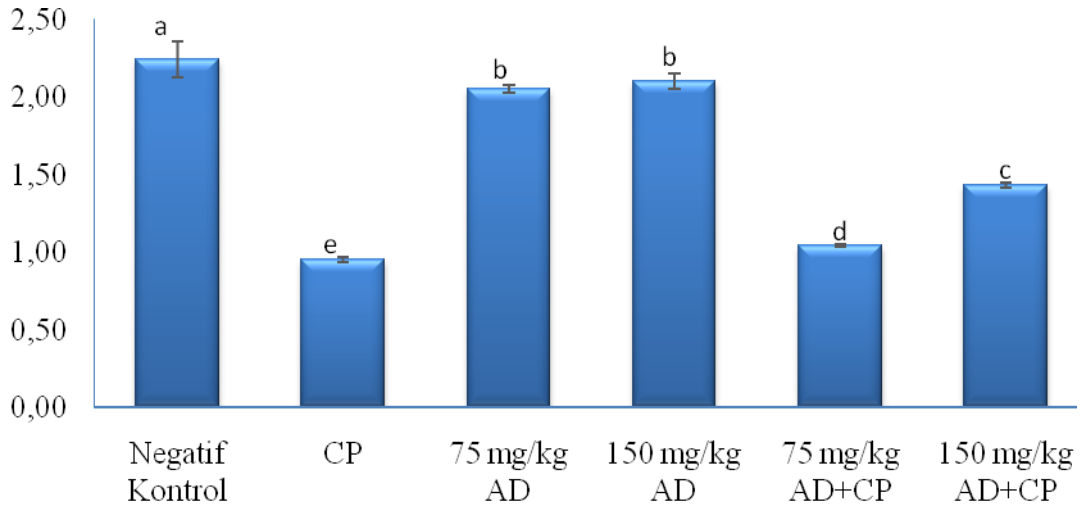
uygulandığında ($p<0.001$), CP grubuna göre PCE/NCE oranlarının azaldığı belirlenmiştir.

Mikronükleus sayılarının istatistiksel olarak değerlendirilmesi neticesinde; negatif kontrol grubu ile kıyaslama yapıldığında, CP uygulanan grubun MN sayısının negatif kontrol grubuna göre artış gösterdiği belirlenmiş ($p<0.001$), CP ile birlikte 75 mg/kg ve 150 mg/kg dozlarında AD yaprak ekstraktı uygulamasına bağlı olarak ise MN sayılarında CP grubuna göre oldukça önemli düzeyde azalma tespit edilmiştir ($p<0.001$).

Tablo 3.2: Kontrol ve Deney Gruplarına Ait Mikronükleus ve PCE/NCE Oranlarının İstatistiksel Sonuçları

Gruplar	NK	50 mg/kg CP	75 mg/kg AD	150 mg/kg AD	75 mg/kg AD+ 50 mg/kg CP	150mg/kg AD+ 50 mg/kg CP	P Değeri
PCE/ NCE Oranları	2,24 $\pm 0,11^a$	0,95 $\pm 0,02^c$	2,05 $\pm 0,03^b$	2,10 $\pm 0,05^b$	1,05 $\pm 0,01^d$	1,43 $\pm 0,02^c$	0.001
MNPCE Oranları	39,00 $\pm 1,31^e$	114,13 $\pm 2,47^a$	41,13 $\pm 1,55^{de}$	42,25 $\pm 2,25^d$	86,88 $\pm 1,81^b$	77,13 $\pm 2,03^c$	0.001

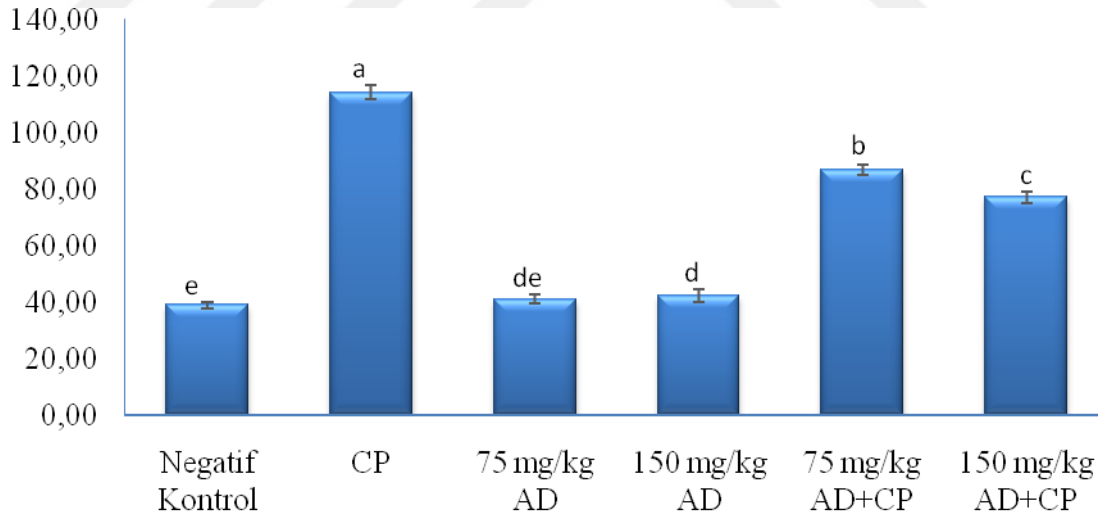
* Aynı satırdaki farklı harfler istatistiksel önemliliği ifade etmektedir.



■ PCE/NCE

^{a-e}, ^{e-c} $p < 0.001$, ^{e-d} $p < 0.05$

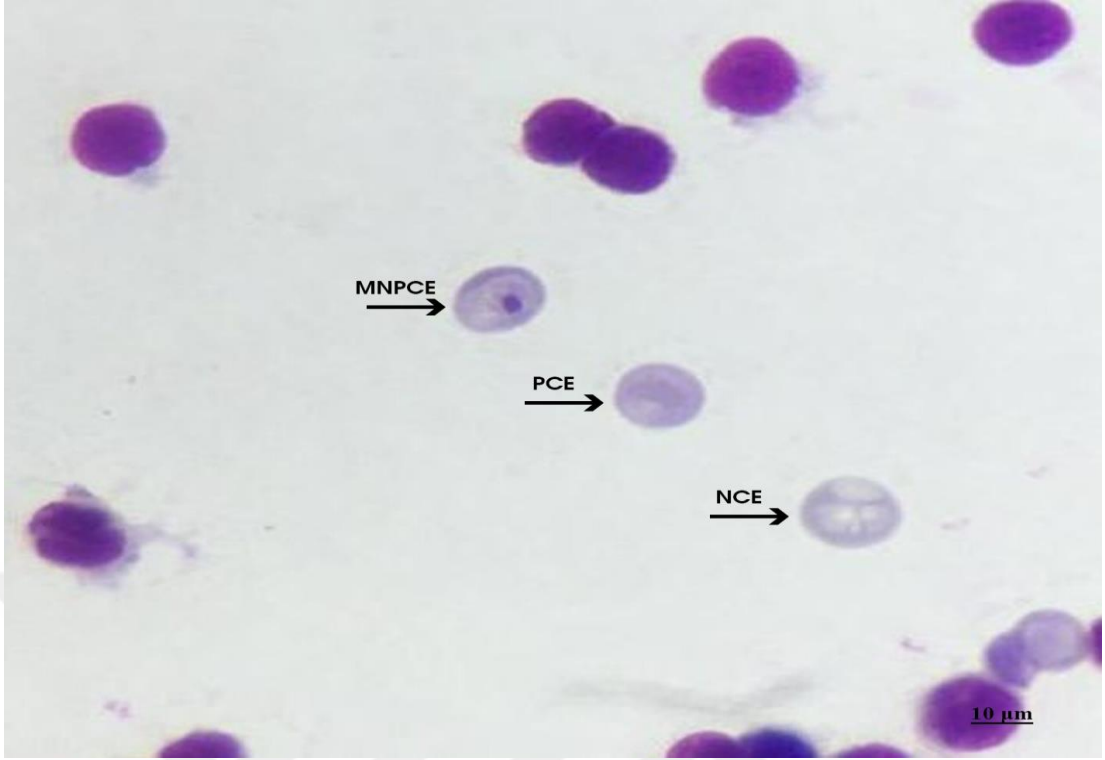
Şekil 3.1: Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait PCE/NCE Oranları



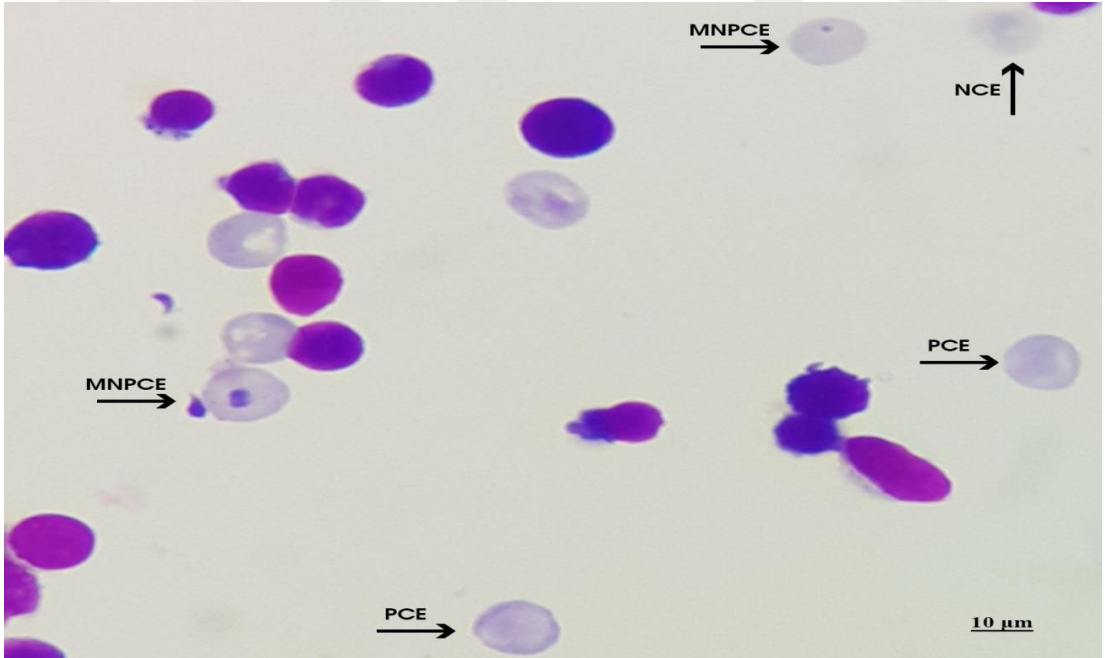
■ Mikronikleus

^{a-e}, ^{a-b}, ^{a-c} $p < 0.001$

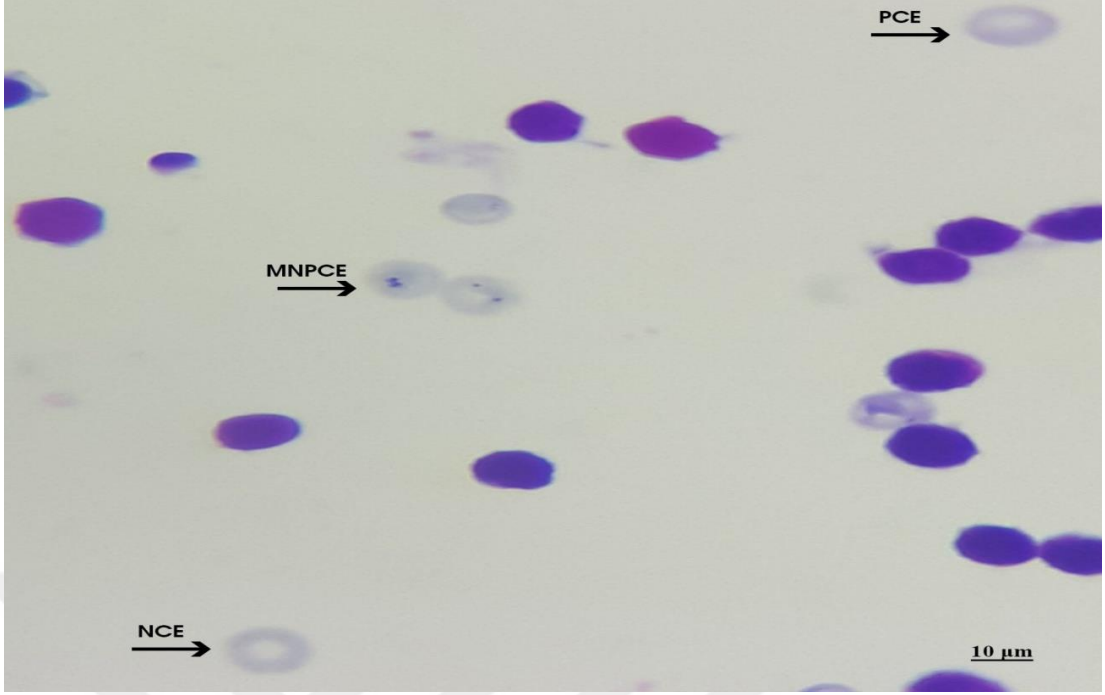
Şekil 3.2: Kontrol Grubu ve Uygulama Gruplarına ait MNPCE Oranları



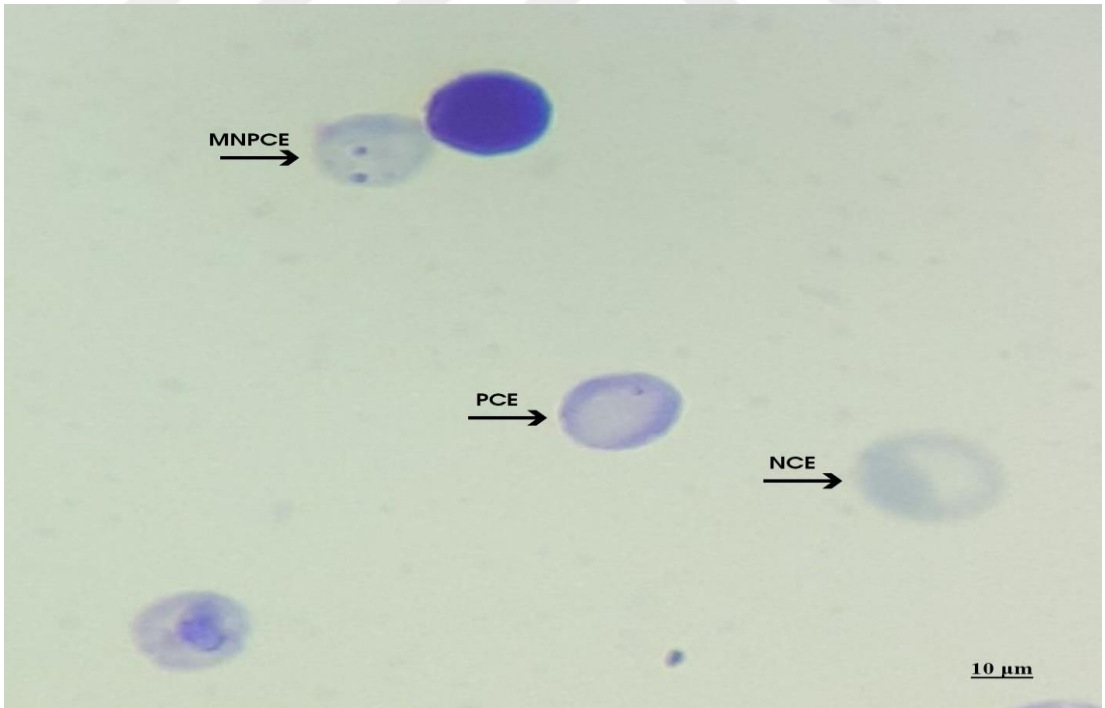
Resim 3.1: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$)



Resim 3.2: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$)



Resim 3.3: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde 2 Mikronükleuslu MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$)



Resim 3.4: Deney Grubu Farelerinin Kemik İliği Hücrelerinde 2 Mikronükleuslu MNPCE, PCE ve NCE'lerin Mikroskopik Görüntüsü ($\times 1000$)

3.1.1. Negatif Kontrol Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

15 gün boyunca negatif kontrol grubu farelerine oral gavaj yol ile distile su verildi. Gruptaki her hayvan için yapılan 3 adet kemik iliği preparatlarında PCE, NCE ve MNPCE sayımları yapılarak oranlar belirlendi. Kontrol grubunun mikronükleus oranları, Tablo 3.3'de gösterilmiştir.

Tablo 3.3: Negatif Kontrol Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

Negatif Kontrol Grubu							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	39	1,95	1000	698	302	2,31
2	2000	40	2,00	1000	707	293	2,41
3	2000	41	2,05	1000	703	297	2,36
4	2000	38	1,90	1000	678	322	2,10
5	2000	39	1,95	1000	680	320	2,12
6	2000	37	1,85	1000	686	314	2,18
7	2000	40	2,00	1000	696	304	2,28
8	2000	38	1,90	1000	685	315	2,17
Grup Ortalaması		39	1,95	Grup Ortalaması			2,24

3.1.2. 50 mg/kg Siklofosamid Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

Pozitif kontrol grubu olan CP grubuna, diğer gruptaki hayvanlar ile aynı stresi yaşamaları için 14 gün boyunca oral gavaj yol ile distile su verildi. Servikal dislokasyondan 24 saat önce intraperitoneal yol ile 50 mg/kg CP enjekte edildi. Grupta bulunan her hayvan için hazırlanan 3 adet kemik iliği preparatlarındaki sayımlar ile

PCE, NCE ve MNPCE oranları belirlendi. Pozitif kontrol mikronükleus oranları Tablo 3.4'de gösterilmiştir.

Tablo 3.4: Siklofosfamid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

Pozitif Kontrol (Siklofosfamid)							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	118	5,90	1000	487	513	0,94
2	2000	110	5,50	1000	485	515	0,94
3	2000	115	5,75	1000	495	505	0,98
4	2000	113	5,65	1000	493	507	0,97
5	2000	115	5,75	1000	491	509	0,96
6	2000	114	5,70	1000	483	517	0,93
7	2000	112	5,60	1000	492	508	0,96
8	2000	116	5,80	1000	486	514	0,94
Grup Ortalaması		114,125	5,70	Grup Ortalaması			0,95

3.1.3. 75 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubundaki hayvanlara 14 gün boyunca oral gavaj yol ile tarhun yaprak ekstraktı verildi. Grupta bulunan her bir hayvan için hazırlanan 3 adet kemik iliği preparatlarındaki sayımlar ile PCE, NCE ve MNPCE oranları belirlendi. 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubu için belirlenen mikronükleus oranları Tablo 3.5'de gösterilmiştir.

Tablo 3.5: 75 mg/kg Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Yaprak Ekstraktı Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

75 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	42	2,10	1000	675	325	2,07
2	2000	40	2,00	1000	673	327	2,05
3	2000	44	2,20	1000	674	326	2,06
4	2000	41	2,05	1000	678	322	2,10
5	2000	42	2,10	1000	669	331	2,02
6	2000	39	1,95	1000	671	329	2,03
7	2000	41	2,05	1000	670	330	2,03
8	2000	40	2,00	1000	672	328	2,04
Grup Ortalaması		41,125	2,05	Grup Ortalaması			2,05

3.1.4. 150 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubundaki hayvanlara 14 gün boyunca oral gavaj yol ile tarhun yaprak ekstraktı verildi. Grupta bulunan her bir hayvan için hazırlanan 3 adet kemik iliği preparatlarındaki sayımlar ile PCE, NCE ve MNPCE oranları belirlendi. 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubu için belirlenen mikronükleus oranları Tablo 3.6'da gösterilmiştir.

Tablo 3.6: 150 mg/kg Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Yaprak Ekstraktı Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	40	2,00	1000	672	328	2,04
2	2000	41	2,05	1000	670	330	2,03
3	2000	45	2,25	1000	685	315	2,17
4	2000	43	2,15	1000	677	323	2,09
5	2000	41	2,00	1000	680	320	2,12
6	2000	46	2,30	1000	681	319	2,13
7	2000	42	2,10	1000	675	325	2,07
8	2000	40	2,00	1000	682	318	2,14
Grup Ortalaması		42,25	2,10	Grup Ortalaması			2,09

3.1.5. 75 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı + 50 mg/kg CP Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubundaki hayvanlara 14 gün boyunca oral gavaj yol ile tarhun yaprak ekstraktı verildi. 15. gün (servikal dislokasyondan 24 saat önce) intraperitoneal yol ile 50 mg/kg CP enjekte edildi. Grupta bulunan her bir hayvan için hazırlanan 3 adet kemik iliği preparatlarındaki sayımlar ile PCE, NCE ve MNPCE oranları belirlendi. 75 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + 50 mg/kg CP grubu için belirlenen mikronükleus oranları Tablo 3.7’de gösterilmiştir.

Tablo 3.7: 75 mg/kg Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Yaprak Ekstraktı + Siklofosfamid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

75 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı + Siklofosfamid							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	90	4,50	1000	514	486	1,05
2	2000	85	4,25	1000	510	490	1,04
3	2000	87	4,35	1000	515	485	1,06
4	2000	86	4,30	1000	512	488	1,04
5	2000	87	4,35	1000	513	487	1,05
6	2000	89	4,45	1000	510	490	1,04
7	2000	85	4,25	1000	512	488	1,04
8	2000	86	4,30	1000	513	487	1,05
Grup Ortalaması		86,875	4,34	Grup Ortalaması			1,04

3.1.6. 150 mg/kg Tarhun Yaprak Ekstraktı + 50 mg/kg CP Grubu Fare Kemik İliği Hücrelerinde Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı grubundaki hayvanlara 14 gün boyunca oral gavaj yol ile tarhun yaprak ekstraktı verildi. 15. gün (servikal dislokasyondan 24 saat önce) intraperitoneal yol ile 50 mg/kg CP enjekte edildi. Grupta bulunan her bir hayvan için hazırlanan 3 adet kemik iliği preparatlarındaki sayımlar ile PCE, NCE ve MNPCE oranları belirlendi. 150 mg/kg tarhun yaprak ekstraktı + 50 mg/kg CP grubu için belirlenen mikronükleus oranları Tablo 3.8’de gösterilmiştir.

Tablo 3.8: 150 mg/kg Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Yaprak Ekstraktı + Siklofosfamid Grubu Farelerin Mikronükleus Test Sonuçları

150 mg/kg Tarhun (<i>Artemisia dracunculus</i> L.) Yaprak Ekstraktı + Siklofosfamid							
Örnek No	Toplam PCE	MNPCE	MNPCE Oranı (%)	Toplam Eritrosit (PCE+NCE)	PCE Sayısı	NCE Sayısı	PCE/NCE Oranı
1	2000	76	3,80	1000	590	410	1,43
2	2000	75	3,75	1000	584	416	1,40
3	2000	78	3,90	1000	591	409	1,44
4	2000	80	4,00	1000	588	412	1,42
5	2000	75	3,75	1000	592	408	1,45
6	2000	77	3,85	1000	595	405	1,46
7	2000	76	3,80	1000	589	411	1,43
8	2000	80	4,00	1000	590	410	1,43
Grup Ortalaması		77,125	3,85	Grup Ortalaması			1,43

4. TARTIŞMA VE SONUÇ

Artemisia dracunculus L. (tarhun), küçük çalı formunda, çok yıllık bir bitkidir. Tarhun, yüksek genotip ve fenotip çeşitliliğe sahiptir. Tarhunun, antiseptik, antimikrobiyal, antiparazitik ve antifungal etki mekanizmaları ortaya konmuştur. Ayrıca bitki, biyolojik aktivite açısından önem taşıyan; flavonoidler, uçucu yağlar, kumarinler ve fenolkarbonik asitler gibi zengin bir içeriğe sahiptir [110, 111].

Yemeklerde baharat olarak tüketilen tarhunun, alternatif tıptaki kullanım alanı oldukça geniştir. Antiseptik, antigenotoksik, antifungal etkilere sahip tarhun, geçmişten bugüne birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Tarhun bu özelliklerinin dışında, aromatik kokusundan dolayı sanayide parfüm yapımında da kullanılmaktadır [17, 112, 113].

Serbest radikallerin oluşumu yani oksidasyon, canlı metabolizmasında yaşanan doğal bir durumdur. Canlı vücudunda oksidanlar ile antioksidanlar denge durumdadır. Bu dengenin bozulması ve oksidan seviyesinin artması durumunda canlı organizma vücudu tehlike altına girer. Bunun nedeni ise; oksidan artışı ile DNA hasarı, kardiyovasküler hastalıklar, solunum bozuklukları, yaşlanma, diyabet, kanser ve buna benzer birçok hastalığın meydana gelmesidir. Ortaya çıkan bu hastalıklar doğrudan oksidan seviyesiyle alakalıdır. Bu ve benzer hastalıkların önlenmesi adına canlı vücudundaki oksidan ve antioksidan seviyelerinin dengesi korunmalıdır [114].

Sentetik antioksidanların genetik materyalde meydana getirdiği dejenerasyondan dolayı, son zamanlarda doğal antioksidanlara olan ilgide artış olmuştur. Canlı organizmalar üzerinde önemli yan etkileri bulunmayan doğal antioksidanların kullanımı, bu özellikleri bakımından gıda sanayisinde de her gün bir öncekine oranla artarak kullanılmaya devam etmektedir. Doğal antioksidanlardan bir tanesi de tarhun bitkisidir. Doğal antioksidan özelliğinin dışında tarhun antifungal ve antiseptik özellik de göstermektedir [46, 115, 116].

Son zamanlarda fiziksel ve kimyasal maddelerin DNA'da meydana getirdiği genotoksik etkileri en az seviyede tutabilmek için birçok çalışma yapılmıştır. Yapılan bu çalışmalar ile doğal bitkisel ürünlerin antigenotoksik etkilerinin araştırılması, doğal antioksidanların önemini arttırmıştır. [117].

İnsanoğlu, maruz kaldıkları mutajenlerin negatif etkilerine karşı, vücutlarında var olan doğal antioksidanlar ile korunmaktadırlar. Yaşın ilerlemesine bağlı olarak vücudumuzda var olan doğal antioksidanların üretiminde yavaşlama meydana gelmektedir. Bu sebepten ötürü insanlar dışarıdan antioksidan desteğine ihtiyaç duyarlar. Çeşitli antigenotoksik bileşiklerin kullanımı, canlıların vücudunda oluşan ve genotoksik ajanların neden olduğu DNA hasarlarının etkilerini en aza indirmek amacıyla arttırılmaktadır. Bu durumun, mutasyonların neden olduğu kanser ve bunun gibi hastalıklardan korunmak için önem taşıdığı bildirilmektedir. *Artemisia dracunculus* içeriğinde antioksidan aktivite özelliği olan bileşiklerin var olduğu, çeşitli *in vivo* çalışmalar ile belirlenmiştir. Polifenol olarak bilinen bu faydalı antioksidanlar, vücudumuzda bulunan serbest radikallere karşı güçlü bir savunma sistemidir [12, 118-120]. Bu çalışmada bitkideki polifenolik içerikler belirlenmemiştir. Ancak bitkinin uçucu ve doymamış yağ asitleri yönünden analizi yapılmıştır. Doymamış olduklarından bu yağ asitlerinin diğer araştırmacılar tarafından tespit edilen polifenoller gibi antioksidan etkide rol oynayabileceği düşünölmektedir.

Yapılan bir çalışmada, CCl₄ (karbon tetraklorür) ile 60 adet Wistar albino ratta oluşturulan akut karaciğer hasarına karşı, tarhun yaprak ekstraktının koruyucu etkisi araştırılmıştır. 6 hafta boyunca gün aşırı gavaj yoluyla 250, 500, 750 mg/kg dozlarında AD yaprak ekstraktı ve intraperitoneal yol ile zeytinyağı ile karıştırılmış CCl₄ (0.2 mg/kg) verilmiştir. Deney sonrasında ratların karaciğer dokuları histopatolojik açıdan incelenmiştir. Etanolik AD ekstraktı verilen bütün gruplarda, bitkinin histopatolojik ve biyokimyasal açıdan olumlu etki yarattığı, AD'nin ratların karaciğerinde CCl₄ etkisi ile oluşturulan hasara karşı koruyucu etki gösterdiği ve karaciğeri güçlendirdiği rapor edilmiştir [122].

Zarezade ve arkadaşları, CCl₄ ile oluşturulan hepatotoksisiteye karşı, tarhun bitkisinin gövde ve yaprak kısımlarından elde edilen hidro-alkolik *Artemisia dracunculus* (HAAD) ekstraktının, ratlar üzerindeki antioksidan ve hepatoprotektif etkisini araştırmışlardır. 36 adet rata, 50, 100 ve 200 mg/kg HAAD 7 gün boyunca oral gavaj ile verilmiştir. Çalışmada yapılan FRAP (Fe³⁺ (ferik iyonu) indirgeme gücü), DPPH (Radikali giderme aktivitesi) ve ABTS (Radikal katyon yakalama aktivitesi)

biyokimyasal testleri sonucunda; HAAD'in güçlü bir aktivite gösterdiği, oluşan hepatik hasara karşı koruyucu etki sergilediğini rapor etmişlerdir [123].

Hong ve Ying yaptıkları bir çalışmada; özefagus skuamöz hücre karsinomuna karşı, *Artemisia dracunculus* bitkisinin sürgün ve kök kısmından elde edilen ekstraktın ve bileşenlerinin antitümör etkisini araştırmışlardır. Mevcut karsinomun tedavisinde AD ekstraktı kullanılmıştır. Yapılan flow sitometri testi sonucunda; bitki ekstraktının özefagus hücre karsinomuna karşı güçlü şekilde hücre çoğalmasını önleyici aktiviteler gösterdiği görülmüştür. Ayrıca AD bitkisinden elde edilen sakuranetin ve 6-metoksikapillarisin bileşenlerinin, özefagus skuamöz hücrelerinde DNA hasarını indükleyerek güçlü antikanser etkiler sergilediği gözlenmiştir [124].

Modaresi ve arkadaşlarının fareler üzerinde yaptıkları bir çalışmada, farelerin hematolojik parametreleri üzerinde, hidro-alkolik AD yaprak ekstraktının yaratacağı etkileri araştırmışlardır. 5 gruba ayrılmış 40 fareye 20 gün boyunca gün aşırı sırasıyla 50, 100 ve 200 mg/kg dozunda hidro-alkolik AD yaprak ekstraktı verilmiştir. Deney sonunda yapılan ölçüm (RBC, WBC, nötrofil, monosit ve lenfosit) ve analizler (varyans test) sonucunda; kontrol gruplarına oranla tedavi gruplarında monosit, RBC ve WBC oranlarında kayda değer bir değişikliğin yaşanmadığı görülmüştür. 100 mg/kg ve 200 mg/kg tedavi gruplarında, kontrol gruplarına oranla lenfosit sayısında azalış yaşanırken, nötrofil sayısında anlamlı bir artış yaşanmıştır. Yapılan araştırma sonucunda, immünoestimülantör bir ajan olarak tercih edilebilecek nötrofil üretiminin, etanolik AD yaprak ekstraktı sayesinde uyarıldığı sonucuna varılmıştır [125].

Abraham, farelerde trans-anetol ve öjenolün antigenotoksik etkisini mikronükleus testi ile araştırmıştır. Genotoksin olarak farelere 40-400 mg/kg oranında trans-anethol, 50-500 mg/kg oranında öjenol oral gavaj yol ile verilmiştir. Genotoksin olarak verilen maddelerden biri de siklofosfamid olmuştur. CP farelere intraperitoneal olarak verilmiştir. Yapılan mikronükleus analizi sonucunda, farelere uygulanan trans-anethol ve öjenolün siklofosfamidin neden olduğu genotoksisiteye karşı koruyucu etki gösterdiği rapor edilmiştir [126].

Tüylü ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada; *Artemisia dracunculus* bitkisinden elde edilen esansiyel yağın, anti-mikrobiyal, genotoksik ve sitotoksik etkisi araştırılmıştır.

Çalışmada; *Salmonella typhimurium*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* ve *Aspergillus niger* gibi toplam 28 adet mikroorganizma kullanılmıştır. Kirby ve Bauer disk difüzyon yöntemi ile *Artemisia dracunculus* esansiyel yağının belirtilen mikroorganizmalara karşı anti-mikrobiyal etki sergilediği görülmüştür. Ayrıca mikronükleus testi için iki sağlıklı insandan elde edilen periferik kan kullanılmıştır. Sonuç olarak bitki ekstraktının genotoksik etki yaratmadığı gözlemlenmiştir [127].

Bolandian ve arkadaşları; 70 wistar ratında asetik asit tarafından indüklenen ülseratif kolite karşı tarhun sulu yaprak ekstraktının etkilerini araştırmışlardır. 10 gün boyunca ratlara mesalazine, asacol ve asacol + tarhun sulu yaprak ekstraktı oral gavaj yol ile verilmiştir. Deneyde yapılan Elisa testiyle birlikte histopatolojik incelemeler sonucunda; kontrol grubuna göre, mesalazine ve asacol tedavi gruplarında histopatolojik hasar artmıştır. asacol + tarhun sulu yaprak ekstraktı verilen tedavi gruplarında ise oluşan histopatolojik hasarın önemli düzeyde azaldığı görülmüştür. Sonuç olarak tarhun sulu yaprak ekstraktının anti-kolit etki sergilediği ve kolit tedavisinde doğal bir ilaç olarak kullanılabilmesi görülmüştür [128].

Reza ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; 48 wistar albino ratta tarhun sulu yaprak ekstraktının, sulandırılmış fruktoza karşı antiinflamatuvar ve noziseptif etkileri araştırılmıştır. Oluşturulan 1. gruba hiçbir madde verilmemiştir. 2. gruba 100 mg/kg oranında tarhun sulu yaprak ekstraktı, 3. gruba ise % 10 oranında sulandırılmış fruktoz ve 100 mg/kg oranında tarhun sulu yaprak ekstraktı verilmiştir. 4 haftanın sonunda; ratlarda oluşturulan insülin direncinin, tarhun sulu yaprak ekstraktı tarafından önemli şekilde azaltıldığı gösterilmiştir [129].

Benli ve arkadaşları, AD'nin aseton, kloroform ve farklı iki konsantrasyondaki metanol ekstresinin antimikrobiyal aktivitesi üzerinde çalışmışlardır. Bu ekstraktlar, disk difüzyonu yöntemi ile 9 bakteri ve 4 maya suşuna karşı test edilmiştir. Sonuç olarak; AD'nin, metanol ekstraktının, aseton ve kloroform ekstraktlarına oranla mikroorganizmalara karşı daha yüksek antimikrobiyal etki gösterdiği belirlenmiştir [130].

Ribnicky ve arkadaşları, tarhun bitkisinin diyet takviyesi olarak kullanımının toksikolojik değerlendirmesi ile ilgili ratlar üzerinde çalışmalarda bulunmuşlardır.

Yapılan alışmalar ve kullanılan AD yaprak ekstrakt dozları; 14 gün tekrar doz oral toksisite çalışması (1000 mg/kg), 90 gün tekrar doz oral toksisite çalışması (10, 100 ve 1000 mg/kg), ames testi (5000 mg/kg) ve akut oral toksisite testi (5000 mg/kg) şeklinindedir. Yapılan çalışmalarda tarhun bitkisinin ratlar üzerinde mutajenik etki yaratmadığı, bitkinin kullanımının non-toksik ve güvenilir olduğu tespit edilmiştir [131].

Mercanköşk ve tarhun yaprak ekstraktlarının, gıda patojeni olarak bilinen *Salmonella spp.*, *E. Coli*, *Listeria monocytogenes* ve *Staphylococcus aureus* 'un logaritmik sayıları üzerindeki etkileri Duncan oklu karşılaştırma testi ile incelenmiştir. Hamburger köftelerine bu MO'ların inoküle edilmesi ile elde edilmiş olan numunelerin, mercanköşk ve tarhun ekstreleri ile muamelesi yapılmıştır. Sonuç olarak kontrol numunelerine oranla ekstreler ile işlem görmüş numunelerin MO'ların logaritmik sayısında düşüş saptadığı ve bu etkiyi en çok tarhun yaprak ekstraktının yarattığı saptanmıştır. Ayrıca *Listeria monocytogenes*'in tarhun yaprak ekstraktına karşı en hassas MO olduğu rapor edilmiştir [14].

Doğu Karadeniz halkının tıbbi amaçla kullandığı tarhun dahil 20 farklı bitkinin antioksidan etkilerini araştıran Harşıt, alışmasında Toplam Flavonoid, FRAP, CUPRAC (Cu (II) (bakır) iyonu indirgeyici antioksidan kapasite) ve DPPH olmak üzere çeşitli antioksidan test yöntemleri kullanılmıştır. Deney sonrasında yaklaşık olarak 10 gr kullanılan tarhun kuru yaprak ve sap numunesinin antioksidan özellik gösterdiği rapor edilmiştir [2].

Olszewska-Kaczynska ve Suchorska yaptıkları çalışma ile, AD'nin üç ayrı kültür formunu uçucu yağ bileşenleri ve morfolojik özellikleri açısından kıyaslayarak incelemişlerdir.  kültür formunun morfolojik yapısının aynı olduğu ve 24 adet uçucu yağ bileşenine sahip olduklarını belirlemişlerdir. En yüksek oranda tespit edilen uçucu yağ bileşeninin, % 58,38 oranında capillene ve % 50,53 oranında sabinene olduğu tespit edilmiştir [132].

Tak ve arkadaşları, AD bitkisinin yağını elde ederek fitokimyasal açıdan incelemişlerdir. GC-MS ve GC-FID metotları uygulanarak bitkinin uçucu yağı analiz edilmiş ve 34 bileşik tespit edilmiştir. Tanımlanan 34 bileşenin temel olanları; %

28.06 oranında trans-anetol, % 15.79 oranında (Z)- β -osimen, % 10.12 oranında α -terpinolen, % 10.08 oranında elemisin, % 7.71 sineol ve % 2.78 oranında α -copaen şeklindedir [25].

Mezzoug ve arkadaşları *Artemisia dracunculus* ile birlikte toplam 6 bitkiden elde edilen esansiyel yağın *Drosophila melanogaster* üzerindeki genotoksitesini SMART (somatik mutasyon ve rekombinasyon testi) ile araştırmışlardır. Sonuç olarak *Artemisia dracunculus* ve diğer bitkilerden elde edilen esansiyel yağın *Drosophila melanogaster*'in somatik hücrelerine karşı genotoksik olmadığı rapor edilmiştir [133].

Behbahani ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada; tarhun yaprak ekstraktının uçucu yağ bileşenleri, antioksidan aktivitesi ve antimikrobiyal etkisi araştırılmıştır. Yapılan yağ analizi sonucunda ana bileşen olarak % 84 oranında p-allillanisol tespit edilmiştir. Antioksidan aktivitesinin belirlenmesi için DPPH yöntemi kullanılmış ve tarhun yaprak ekstraktının antioksidan etki gösterdiği belirlenmiştir. Bitkinin antimikrobiyal etkisi için yapılan disk difüzyon, dökme plaka ve delikli plaka difüzyon yöntemleri uygulanmıştır. Bu yöntemler sonucunda, tarhun yaprak ekstraktının mantarlara karşı güçlü antimikrobiyal etki seğilediği görülmüştür [134].

Halk arasında hem tıbbi amaçlı hem de tüketime yönelik olarak kullanılan *Artemisia dracunculus* L.'nin antigenotoksik, antifungal, antioksidan, antitümoral vb. özellikleri birçok *in vivo* ve *in vitro* çalışma ile bildirilmiştir. Bu çalışma sonuçları, daha önce yapılan diğer çalışma sonuçları ile benzerlik göstermektedir.

Bu araştırma sonucuna göre; tarhun yaprak ekstraktının uygulanan dozlarının (75-150 mg/kg) genotoksik etkili olmadığı ve siklofosfamid tarafından indüklenen mikronükleus artışını azalttığı söylenebilir. Kullanılan bitki ekstraktının ortaya çıkardığı antigenotoksik etkilerin tam anlamıyla belirlenebilmesi ve antigenotoksik etkilerin hangi maddelerden kaynaklandığının tespit edilebilmesi için, bitki bileşenlerinin yapısındaki kimyasalların izole edilmesi gerekmektedir. Tarhun bitkisinden elde edilen ekstrakt içerisinde tespit edilecek kimyasal bileşiklerin etkilerinin sitogenetik analiz ve ileri moleküler testler ile tespit edilmesinin, konunun anlaşılmasına fayda sağlayacağı ileri sürülebilir.

5.KAYNAKLAR

- [1] Çil, Y. M., (2013). Farklı Dikim Sıklıklarının Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Bitkisinin Agronomik ve Teknolojik Özellikleri Üzerine Etkileri. Doktora Tezi, Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Erzurum.
- [2] Harşit, B., (2015). Doğu Karadeniz Bölgesi'nde Halk Arasında Tıbbi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Antioksidan Aktivitelerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Artvin Çoruh Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Orman Endüstri Mühendisliği Anabilim Dalı, Artvin.
- [3] Türközü, D., (2010). Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Genotiplerinin Doku Kültürü ile Çoğaltılması Üzerinde Araştırmalar. Doktora Tezi, Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Tarla Bitkileri Anabilim Dalı, Van.
- [4] Demirezer, L. Ö., (2010). Bitkilerin Tıpta Kullanılması Konusundaki Sorumluluklarımız. Bitkilerle Tedavi Sempozyumu, 5-6 Haziran 2010, Zeytinburnu/İstanbul Bildiri Kitabı, 87-88.
- [5] Titz, A., (2004). Policy, Research&Development and Commercialisation Strategies, Scope for Diversified and Sustainable Extraction, 22-26 July 2004, Bangalore, India. 72-80.
- [6] Toroğlu, S. ve Çenet, M., (2006). Tedavi Amaçlı Kullanılan Bazı Bitkilerin Kullanım Alanları ve Antimikrobiyal Aktivitelerinin Belirlenmesi İçin Kullanılan Metotlar. Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen ve Mühendislik Dergisi, 9(2), 12-20.
- [7] Yiğit, N. ve Benli, M., (2005). Ülkemizde Yaygın Kullanımı Olan Kekik (*Thymus Vulgaris*) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, 3(8), 1-8.
- [8] Dikmen, M. E., (2009). Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan İçerikleri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.

- [9] Arıduru, R. ve Arabacı, G., (2013). Ciğertaze Otu (*Salvia Officinalis*) Bitkisinin Antioksidan Aktivitesinin Belirlenmesi. Sakarya Üniversitesi Fen Bilimleri Dergisi, 17(2), 241-246.
- [10] Bulca, S., (2014). Çörek Otuunun Bileşenleri ve Bu Yağın ve Diğer Bazı Uçucu Yağların Antioksidan Olarak Gıda Teknolojisinde Kullanımı. Adnan Menderes Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Dergisi, 11(2), 29-36.
- [11] Diken, M. E., (2009). Bazı Şifalı Bitkilerin Antioksidan İçerikleri. Yüksek Lisans Tezi, Balıkesir Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Balıkesir.
- [12] Garcia, C. L., Filippi, S., Mosesso, P., Calvani, M., Nicolai, R., Mosconi, L. and Palitti, F., (2006). The Protective Effect of L-Carnitine in Peripheral Blood Human Lymphocytes Exposed to Oxidative Agents. *Mutagenesis*, 21(1), 21-27.
- [13] Binici, A., (2002). Baharat Değerlendirme Raporu. Orta Anadolu İhracatçı Birlikleri Genel Sekreterliği, Ankara.
- [14] Ceran, N., (2018). Değişik Konsantrasyonlarda İlave Edilen Tarhun ve Mercanköşk Ekstraktlarının, Hamburger Köftesinde Bulunması Muhtemel Bazı Gıda Patojenleri Üzerine Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Afyon.
- [15] Obolskiy, D., Pischel, I., Feistel, B., Glotov, N. and Heinrich, M., (2011). *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 9, 17-45.
- [16] Asımgil, A., (1997). Şifalı Bitkiler. Timaş Yayınları, İstanbul. 176, 276.
- [17] Azırac, S., (2007). Thymol ve Carvacrol'un *in vivo* Genotoksik Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Adana.
- [18] Gholivand, M. B., Yamini, Y. and Dayeni, M., (2014). Optimization and Comparison of Ultrasound-Assisted Extraction of Estragole from Tarragon

Leaves with Hydro-Distillation Method. Analytical And Bioanalytical Chemistry Research, 2, 99-107.

- [19] Güner, A., Özhatay, N., Ekim, T. and Başer, K. H. C., (2000). Flora of Turkey and East Aegean Islands, Supplement II. Edinburgh University Press., Edinburgh, 11, 618-619.
- [20] Chaleshtori, R. S., Rokni, N., Razavilar, V. and Kopaei, M. R., (2013). The Evaluation of the Antibacterial and Antioxidant Activity of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Essential Oil and Its Chemical Composition. Jundishapur Journal of Microbiology, 6(9), 7877.
- [21] Graven, E.H., Webber, L., Venter, M. and Gardner, J.B., (1990). The Development of *Artemisia afra* (Jacq.) as a New Essential Oil Crop, J. Essential Oil Research. 2(5), 215-220.
- [22] Kırtunç, E., (2002). Doğa Eczanesi Şifalı Bitkiler. 4 Renk Yayınları, 188.
- [23] İlisulu, K., (1992). İlaç ve Baharat Bitkileri. Ankara Üniversitesi, Ziraat Fakültesi Yayınları No:1256, Ankara, Ders Kitabı No:360.
- [24] Lamian, A., Badi, H. N., Mehrafarin, A. and Seifshandi, M., (2017). Changes in Essential Oil and Morpho-Physiological Traits of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) in Responses to Arbuscular Mycorrhizal Fungus, AMF (*Glomus Intraradices* N.C. Schenck & G.S. Sm.) İnoculation Under Salinity. Acta Agriculturae Slovenica, 109-2, 215-227.
- [25] Tak, I. R., Mohiuddin, D., Ganai, B. A., Chishti, M. Z., Ahmad, F. and Dar, J. S., (2014). Phytochemical Studies on the Extract and Essential Oils of *Artemisia dracunculus* L. (Tarragon). African Journal of Plant Science, 8(1), 72-75.
- [26] Wierdak, R. N. and Zawiślak, G., (2014). Herb Yield and Bioactive Compounds of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) as Influenced By Plant Density. Acta Scientiarum Polonorum, Hortorum Cultus, 13(2), 207-221.
- [27] Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürses, B. ve Alvrur, M., (2004). The Comparison of Mikro FADU and Comet Methods in DNA Damage Analysis. Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 2(3), 97-103.

- [28] Brusick, D., (1987). Principles of Genetic Toxicology. Plenum Press New York, USA, 284.
- [29] Özkara, A. ve Akyıl, D., (2015). Bitkilerde Mikronukleus Testi ile Genotoksik Hasarın Değerlendirilmesi. Dumlu Pınar Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 034, 27-40.
- [30] Cengiz, M., Yeşildağ, Ö. ve Ayhancı, A., (2018). Siklofosfamid Nedenli Hematoksisite Üzerine Karvakrolün Sitoprotektif Etkileri. Türkiye Tarımsal Araştırmalar Dergisi, 5(2), 125-130.
- [31] Efdal, A., (2014). Siklofosfamid ile Oluşturulmuş Karaciğer Hasarı Üzerine Vitamin D3'ün Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Histoloji ve Embriyoloji Anabilim Dalı.
- [32] Karasatı, P., (2015). Sıçanlarda Siklofosfamid Nedenli Kardiyotoksisitede Oksidatif Stres ve Kalp Hasarına Karşı Selenyumun Koruyucu Etkisi. Yüksek Lisans Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı.
- [33] Davis, P. H., (1975). Flora of Turkey and the East Aegean Islands. Vol: 5, Edinburgh University Press, Edinburgh, 890.
- [34] Seçmen, Ö., Gemici, Y., Leblebici, E., Görk, G. ve Bekat, L., (1992). Tohumlu Bitkiler Sistematiği., Ege Üniversitesi, Fen Fakültesi. Yay No: 116, Ege Üniversitesi Basımevi, İzmir, 299.
- [35] Güvenalp, Z., (1993). *Artemisia austriaca jacq* ve *Artemisia spicigera C. koch* Uçucu Yağlarının Bileşimi. Y.Lisans Tezi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [36] Ceylan, A., (1989). Tıbbi Bitkiler II. Ege Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yay. No: 481, Bornova-İzmir, s.: 1,4, 12, 14.
- [37] Fernandez-Lizarazo, J.C., Mosquera-Vasquez, T., Chaves, B. and Sarmiento, F. (2011). Phyllochron and Differential Growth Between Plants of French Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) with Different Source of Propagation. *Agronomía Colombiana*, 29(3), 387-397.

- [38] Froushani, S.M.A., Zarei, L., Ghaleh, H.E.G. and Motlagh, B.M. (2016). Estragole and Methyl-eugenol-free Extract of *Artemisia dracunculus* Possesses Immunomodulatory Effects. *Avicenna Journal of Phytomedicine*, 6(5), 526-534.
- [39] Gerard, J., (1597). *The Generall Historie of Plants*; London, U.K., pp-193.
- [40] Raghavan, S. (2007). *Handbook of Spices, Seasonings and Flavorings*. 2nd ed. p. cm. Includes Bibliographical References and Index. ISBN 0-8493-2842-X 1. Spices-Handbooks. 2. Cookery (Spices) I. Title. CRC Press.
- [41] Hirsch, K. J., (1985). *Habitat Type Classification of Grasslands and Shrublands of Southwestern North Dakota*. Fargo, ND. North Dakota State University, 281.
- [42] Smitha, G. R., Varghese, T. S. and Manivel, P., (2014). Cultivation of *Artemisia (Artemisia annua Linn.)*. ICAR Directorate of Medicinal and Aromatic Plants Research, Boriavi, Anand, 9-10.
- [43] Sutton, S., Humphries, C. and Hopkinson, J., (1985). "Tarragon." *The Garden*. 110: 237-240.
- [44] Hartman, H. T. and Kester, D. E., (1975). *Plant Propagation-Principels and Practices*. Prentice Hall, New Jersey, USA.
- [45] Mansuroğlu, S. and Gürel, E., (2001). Mikroçoğaltım, Bitki Biyoteknolojisi I, Doku Kültürü ve Uygulamaları, Selçuk Üniversitesi Vakfı Yayınları, ISBN 975-6652-04-7, Konya, 262-281.
- [46] Türközü, D., Yaşar, F., Ellialtıoğlu, Ş.Ş. ve Yıldırım, B., (2014). Tarhun (*Artemisia dracunculus L.*) Bitkisinin Doku Kültürü Yoluyla Çoğaltılması Üzerinde Çalışmalar, Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tarih Bilimleri Dergisi, 24(3), 300- 308.
- [47] Akgül, A. (1993). *Baharat Bilim ve Teknolojisi*. Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları No:15, 4515, Ankara.

- [48] Sayyah M, Nadjafnia L. and Kamalinejad M., (2004). Anticonvulsant Activity and Chemical Composition of *Artemisia dracunculus* L. Essential Oil. Journal of Ethnopharmacology, 94(2-3), 283.
- [49] Shahriyary, L. and Yazdanparast, R., (2007). Inhibition of Blood Platelet Adhesion, Aggregation and Secretion By *Artemisia dracunculus* Leaves Extracts. Journal of Ethnopharmacology, 114(2), 194.
- [50] Barnaulov, O.D., (1998). Phytotherapy of Catarrhal Diseases. Lan: St. Petersburg, Russia, 146.
- [51] Mashanov, V. I. and Pokrovsky, A. A., (1991). Spicy and Aromatic Plants. Agropromizdat: Moscow, Russia, 25-29.
- [52] Roy, H.J., (2012). Tarragon. Pennington Biomedical Research Center, Pennington Nutrition Series No. 48.
- [53] Mamedov, N., Gardner, Z. and Craker, L. E., (2004). Medicinal Plants Used in Central Asia For the Treatment of Selected Skin Conditions. Journal Herbs Spices Medicinal Plants, 11, 191-222.
- [54] Ved, D.K. and Goraya, G.S., (2008). Demand and Supply of Medicinal Plants in India. Bishan Singh Mahendra Pal Singh, Dehradun & Frllth, Bangalore, India.
- [55] Alakbarov, F. U., (2001). Medicinal Plants Used in Medieval Azerbaijan Phytotherapy. Journal of Herbal Pharmacother, 3, 35-49.
- [56] Miraldi, E., Ferri, S. and Mostaghimi, V., (2001). Botanical Drugs and Preparations in the Traditional Medicine of West Azerbaijan (Iran). J. Ethnopharmacol. 75(2-3), 77-87.
- [57] Densmore, F., (1974). How Indians Use Wild Plants for Food, Medicine and Crafts; Dover Publications, New York, 397.
- [58] Palmer, P. A., (1978). Shuswap Indian Ethnobotany. Syesis, 8, 29-51.
- [59] Hudson, B. and Drost, D., (2009). French Tarragon in the Garden. Horticulture/Garden, 02.

- [60] Ayoughi, F., Marzegar, M., Sahari, M.A. and Naghdibadi, H., (2011). Chemical Compositions of Essential Oils of *Artemisia dracunculus* L. and Endemic *Matricaria chamomilla* L. and an Evaluation of Their Antioxidative Effects. *Journal of Agricultural Science and Technology*, 13(1), 79-88.
- [61] Goldstein, D., (1999). *The Georgian Feast: The Vibrant Culture and Savory Food of the Republic of Georgia*. University of California Press: Los Angeles, CA, 229.
- [62] Çavdar, C., Sifil, A. ve Çamsarı, T., (1997). Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon*; 3(4), 92-95.
- [63] Bayram, I., Özbek, H., Ugras, S., Tuncer, I. ve Reçber, D., (2004). Askorbik Asit ve Alfa-Tokoferol'ün Karbon Tetraklorürle Oluşturulmuş Akut Karaciğer Toksisitesi Modelinde Karaciğeri Koruyucu Etkisi, *Van Tıp Dergisi*: 11(2), 32-38.
- [64] Akdeniz, F., Gökçe, G., Güneş, F., Akgöl, S. ve Yucayurt, G., (2008). *Rhododendron Ponticum* ve *Laurocerasus Officinalis* Bitkilerinin Çeşitli Kısımlarından Elde Edilen Süperkritik ve Akışkan Ekstraktlarının Fenolik Bileşikler Açısından Analiz ve Antioksidan Aktivitelerinin Tayini. (Tubitak Proje No: 106T296).
- [65] Sing, R.P., Sharad, S. and Kapur, S., (2004). Free Radicals and Oxidative Stress in Neurodegenerative Diseases: Relevance of Dietary Antioxidants. *Journal, Indian Academy of Clinical Medicine*, 5(3), 218-225.
- [66] Prior, R. L. and Cao, G., (1999). *In vivo* Antioxidant Capacity: Comparison of Different Analytical Methods. *Free Radical Biology and Medicine*, 27(11-12), 1173-1181.
- [67] Kahkönen, M. P., Hopia, A. I., Vuorela, H. J., Rauha, J. P., Pihlaja, K., Kujala, T. S. and Heinonen, M., (1999). Antioxidant Activity of Plant Extracts Containing Phenolic Compounds. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 47, 3954-3962.
- [68] Larson, R. A., (1988). The Antioxidants of Higher Plants. *Phytochemistry*, 27(4), 969-978.

- [69] Shahidi, F., (1996). Natural Antioxidants: Chemistry, Health Effects and Applications. AOCS Press, Champaign- Illinois 1-11. AOCS Press, Champaign-Illinois, 209.
- [70] Laukkanen, M. O., (2016). Extracellular Superoxide Dismutase: Growth Promoter or Tumor Suppressor?. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 9.
- [71] Ak, T., (2006). Curcumin'in Antioksidan ve Antiradikal Özelliklerinin İncelenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- [72] Galloway, S.M., Miller, J.E., Armstrong, M.J., Bean, C.L., Skopek, T.R. and Nichols, W.W., (1998). DNA Synthesis Inhibition as an Indirect Mechanism of Chromosome Aberrations: Comparison of DNA-Reactive and non-DNA-Reactive Clastogens. Journal Mutation Research, 400(1-2), 169-186.
- [73] İpek, E., Tüylü, B.A. and Zetinoğlu, H., (2003). Effects of Carvacrol on Sister Chromatid Exchanges in Human Lymphocyte Cultures. Journal Cytotechnology. 43(1-3), 145-148.
- [74] Saks, M., Upreti, S., Rajendra, S.V. and Dang, R., (2017). Genotoxicity: Mechanisms, Testing Guidelines and Methods. Global Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Science, 1(5), 555-575.
- [75] Atlı Şekeroğlu, Z. ve Şekeroğlu, V., (2011). Genetik Toksikite Testleri. Türk Bilim Araştırma Vakfı, 4(3), 221-229.
- [76] Muller, H. J., (1927). Artificial Transmutation of The Gene. Science, 66(1699), 84-87.
- [77] Çavaş, T., (2004). Endüstriyel Atıkların Genotoksik Etkilerinin Mikronükleus ve Agnor Analiz Teknikleri Kullanılarak İn-Situ ve Laboratuvar Koşulları Altında Araştırılması. Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Mersin.
- [78] Klug, W. S. and Cummings, M. R., (2002). Concepts of Genetic. Genetik Kavramlar, 6th Edition, Çeviri Editörü Prof. Dr. Cihan Öner, Palme Yayıncılık.

- [79] Heddle, A. J., Hite, M., Kirkhart, B., Mavournin, K., MacGregor, T. J., Newell W. G. and Salamone, M. F., (1983). The Induction of Micronuclei as a Measure of Genotoxicity. A Report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program. *Mutation Research*, 123(1), 61-118.
- [80] Zeiger, E., Anderson, B., Haworth, S., Lawlor, T., Mortelmans, K. and Speck, W., (1987). Salmonella Mutagenicity Tests: III. Results from the Testing of 255 Chemicals. *Environmental Mutagenesis*, 9(1), 109.
- [81] Schmid, W., (1975). The Micronucleus Test. *Journal Mutation Research*, 31, 9-15.
- [82] Waters, M. D., Stack, H. F., Brady, A. L., Lohman, P. H. M., Haroun, L. and Vainio, H., (1988). Use of Computerized Data Listings and Activity Profiles of Genetic and Related Effects in the Review of 195 Compounds, *Mutation Research*, 205, 295-312.
- [83] Fenech, M., (2007). Cytokinesis-Block Micronucleus Cytome Assay. *Nature Protocols*, 2(5), 1084-1104.
- [84] Zijno, A., Marcon F., Leopardi, P., Salvatore, G., Carere, A. and Crebelli, R., (1994). An Assessment of the *in vivo* Clastogenicity of Erythrosine, *Food and Chemical Toxicology*, 32(2), 159-163.
- [85] Anwar, W. A., Salama, S. I., Serafy, M. M. E. I., Hemida, S. A. and Hafez, A. S., (1994). Chromosomal Aberrations and Micronucleus Frequency in Nurses Occupationally Exposed to Cytotoxic Drugs. *Mutagenesis*, 9(4), 315-317.
- [86] Larmarcovai, G., Ceppi, M., Botta, A., Orsiere, T. and Bonassi, S., (2008). Micronuclei Frequency in Peripheral Blood Lymphocytes of Cancer Patients a Meta-Analysis. *Mutation Research*, 659(3), 274-283.
- [87] Fenech, M. and Morley A. A., (1985). Solutions to the Kinetic Problem in the Micronucleus Assay. *Cytobios*, 43, 233-246.
- [88] Fenech, M., (2002). Biomarkers of Genetic Damage For Cancer Epidemiology. *Journal of Toxicology*, 181-182, 411-416.

- [89] Countryman, R. I. and Heddle, J. A. (1976). The Production of Micronuclei from Chromosome Aberration in Irradiated Cultures of Human Lymphocytes. *Journal Mutation Research*, 41(2-3), 321-332.
- [90] Fenech, M., (2006). Cytokinesis-Block Micronucleus Assay Evolves Into a“Cytome” Assay of Chromosomal Instability, Mitotic Dysfunction and Cell Death. *Mutation Research Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 600(1-2), 58-66.
- [91] Dey, P., Samanta, S. and Susheilia, S., (2012). Micronucleus Assay in Buccal Smears of Breast Carcinoma Patients. *Diagn Cytopathol*, 40(8), 664-6.
- [92] Fenech, M., (2000). The *in vitro* micronucleus technique. *Mutation Research*, 455(1-2), 81-95.
- [93] Stopper, H. and Müller, O. S., (1997). Micronuclei is a Biological Endpoint for Genotoxicity: A Minireview. *Toxicology In Vitro*, 11(5), 661-7.
- [94] Titenko-Holland, N., Windham, G., Kolachana, P., Reinisch, F., Parvatham, S., Osorio, A. M. and Smith, M. T., (1997). Genotoxicity of Malathion in Human Lymphocytes Assessed Using the Micronucleus Assay *in vitro* and *in vivo*: A Study of Malathion- Exposed Workers. *Mutation Research*, 388(1), 85-95.
- [95] McEvoy, G.K., (2004). American Society of Health-System. Editor, Bethesda, Maryland: AHFS Drug Information, Pharmacists, 929-952.
- [96] Karaboğa, M., (2018). Ratlarda Deneysel Siklofosfamid Toksikasyonunda Sodyum Selenit'in Karaciğer ve Böbrekte Metalloiyonin Ekspresyonu Üzerine Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Patoloji (Veteriner) Yüksek Lisans Programı, Aydın.
- [97] Maccubbin, A. E., Caballes, L., Riordan, J. M., Huang, D. H. and Gurtoo, H. L., (1991). A Cyclophosphamide/DNA Phosphoester Adduct Formed *in vitro* and *in vivo*. *Cancer Research*, 51(3), 886-92.

- [98] Selvakumar, E., Prahalathan, C., Sudharsan, P. T. and Varalakshmi, P., (2006). Chemoprotective Effect of Lipoic Acid Against Cyclophosphamide-Induced Changes in the Rat Sperm. *Toxicology*, 217, 1, 71-8.
- [99] Kayaalp, O., (2012). Akılcıl Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. 13. Baskı, 1.Cilt, Pelikan Yayınevi, Ankara, 332-362.
- [100] Doğan, E. E., (2008). Bazı Flavonoidlerin *Drosophila Melanogaster*'de Antigenotoksik Aktivitesi ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması. Doktora Tezi, İnönü Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
- [101] Emadi, A., Jones, R.J. and Brodsky, R.A., (2009). Cyclophosphamide and Cancer: Golden Anniversary. *Nature Reviews Clinical Oncology*, 6(11), 638-647.
- [102] Bayramoğlu, G., (2007). Sıçanlarda Siklofosamid ile Oluşturulmuş Oksidatif Strese Karşı Silimarinin Olası Koruyucu Etkileri. Doktora Tezi, Eskişehir Osmangazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- [103] Kayaalp, O., (2005). İmmün Sistem Bozuklukları ve İmmünomodülatör İlaçlar. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, 11.Baskı, Ankara, 344-353.
- [104] Fritz, G. and Kaina, B., (2006). Rho GTPases: Promising Cellular Targets for Novel Anticancer Drugs. *Curr Cancer Drug Targets*, 6(1), 1-14.
- [105] Fraiser, L.H., Kanekal, S. and Kehrer, J.P., (1991). Cyclophosphamide Toxicity. Characterising and Avoiding the Problem. *Drugs*, 42(5), 781-795.
- [106] Borgmann, A., Zinn, C., Hartmann, R., Herold, R., Kaatsch, P., Escherich, G., Möricke, A., Henze, G. and Stackelberg, A., (2008). Secondary Malignant Neoplasms After Intensive Treatment of Relapsed Acute Lymphoblastic Leukaemia in Childhood. *European Journal of Cancer*, 44(2), 257-268.
- [107] Nepomnyashchikh, L.M., Molodykh, O.P., Lushnikova, E.L. and Sorokina, Y.A., (2010). Morphogenesis and Histostereological Analysis of Hepatopathy Induced By Cyclophosphamide. *Bulltuen of Eksperimental Biology and Medicine*, 149, 104-120.

- [108] Özek, T., Karaburun, A. Ç. ve Eser, Ş., (2020). GC/MS Analiz Raporu, Anadolu Üniversitesi Bitki, İlaç ve Bilimsel Araştırmalar Uygulama ve Araştırma Merkezi, GC-202000047 Nolu Kesin Raporu, Eskişehir.
- [109] Wang, L. and Weller, C. L., (2006). Recent Advances in Extraction of Nutraceuticals from Plants. Trends in Food Science and Technology, 17, 300-312.
- [110] Hassanzadeh, M. K., Najaran, Z. T., Nasery, M. and Emami, S. A., (2016). Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Oils. Essential Oils in Food Preservation, Flavor and Safety, 813-817.
- [111] Yurtvermez, B., (2016). Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Bitkisinden Biyolojik Aktivite Gösterebilecek Sekonder Metabolitlerin İzolasyonu ve Kimyasal Yapılarının Belirlenmesi. Yüksek Lisans Tezi, Ağrı İbrahim Ççen Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ağrı.
- [112] Baytop, T., (1963). Türkiye'nin Tıbbi ve Zehirli Bitkileri. İstanbul Üniversitesi Yayınları, No: 1039, Tıp Fakültesi, No: 59, İsmail Akgün Matbaası, İstanbul.
- [113] Libbey, L.M. and Sturtz, G., (1989). Unusual Essential Oils Grown in Oregon I. *Artemisia afra* Jacq. Journal of Essential Oil Research, 1(1), 29-31.
- [114] Karabulut, H. ve Gülay, M. Ş., (2016). Serbest Radikaller. Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 4(1): 50-59.
- [115] Kaur, C. and Kapoor, H. C., (2001). Antioxidants in Fruits and Vegetables the Millennium's Health. International Journal of Food Science Technology, 36(7), 703-725.
- [116] Çil, Y., ve Kara, K. (2014). Farklı Dikim Sıklıklarının Tarhun (*Artemisia dracunculus* L.) Bitkisinin Bazı Agronomik Özellikleri ve Uçucu Yağ Oranları Üzerine Etkileri. Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Tarım Bilimleri Dergisi, 24(3), 300-308.
- [117] Ferguson, L. R., Bronzetti, G. and De-Flora, S., (2005). Mechanistic Approaches to Chemoprevention of Mutation and Cancer. Mutation Research, 591(1), 3-7.

- [118] Taner, G., (2007). Lipoik Asit ve Ferulik Asitin İnsan Lenfosit Kültüründe Mitomycin-C'ye Karşı Antigenotoksik Etkileri. Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü/Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- [119] Madrigal-Bujaidar, E., Barriga, S. D., Cassani, M., Marquez, P. and Revuelta, P., (1998). In Cytogenetic Techniques. Mutation Research, 204(3), 379-406.
- [120] Malins, D. C., Johnson, P. M., Wheeler, T. M., Barker, E. A., Nayak L., Polissar, N. L., Mark, A. and Vinson, M. A., (2001). Age-related Radical-induced DNA Damage is Linked to Prostate Cancer Research., 61, 6025-6028.
- [121] Ferguson, L. R., (1994). Antimutagens as Cancer Chemopreventive Agents in the Diet, Mutation Research., 307(1), 395-410.
- [122] Gülpınar, Y., (2012). Tarhun Bitkisinin (*Artemisia dracunculus L.*) Wistar Albino Ratlarda Oluşturulmuş Akut Karaciğer Toksik Hasarına Karşı Koruyucu ve Tedavi Edici Etkisinin Araştırılması. Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Biyoloji Anabilim Dalı, Gaziantep.
- [123] Zarezade, V., Moludi, J., Mostafazadeh, M., Mohammadi, M. and Veisi, A., (2018). Antioxidant and Hepatoprotective Effects of *Artemisia dracunculus* Against CCL₄-Induced Hepatotoxicity in Rats. *Avecanne Journal of Phytomedicine*, 8(1), 51-62.
- [124] Hong, L. and Ying, S. H., (2015). Ethanol Extract and Isolated Constituents From *Artemisia dracunculus* Inhibit Esophageal Squamous Cell Carcinoma and Induce Apoptotic Cell Death. *Drug Research*, 65(02), 101-106.
- [125] Modaresi, M., Zarasvand, M. A. and Madani, M. (2018). The Effects of Hydro-Alcoholic Extract of *Artemisia dracunculus L.* (Tarragon) on Hematological Parameters in Mice. *Journal of Basic Research Medical Science*, 5(1), 10-14.
- [126] Abraham, S. K., (2001). Anti-Genotoxicity of *trans*-Anethole and Eugenol in Mice. *Food and Chemical Toxicology*, 39, 493-498.

- [127] Tüylü, B. A., Yılmaz, M. ve Kıvanç M., (2009). Study on the Antimicrobial, Cytotoxic and Genotoxic Activities of the Essential Oil *Artemisia dracunculus* L.. Fresenius Environmental Bulletin, 18(5), 885-889.
- [128] Bolandian, M., Dorostkar, R., Shadbad, N. N. and Ghaleh H. E. G., (2019). Use Aqueous Extract of Tarragon in Combination with Asacol on Cytomegalovirus Colitis Model: Synergistic Effect in Inflammatory Disease Therapy. Journal of Biochemical Technology, Special Issue (2), 143-150.
- [129] Reza, S. M., Hamideh, M. and Zahra, S., (2015). The Nociceptive and Anti-Inflammatory Effects of *Artemisia dracunculus* L. Aqueous Extract on Fructose Fed Male Rats. Hindawi Publishing Corporation Evidence-Based Complementary and Alternative Medicine, Article ID 895417, 5 pages.
- [130] Benli, M., Kaya, I. and Yigit, N., (2007). Screening Antimicrobial Activity of Various Extracts of *Artemisia dracunculus* L.. Cell Biochem Function; 25(6), 681-686.
- [131] Ribnicky, D.M, Poulev, A., O'Neal, J., Wnorowski, G., Molek, D.E, Jager, R. and Raskin, I. (2004). Toxicological Evaluation of the Ethanolic Extract of *Artemisia dracunculus* for Use as a Dietary Supplement and in Functional Foods. Journal of Hepatology, 42(4), 585-598.
- [132] Olszewska-Kaczynska, I. and Suchorska, K., (1996). Evaluation of Three Cultivated Forms of Tarragon (*Artemisia dracunculus* L.) Folia Horticulturae, 8(1), 29-37.
- [133] Mezzoug, N., Idaomar, M., Baudoux, D., Debauche, P., Liemans, V. and Zhiri, A., (2016). Genotoxicity of Some Essential Oils Frequently Used in Aromatherapy. Advances in Bioscience and Biotechnology, 7, 36-73.
- [134] Behbahani, B. A., Shahidi, F., Yazdi, F. T., Mortazavi, S. A. and Mohebbi, M., (2017). Antioxidant Activity and Antimicrobial Effect of Tarragon (*Artemisia dracunculus*) Extract and Chemical Composition of Its Essential Oil. Food Measure, 11, 847-863.

ÖZGEÇMİŞ

Ad-Soyadı : Hatice ULU

Doğum Tarihi : 12.06.1986

Doğum Yeri : BURSA

Medeni Hali : Evli

Yabancı Dili : İngilizce

Öğrenim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Yalova Lisesi 2003

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji 2007

Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı 2020