

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

**YABAN MERSİNİ (*Vaccinium myrtillus* L.)' NİN İNSAN KROMOZOMLARINDA  
KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Sübhan ÖZÇAĞDAVUL  
YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**DANIŞMAN  
Prof. Dr. Süleyman GÜL**

**Haziran -2020**

**KARS**



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



YABAN MERSİNİ (*Vaccinium myrtillus* L.)' NİN İNSAN KROMOZOMLARINDA  
KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sübhan ÖZÇAĞDAVUL  
YÜKSEK LİSANS TEZİ

DANIŞMAN  
Prof. Dr. Süleyman GÜL

Bu tez çalışması 2017-FM-64 no'lu proje ile KAÜBAP tarafından desteklenmiştir.

Haziran -2020  
KARS

## ETİK BEYAN

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları 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**

**SÜBHAN ÖZÇAĞDAVUL**

**Tarih**

## ÖZET

(Yüksek Lisans Tezi)

### YABAN MERSİNİ (*Vaccinium myrtillus* L.) 'NİN İNSAN KROMOZOMLARINDA KARDEŞ KROMATİD DEĞİŞİMİ ÜZERİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

Sübhan ÖZÇAĞDAVUL

Kafkas Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı

**Danışman: Prof. Dr. Süleyman GÜL**

*Vaccinium myrtillus* L. kuzey Avrupa da doğal olarak yetişen Ericaceae familyasına dahil, kısa boylu çalimsı bitkidir. Yüksek antioksidant içeriğe sahiptir ve bilinen polyfenollerin en önemli doğal kaynaklarından birisidir. İnsan periferel hücre kültüründe Mitomycin-C (MMC) ile artırılmış Kardeş Kromatid Değişikliği (KKD) üzerine *V. myrtillus* özütünün etkileri çalışıldı. KKD belirleme işlemleri için, her kültürde ikinci mitotik evredeki hücreler incelendi. Kültür ortamları 0.2, 0.4, 0.8 ve 1.6 µl/ml bitki özütü ile muamele edildi. Dozlar kültür işleminin başlangıcından 48 saat sonra verildi. KKD azalışı, tüm test edilen derişimlerde gözlemlendi. *V. myrtillus* özütü, çoğalma katsayısını (RI) 24 saatlik sürede doza bağımlı tarzda artırdı. Sonuçlar, *V. myrtillus* özütlerinin mutajenik etkisinin olmadığını ancak MMC ile oluşan mutajenik aktiviteyi azaltabileceğini gösterdi.

**Anahtar Kelimeler:** *V. myrtillus*, Kardeş Kromatid Değişimi, Çoğalma Katsayısı

**2020, 42 Sayfa**

## ABSTRACT

(M. Sc. Thesis)

### *IN-VITRO* ANTİMUTAGENIC EFFECT of *Vaccinium myrtillus* L. on MITOMYCIN-C (MMC) INDUCED SISTER CHROMATID EXCHANGE in CULTURED HUMAN PERIPHERAL BLOOD LYMPHOCYTES

Sübhan ÖZÇAĞDAVUL

Kafkas University

Graduate School of Applied and Natural Sciences

Department of Biology

**Supervisor: Prof. Dr. Süleyman GÜL**

*Vaccinium myrtillus* L. is a low growing shrub belonging to the Ericaceae family and native to northern Europe. It is one of the most natural sources of the known polyphenolic compounds and has rich antioxidant content. The effect of addition of extract of *V. myrtillus* on Mitomycin-C (MMC) induced sister chromatid exchange (SCE) in cultured human peripheral blood lymphocytes was studied. Second mitotic division cells per culture were investigated for SCE. Cultures were treated with 0.2, 0.4, 0.8 and 1.6 µl/ml plant extracts. Treatment was carried out 48h after culture initiation. Reduction of sister chromatid exchanges was seen at all the concentrations tested. *V. myrtillus* extracts increased the replication index for the 24 h treatment time in a dose-dependent manner. These results showed that the *V. myrtillus* extracts do not have mutagenic activity, but can reduce the mutagenic action of MMC *in-vitro*.

**Key Words:** *V. myrtillus*, Sister Chromatid Exchange, Replication Index

**2020, 42 pages**

## **ÖNSÖZ**

Tez çalışması sırasında değerli bilgi ve deneyimleri ile yardımlarını esirgemeyen sayın danışman hocam, Prof. Dr. Süleyman GÜL'e, çalışmalarımda yardımcı olan ve her zaman beni motive edip destekleyen benim için bir hocadan daha fazlası olan sayın Dr.Öğr. Üyesi Müge Maviođlu KAYA'ya tez çalışmalarımızı ortak yaptığımız arkadaşım Sevda MANKAN'a ve hayatım süresince her türlü maddi ve manevi desteği ve sonsuz sevgisinden dolayı sevgili annem Ayfer ÖZÇAĞDAVUL'a ve desteğini hiçbir zaman esirgemeyen sevgili babam Mehmet ÖZÇAĞDAVUL'a sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

**İmza**

**SÜBHAN ÖZÇAĞDAVUL**

## İÇİNDEKİLER

<b>ÖZET</b> .....	<b>ii</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>iii</b>
<b>ÖNSÖZ</b> .....	<b>iv</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>v</b>
<b>RESİMLER DİZİNİ</b> .....	<b>viii</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>ix</b>
<b>TABLolar DİZİNİ</b> .....	<b>x</b>
<b>SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>xi</b>
<b>1. GENEL BİLGİLER</b> .....	<b>1</b>
1.1 Giriş.....	1
1.1.1 Üzümsü Meyveler.....	3
1.1.1.1 Yaban Mersini ( <i>V. myrtillus</i> L.) .....	3
1.1.2 Kromozomlar .....	6
1.1.2.1 Sentromer .....	7
1.1.2.2 Primer Boğum .....	7
1.1.2.3 Sekonder Boğum.....	7
1.1.2.4 Kromatid .....	8
1.1.2.5 Replikasyon Başlangıç Noktası (ORI).....	8
1.1.2.6 Satellit .....	8
1.1.2.7 Telomer .....	8
1.1.3 Hücre Döngüsü .....	9
1.1.3.1 Mitoz Bölünme .....	9
1.1.3.2 Sitokinez.....	10
1.1.4 Genetik Toksisite .....	12
1.1.4.1 Kardeş Kromatid Değişimi .....	12
<b>2. MATERYAL ve METOT</b> .....	<b>16</b>
2.1 Materyal.....	16
2.1.1 Kullanılan Maddeler ve Çözeltiler.....	16
2.1.1.1 Mitomisin-C .....	16

2.1.1.2 5'-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU) .....	16
2.1.1.3 Kolşisin .....	16
2.1.1.4 <i>V. myrtillus</i> L. Ekstraktı .....	17
2.1.1.5 Kromozom Medyumları .....	17
2.1.1.6 Hipotonik Çözelti .....	17
2.1.1.7 Carnoy Fiksatifı .....	17
2.1.1.8 Sorensen Tampon Solüsyonu .....	17
2.1.1.9 Entellan .....	17
2.1.1.10 Giemsa .....	18
2.1.1.11 Heparin .....	18
2.1.1.12 Lamların Temizlenmesi .....	18
2.1.1.13 Aseton .....	18
2.1.1.14 Standart Saline Sitrata (SSC) Çözeltisi .....	18
2.1.2 Kullanılan Laboratuvar Aletleri .....	19
2.1.2.1 Hassas Terazi .....	19
2.1.2.2 Santrifüj .....	19
2.1.2.3 Mikroskop .....	19
2.1.2.4 Benmari .....	19
2.1.2.5 Vorteks .....	19
2.1.2.6 pH Metre .....	19
2.1.2.7 Etüv .....	19
2.2 Metot .....	20
2.2.1 Hücre Kültürü ve Preparatların Hazırlanması .....	20
2.2.2 Preparatların Boyanması .....	20
2.2.3 Mikroskopik İnceleme .....	21
2.2.4 KKD ve Replikasyon İndeksinin (RI) Saptanması .....	21
2.2.5 Mikroskopta Fotoğraf Çekme .....	22
2.2.6 İstatistiksel Analizler .....	22
<b>3. BULGULAR .....</b>	<b>23</b>



3.1 <i>V. myrtillus</i> L. Ekstraktları Farklı Dozlarının MMC'ye Karşı İnsan Periferik Lenfosit Kültüründe Antimutajenik Etkileri .....	23
3.2 <i>V. myrtillus</i> L. ekstraktı gruplarının İnsan Lenfosit Hücrelerinde Replikasyon İndeksi (RI).....	25
<b>4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA .....</b>	<b>30</b>
<b>5. KAYNAKLAR .....</b>	<b>33</b>
<b>ÖZGEÇMİŞ.....</b>	<b>43</b>



**RESİMLER DİZİNİ**

<b>Resim 1.1</b> <i>V. myrtillus</i> L. ....	4
<b>Resim 3. 1</b> M1 evresindeki metafaz plağı .....	28
<b>Resim 3. 2</b> M2 evresindeki metafaz plağı .....	28
<b>Resim 3. 3</b> M3 evresinde metafaz plağı .....	29



## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa
Şekil 1.1 Kromozomların Histon Proteinleri Aracılığıyla Paketlenmesi.....	7
Şekil 1.2 Hücre Döngüsü .....	9
Şekil 1.3 Hücre Bölünme Safhaları .....	11
Şekil 1.4 Thymidine ve BrdU kimyasal yapısı .....	14
Şekil 1.5 Holiday Kardeş Kromatid Değişim Oluşum Mekanizması.....	14
Şekil 1.6 Kardeş Kromatid Oluşum Mekanizması. ....	15
Şekil 3. 1 Farklı dozlarda <i>V. myrtillus</i> ekstraktı ile 24 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde ortalama kardeş kromatid değişimi sayısı..	24
Şekil 3. 2 Farklı dozlarda <i>V. myrtillus</i> ekstraktı ile 24 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde ortalama replikasyon indeksi.....	26
Şekil 3.3 <i>V. myrtillus</i> için doz ve replikasyon indeksi arasında pozitif korelasyon.....	27

## TABLÖLAR DİZİNİ

<b>Tablo 3. 1</b> Farklı dozlarda <i>V. myrtillus</i> ekstraktı ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde ortalama kardeş kromatid değişimi sayısı. ....	23
<b>Tablo 3. 2</b> <i>V. myrtillus</i> ekstraktı Gruplarının İnsan Lenfosit Hücrelerinde Replikasyon İndeksi. ....	25



## SEMBOLLER ve KISALTMALAR DİZİNİ

BrdU	:	5'-Bromo-2'-deoxyuridine
dk	:	Dakika
DNA	:	Deoksiribonükleik asit
gr	:	Gram
KA	:	Kromozom aberasyonu
KCl	:	Potasyum klorid
KKD	:	Kardeş kromatid değişimi
mL	:	Mililitre
MN	:	Mikronükleus
MMC	:	Mitomisin-C
NaCl	:	Sodyum klorür
RNA	:	Ribonükleik asit
RI	:	Replikasyon İndeksi
rpm	:	Devir sayısı
SEM	:	Ortalamanın standart sapması
SSC	:	Standart Saline Citrate
UV	:	Ultra Viyole
$\mu$ g	:	Mikrogram
$\mu$ L	:	Mikrolitre
pH	:	H <sup>+</sup> iyonu konsantrasyonunun (-) logaritması
°C	:	Santigrad derece
G <sub>1</sub> -S-G <sub>2</sub>	:	Hücre siklusunda interfaz
KH <sub>2</sub> PO <sub>4</sub>	:	Monobazik potasyum fosfat
Na <sub>2</sub> HPO <sub>4</sub>	:	Disodyum hidrojen fosfat

## 1. GENEL BİLGİLER

### 1.1 Giriş

Bitkiler insanlık tarihi boyunca çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Bu doğrultuda insanlar bitkilerin kökünden yaprak kısmına kabuğundan reçinesine kadar birçok noktadan faydalanmıştır. Bitki kullanımının insanlık için en dikkat çekici noktası ise bitkilerin tedavi amacıyla kullanılmasıdır. Tedavi için kullanılan bitkilere tıbbi bitkiler denilmektedir. Tıbbi bitkiler yada halk arasında bilinen adıyla şifalı bitkiler insanlığın ilk zamanlarından beri kullanılmakta olup bu bitkilerin kullanım alanı oldukça geniştir. Tıbbi bitkiler mevcut hastalığı gidermek ve sağlıklı durumu stabil hale getirmeyi amaçlayarak kullanılmakla birlikte koruyucu yani hastalık önleyici olarakta kullanılmaktadır (Nizamlioğlu ve Sebahattin, 2010). Türkiye'nin Doğu Anadolu bölgesinde bulunan Hakkari şehrindeki Şanidar mağarasında Neanderthal kalıntıları bitkilerin çok eski zamanlardan beri kullanıldığına dair somut bir delildir. Tüm bu bilgiler ışığında bitkilerin sanıldan daha eski dönemlerde kullanıldığı açıkça gösterilmiştir (Gürsoy ve Gürsoy, 2004). 20. Asır'dan itibaren teknoloji ve toplumların değişimi ile sentetik kaynaklı her türlü maddeye ilgi giderek azalmış bu gelişmelerin doğrultusunda ilaçlarda da bitkisel kökenli olanlar tercih edilmiştir (Craker ve ark., 2003). İçinde bulunduğumuz yüz yılda giderek artan sanayileşme yanlış ilaç kullanımı gibi temel problemler antibiyotik direnci sorununu ortaya çıkarmıştır. Sentetik kaynaklı maddelerin alerjik etkileri ile bitkisel kökenli ilaçlara ilgiyi giderek artırmıştır (Benli ve Yiğit, 2005). 2000'li yıllardan itibaren ise tüm Dünya'da bu gelişmelerin ışığında genetik açıdan bitkileri korumak için bitki bilimciler, bitkilerin yüksek bir kısmını kültüre almış ve sonraki nesillerin bu bitkilerden yararlanmasını amaçlamıştır (L'amar, 2006). Türkiye gerek konumu gerek bitki çeşitliliği açısından sayılı ülkelerden biri olmakla birlikte ülkede bulunan endemik bitki çeşitliliği de oldukça yüksektir (Özhatay ve Koyuncu, 1998). Anadolu toplumlarının geleneksel yapısı sebebiyle bu endemik bitkiler halk arasında birçok hastalığın tedavisinde kullanılmaktadır. Bilimin giderek ilerlemesi sonucunda şifalı bitkiler başlı başına bir bilim haline gelmiş ve bu gelişmelerin ışığında yeni çalışma alanları ortaya çıkmıştır. Dünya'da ve Türkiye'de bu gelişmeler Fitoterapi bilim dalını ortaya çıkarmıştır. Fitoterapi bilimdalı geleneksel bitkilerin modern bilimde tedavi amacıyla kullanılmasını esas olarak almaktadır (Çelik ve Çelik, 2007). Şifalı bitkiler çeşitli alt dallarda sınıflandırılmakla birlikte çoğunlukla

etken maddesine göre sınıflandırılmaktadır (Ceylan, 1995). Bitkilerden çıkarılan esansiyel yağlar kök, yaprak ve kabuk gibi bitkilerin farklı bölgelerinden elde edilen yağlar olarak adlandırılır (Burt, 2004). Uçucu yağlar da esansiyel yağlar sınıfında olan ve oda sıcaklığında uçan ağır kokulu yağlı karışımlardır (Çelik ve Çelik, 2007). Uçucu Yağ olarak adlandırılan yağların hekimlikte sıkça kullanılmasının sebebi bu yağların hücre zar yapısından rahatça geçebilmeleridir (Mezzoug ve ark; 2007). Tıbbi ve aromatik bitkilerin tüm bu özellikleri göz önüne alındığı takdirde tedavi amaçlı kullanımının kaçınılmaz olduğu anlaşılmaktadır. Bu bitkilerin çoğu genotoksisite testleri ile çalışılmıştır. Genotoksisite testleri herhangi bir kimyasalın hücresel ve genetik materyal düzeyinde olası mutajen ya da kanserojen etkilerini ortaya çıkarmaktadır. Canlı sistemlerde meydana gelen mutajen etkiler kardeş kromatid değişimi, kromozomal abersayon ve mikronukleus testleri ile belirlenebilmektedir. Genotoksisite test sistemleri sayesinde bitkiler çok yönlü ele alınabilmekte ve tedavi amacıyla kullanılabilmesi saptanabilmektedir. *V. myrtillus* bitkisi bünyesinde barındırdığı çeşitli içerikler sebebiyle oldukça dikkat çekmektedir.

*V. myrtillus* yapısında bulunan antioksidan, antimitojenik ve antiinflamatuvar bileşikler başta olmak üzere vitamin içeriği de dikkate değer orandadır (Wang ve ark., 2008; Burdulis 2008; He ve Giusti, 2010; Krauze-Baranowska, 2014).

Yapılan kaynak taramaları sonucu, *V. myrtillus*' un insan lenfosit kültürü kardeş kromatid değişimi üzerine etkilerini belirleyen çalışmaların olmadığı saptanmıştır. Bu çalışma ile *V. myrtillus* bitki ekstraktının, Mitomisin C' nin insan lenfosit kromozomlarında kardeş kromatid değişimine yaptığı artış üzerine düzeltici etkilerinin araştırılması amaçlanmıştır.

### 1.1.1 Üzümsü Meyveler

Literatürde botanik anlamda üzümsü meyveler çalı formunda yumuşak, sulu ve tüketilebilen küçük meyveler olarak ifade edilmektedir (Ağoğlu, 1986). Çoğu üzümsü meyvenin renginin kırmızı ya da kırmızıya yakın tonlarda olmasının temel sebebi bu rengin oluşumuna sebep olan antosiyanin grubu pigmentleri ihtiva etmesidir. Bu renkteki değişimin temel etkeni ise pH değerindeki değişimdir (Cemeroğlu ve Acar, 1986). Üzümsü meyveler birçok madde açısından zengindir. Bu maddelere karbonhidratlar, C vitamini ve K vitamini örnek verilebilir (Ağaoğlu, 1986). Türkiye iklimsel açıdan bütün üzümsü meyveler için uygun olmasına rağmen üzüm dışında diğer üzümsü meyvelerin üretimi çok az miktardadır (Ertürk ve Geçer, 2014).

#### 1.1.1.1 Yaban Mersini (*V. myrtillus* L.)

Üzümsü meyvelerden olan *V. myrtillus* yani halk arasında bilinen adıyla yaban mersini yüksek antioksidan içeriğe sahip olan meyvelerin başında gelmektedir. Bu özelliği sayesinde vücudumuzda bulunan ve çeşitli reaksiyonlar sonucunda açığa çıkan serbest radikalleri etkisiz hale getirmektedir. Serbest radikal oluşumu çevre şartları, beslenme tarzı ve stres gibi temel faktörlere bağlı olup son derece tehlikeli sonuçlara yol açabilir (Göktaş, 2013). *V. myrtillus* bitkisi fenolik maddeler bakımından zengin olmakla birlikte antioksidan, antimikrobiyal ve antiinflamatuvar gibi birçok hastalık karşıtı etkiye sahiptir (Može ve ark., 2011; Lätti ve ark., 2007). Bu bitki sınıflandırmada Ericaceae ailesinde yer almakta olup yaprak yapısı ince kenarları çıkıntılı yumurta şeklindedir. Gövdesi 30 cm' e ulaşabilen bu bitkinin meyveleri ise yapısındaki pigmentlerden dolayı koyu mor, mavi renktedir. Bu bitkinin çiçek açma dönemi ilk bahar ve yaz döneminin ortasına kadar sürmektedir bitkinin kök yapısı diktir (Stevens, 1978; Akkemik, 2018). *V. myrtillus* asidik olarak zengin topraklarda çeşitli ağaçların yetiştiği ormanlarda örneğin; çam, ladin ve göknar gibi türlerin olduğu bölgelerde yetişmektedir. Bu bitki dünyanın kuzey yarım küre olarak adlandırılan bölgelerinde yetişmektedir ayrıca rakım olarak yüksek bölgelerde bulunmaktadır (Kaya, 2018). Bu bitki bataklık çileği olarakta bilinmektedir. Bunun yanı sıra - 20 °C ile + 40 °C gibi bir sıcaklık aralığında yaşayabilme kapasitesine sahiptir (Guay, 2009; Çelik, 2006). Yaban mersini bitkisinin yetiştirilmesi kısaca şöyledir. Fide dikildikten 3 yıl sonra meyve verir ve 5 yıllık bir yaban mersini yetişkin bir bitkidir. Yaban mersinin çiçek açabilmesi için 160 günlük bir



sürenin yanı sıra 0-7 °C bir sıcaklıkta 27 ile 35 gün arasında soğuğa maruz kalmalıdır (Çelik, 2006). Bu bitkinin hasat dönemi çiçek açma dönemine göre değişmekle birlikte eylül ayına kadar uzayabilir. Kış mevsimi geldiğinde yaprakları kurur (Doğanay, 2014).

*Vaccinium myrtillus* L.'nin Taksonomik Yeri (National Plant Data Center, 1996);

**Alem:** *Plantae*

**Altalem:** *Tracheobionta*

**Bölüm:** *Magnoliophyta*

**Sınıf:** *Magnoliopsida*

**Altsınıf:** *Dilleniidae*

**Takım:** *Ericales*

**Familya:** *Ericaceae*

**Cins:** *Vaccinium*

**Tür:** *Vaccinium myrtillus* L.



**Resim 1.1** *Vaccinium myrtillus* L.

### Yaban Mersini Tarihçesi

Yaban mersini birçok toplumda çok eski tarihlerden beri kullanılmaktadır. Bu meyve geleneksel olarak tedavi amaçla kullanılan bitkilerin başında gelmektedir. 1498 -1554 yıllarında Hieronymus adlı bilim insanı yaban mersinin öksürüğe iyi geldiğini ve bu meyvenin tüketiminin hastalar için iyi olacağını belirtmiştir. Mottioli ve Lonitzer isimli araştırmacılar ise bu bitkinin diüretik etkiye sahip olduğunu öne sürmüşler. 1922 yılına gelindiğinde ise insulin keşfedilmediği dönemlerde Kanada kökenli bilim insanları bu bitkiyi diyabet tedavisi için önermişlerdir. 1922'den 29 yıl sonra 1951 yılında Kröger isimli araştırmacı gastrovasküler hastalıklarına sebep olan mikroorganizmaların tedavisinde bu bitkinin etkili bir savaşçı olduğunu ortaya koymuştur (Helmstädter ve Schuster, 2010).

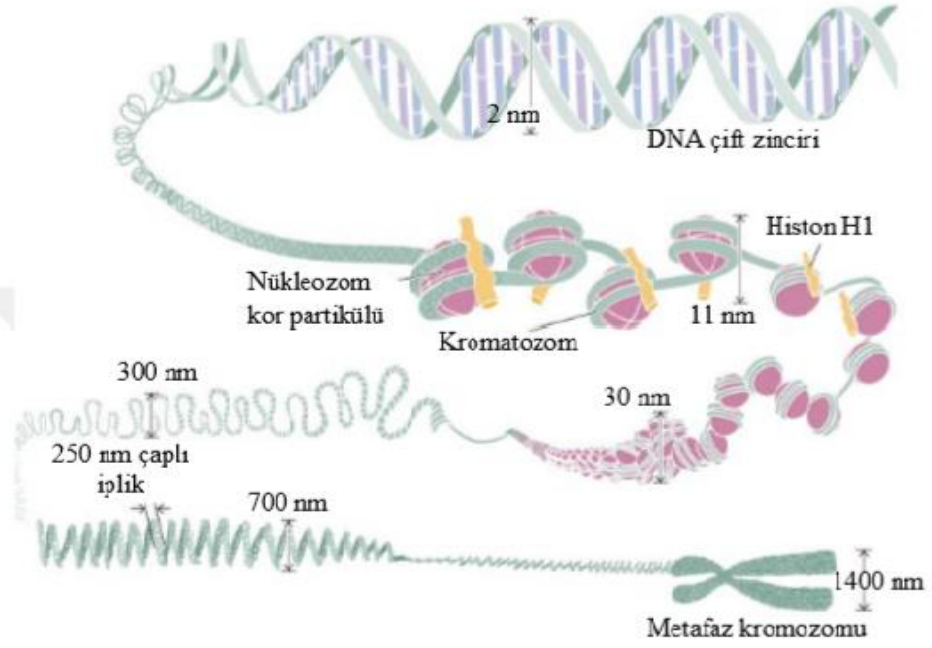
### Yaban Mersini' nin Besin Değeri

Yaban mersini halk arasında şifalı olarak bilinmekte olup çeşitli bilimsel araştırmalarla da bu yönü ortaya konmuştur. Yaban mersinin tadı mayhoş yani tatlı ve ekşi tatlarını bir arada barındırmaktadır. Bu meyve kalori bakımından düşük bir kaloriye sahiptir. Yaban mersini kolesterol içermez ve meyve lif bakımından çok zengindir (Çelik, 2006). Bir su bardağının yaklaşık olarak 170 gram olduğunu düşünürsek bu miktarda bir yaban mersinin karbonhidrat miktarı 21 gram, protein miktarı 1 gram ve son olarak yağ miktarı ise 0.5 gramdır, yaklaşık 85 kalori enerji barındırmaktadır. K vitamin açısından oldukça zengin bir meyvedir (Balcı, 2015). Lif oranı oldukça yüksektir, ayrıca resveratrol adlı maddeyi içinde barındırmaktadır. İçinde bulunduğumuz yıllarda yapılan çeşitli araştırmalar sonucu bu maddenin yaşlanma karşıtı olduğu, hafızayı güçlendirdiği ortaya konmuştur (Balcı, 2015). Yaban mersini antikanser özelliğinden dolayı çeşitli çalışmalarda kullanılmıştır. Yapılan bir araştırmada T-29 kanser hücre hattına uygulanan yaban mersini özütü hücrelerin büyümesini önlemiştir (Zhao ve ark., 2004). Yaban mersinin içeriğindeki yüksek potasyum içeriği kalp sağlığını pozitif olarak etkilemektedir (Çelik, 2006). Yaban mersini bitkisi fenolik bileşikler açısından oldukça zengindir ve fenolik bileşikler bitkilerin çevresel şartlar sonucunda oluşan etkilere karşı savunma sisteminin bir ürünü olan sekonder metabolitlerdir (Shirley, 1996). Antioksidan miktarı bakımından da zengin bir bitkidir. Antioksidanlar vücutta bulunan serbest radikallerin oluşumunu engeller. Böylece kanserin en önemli sebebi olan

hücrel stres engellenmektedir (Kaya, 2018). Yaban mersini içinde barındırdığı C vitamini miktarı da serbest radikal oluşumunu engeller bu açıdan hücrel strese karşı etkilidir (Zheng, 2003). Yaban mersini bitkisinin bir başka dikkat çekici özelliği de tansiyon düşürme özelliğidir. Damar yapısında değişikliklere neden olup kan basıncını ciddi anlamda düşürmektedir (Skrovankova, 2015).

### **1.1.2 Kromozomlar**

Kromozomlar tür içerisinde belli sayıda bulunan genetik materyalin taşınması ve aktarılmasında görev alan protein yapılarıdır (Bilgin, 2004; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995). Kromozomlar 1840 yılında botanikçi Hofmeister tarafından görülmüş ve daha sonra ki yıllarda Waldeyer adlı bilim insanı tarafından kromozom terimi ortaya atılmıştır (Karol ve ark., 2000). Kromozomlar hücre içerisinde normal dönemlerde ağ şeklindedir ve belirsiz bir yapıya sahiptirler. Hücre bölünmesi başladığı andan itibaren düzenlenirler. Türe özgü sayı ve boyuta ulaşır hücre bölünmesine hazır konuma gelirler (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Karol ve ark., 2000). Kromozomların iplik yapısından düzenlenmesini sağlayan çeşitli proteinler vardır. Bu proteinler histon ve non histon proteinlerdir. Histon proteinleri lizin ve arjinin amino asitleri bakımından zengin bazik yapılarıdır. Bazik özelliklerinden dolayı asidik yapıda olan DNA molekülü ile kolaylıkla etkileşime girerler. Temelde beş histon proteini paketlenme işleminde görev alırlar. Bunlar; H<sub>1</sub>, H<sub>2</sub>A, H<sub>2</sub>B, H<sub>3</sub> ve H<sub>4</sub> histon proteinleridir (Karol, 2000). H<sub>2</sub>A, H<sub>2</sub>B, H<sub>3</sub> ve H<sub>4</sub> histon proteinleri iker tanesinin oluşturduğu histon oktomerinin etrafını DNA molekülünün sarılmasıyla kor partikülü oluşturur ve bundan sonra devreye H<sub>1</sub> histonu girer. Bağlayıcı yani linker DNA' da bu kor elementine katılınca nükleozom yapısını oluşturur. Nükleozom yapısı kromatinin temel yapı taşıdır ve katlanarak daha karmaşık kromozom yapısını meydana getirmektedir (Cooper, 2016).



Şekil 1.1 Kromozomların Histon Proteinleri Aracılığıyla Paketlenmesi (Pierce, 2012)

### 1.1.2.1 Sentromer

Kromozomlar iki kardeş kromatidin birleşiminin sonucunda oluşur. Bu birleşme noktası hücre bölünmesi sırasında hareket etme özelliğine sahip olan sentromer olarak tanımlanırlar ve protein yapılı bölgedir (Demirsoy, 1995; Bozcuk, 2005; Bilgin, 2004).

### 1.1.2.2 Primer Boğum

Kromozomun ilk boğumu kabul edilen bölge sentromerin bulunduğu kısımdır (Demirsoy, 1995; Akman, 1998).

### 1.1.2.3 Sekonder Boğum

Sekonder boğum bir diğer adıyla nükleolar bölge kromozomdaki ikinci boğum yapısıdır. Sekonder boğum yapısında RNA ve çekirdekçik oluşumu mevcuttur (Demirsoy, 1995).

#### **1.1.2.4 Kromatid**

Bu yapı kromatin ipliğinin proteinlerle sarılması sonucu oluşan kromozom elemanıdır (Demirsoy, 1995).

#### **1.1.2.5 Replikasyon Başlangıç Noktası (ORI)**

Kromozomlarda bulunan diğer bölgelerdir. DNA sentezinin başladığı nokta olarak kabul edilmekle birlikte her kromozomda bulunmak zorundadır (Connor ve Ferguson-Smith, 1993).

#### **1.1.2.6 Satelit**

Satellitler kromozomların uç bölgelerinde bulunan ve silindirik bir forma sahip kromozom yapısıdır. Bu yapıya sahip kromozomlar sat-kromozom ya da satelit kromozom olarak adlandırılır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Akman, 1998).

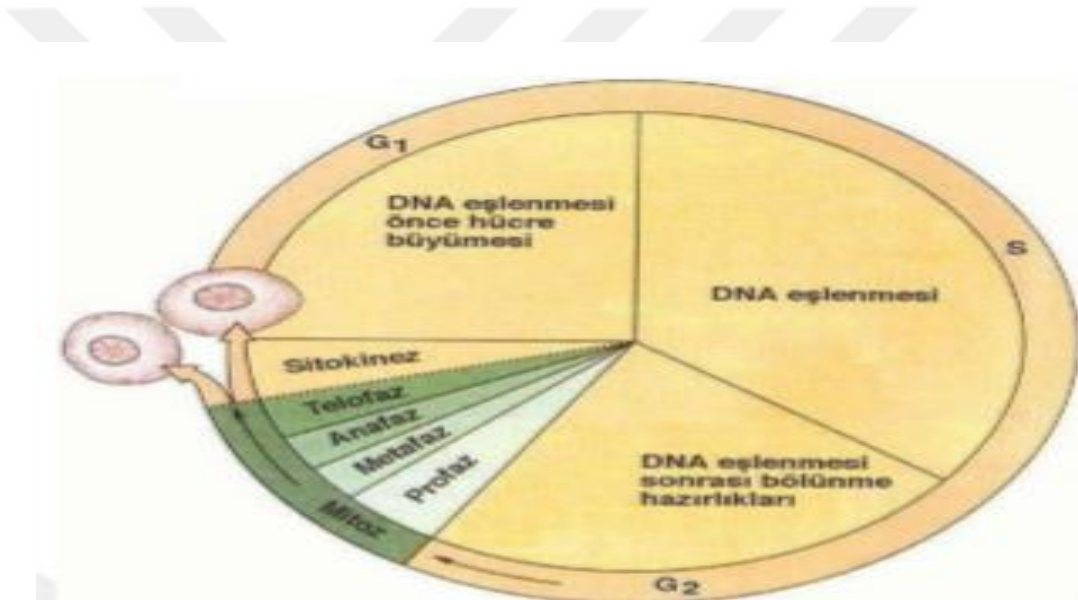
#### **1.1.2.7 Telomer**

Telomer, kromozomların uç kısımlarında bulunan ve guanin, sitozin bazlarınca zengin olan tekrar dizilerine sahip bölgelerdir. Telomer bölgeleri doğrudan hücre bölünmesi ile bağlantılı olan biyolojik saatlerdir (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Akman, 1998). Kromozomlar uzun (q) ve kısa (p) kolları olmak üzere kol uzunlukları sınıflandırılır. Sentromerin konumu ise kromozomları sınıflandırılmasında temel rol oynar. Kromozomlar metasentrik, submetasentrik, akrosentrik ve telosentrik kromozomlar olarak gruplandırılabilir (Temizkan, 1994; Demirsoy, 1995).

Metasentrik kromozomlarda sentromer bölgesi p ve q kollarına eşit bir uzunlukta böler. Submetasentrik kromozomların kol uzunlukları tam eşit olmamakla birlikte yakın uzunluktadır. Akrosentrik kromozomlarda sentromerin konumundan dolayı kolların uzunluk farkı fazladır. Telosentrik kromozomlar sentromerin kromozomun en uç bölgesinde konumlandığı kromozomlardır, kromozom yapısı insanda bulunmaz (Güneş, 2006).

### 1.1.3 Hücre Döngüsü

Hücre bölünmesi birçok canlı için elzem olmakla birlikte bazı canlılar için üreme gibi tür devamını sağlayan bir kavramdır. Kompleks organizmalar için hücre bölünmesi büyüme, gelişme ve onarım gibi mekanizmaların temel direğidir (Hardin ve Bertoni, 2019). Hücre bölünmesi hücrenin iç mekanizması ve dış uyaranlar tarafından tetiklenebildiği gibi hücresel iletişimlerdeki durumlardan da kaynaklanabilir. Hücre bölünmesi atasal kopyanın meydana getirildiği mitoz ve nesiller boyu kromozom sayısının, stabilitesinin korunması ve çeşitliliğin meydana getirilmesi için mayoz bölünme olarak iki temel gruba ayrılabilir (Hardin ve Bertoni, 2019).



Şekil 1.2 Hücre Döngüsü (Cabadak, 2008).

#### 1.1.3.1 Mitoz Bölünme

Mitoz bölünme döngüsü bir hücrenin bir başka hücreyi oluşturması sürecidir. Bu sürecin en önemli noktası oluşan hücrenin atasal hücrenin birebir kopyası olmasıdır. Hücre döngüsü bölünme öncesi hücrenin yeni bir hücre meydana getirmesi için gerekli olan moleküllerin oluşturulduğu ve hücre dinamiklerinin hazırlandığı hazırlık evresi ve mitotik evre yani M fazı olarak ikiye ayrılır (Güneş, 2006).

#### İnterfaz Evresi

İnterfaz evresi diğeri bir değişle hazırlık evresi kendi içerisinde G1-S-G2 evreleri olarak ayrılmaktadır. G1 safhası gen ekspresyonlarının gerekleştii evredir. S evresi ise DNA replikasyonu kavramının yanı sıra transkripsiyon ve translosyon gibi mekanizmaların gerekleştii evredir. Son evre olan G2 evresi ise artık hücrenin mitozaya tam olarak hazır olduğu ve bölünmeye girebileceğini belirten evredir. Bu evrelerin herhangi birinde meydana gelen bir aksaklık hücreleri G0 olarak adlandırılan ve hücrelerin normal yaşam döngülerini gerçekleştirdikleri ancak bölünmedikleri bir evreye sokar (Güneş, 2006; Berridge, 2014; Cooper, 2016).

### Profaz

Kromatin iplikleri bu safhada yoğunlaşır ve kromozoma dönüşmeye başlarlar. Kromozomlar 2 tane kardeş kromatid içerirler. Çekirdekçik bu evrede kaybolur (Hardin ve Bertoni, 2019).

### Metafaz

Bu evre kromozomların kısalıp kalıntığı bir evredir. Kromozomlar hücre merkezine yerleşirler ve buna metafaz plağı denir (Hardin ve Bertoni, 2019; Jakopsen ve ark., 2011).

### Anafaz

Kardeş kromatidler bu evrede zıt kutuplara iğ iplikleri tarafından çekilirler ve bu evrenin sonunda bir hücre içerisinde 2 tane kromozom takımı bulunur (Reece ve ark., 2013).

### Telofaz

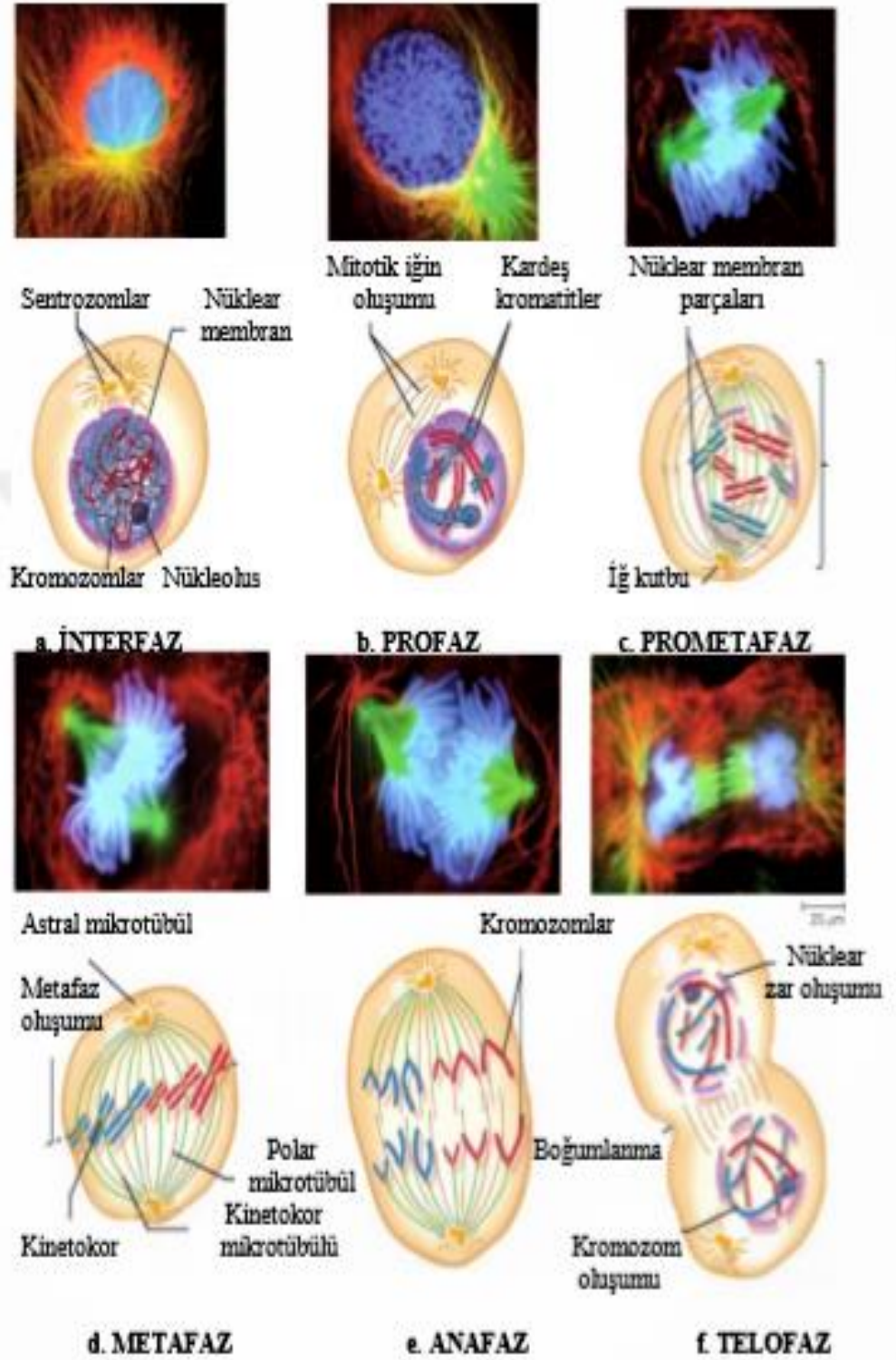
Profaz evresinde kaybolan çekirdekçik tekrar oluşur ve profaz evresinde gerçekleşen olayların tersi gerçekleşir (Reece ve ark., 2013).

### **1.1.3.2 Sitokinez**

Sitokinez evresi meydana geldiği zaman hücre bölünmesinin sona erdiği artık sitoplazma bölünmesine geçildiğine işaret eder. Sitokinez basamağı hücre tipine göre farklılık göstermektedir. Hayvan hücrelerinde boğumlanma şeklinde meydana gelirken



bitki hücrelerinde ara lamel oluşumu ile oluşur. Sitokinez aşaması bittiği zaman birbirinden bağımsız 2 hücre hazır durumdadır (Hardin ve Bertoni, 2019; Güneş, 2006).



Şekil 1.3 Hücre Bölünme Safhaları (Broker, 2012)



#### 1.1.4 Genetik Toksikite

Toksikoloji yani zehir bilimi birçok alt disipline ayrılmaktadır ve genetik toksikoloji bilimi de bu alt dallardan biridir (Choy, 2001; Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011). Genetik materyal hem iç hem dış birçok etken ile karşılabilmektedir. Bu karşılaşmalar genetik materyal üzerinde çeşitli değişikliklere sebep olabilmektedir. Bu etkenler organizmada negatif yan etkilere sebep olmaktadır. Ancak organizmanın özel mekanizmaları tarafından bu hasar engellenebilmektedir (Natarajan ve Obe, 1982). Genetik toksisite kavramı ise genetik materyal üzerinde negatif bir etki bırakan ve hücrel mekanizmada değişikliğe sebep olan durum olarak tanımlanabilir. Hücrede ya da organizmanın mekanizmalarında negatif etkiye yani hasara sebep olan maddeler ise genotoksin olarak adlandırılabilir (Khan, 2014).

20. yüzyılın ortalarından itibaren çeşitli maddelerin toksik etkileri çeşitli test yöntemleri ile *in-vivo* ve *in-vitro* olarak gözlemlenmektedir (Bedir ve ark., 2004; Zeiger, 2004). Genetik toksisite testlerinin temel amacı ise genotoksin olarak tanımlanan maddelerin organizma içerisinde hasar bırakma kapasitelerini ölçmektir (Barlow, 2013). Toksikite testleri günümüzde daha yaygınlaşmışlardır ve bu test sistemlerinde en sık kullanılan testler kardeş kromatid değişim testi, kromozomal aberasyon testi ve mikronükleus testi örnek verilebilir. Son zamanlarda bu test sistemlerine teknolojinin gelişmesiyle yeni test sistemleri katılmaktadır. Buna örnek ise polimorfik DNA polimeraz zincir reaksiyonu (RAPD-PCR) verilebilir (Becerril ve ark., 2001).

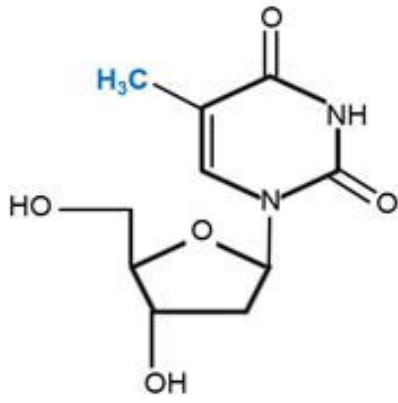
Herhangi bir maddenin mutajenik karsinojenik veya genotoksik etkisini belirlemek amacıyla *in vivo* ve *in-vitro* test sistemleri kullanılmaktadır bunlar; comet testi, ames testi, kromozomal aberasyon testi, mikronükleus testi ve kardeş kromatid değişim testidir (Cunney ve Hodgson, 2004).

##### 1.1.4.1 Kardeş Kromatid Değişimi

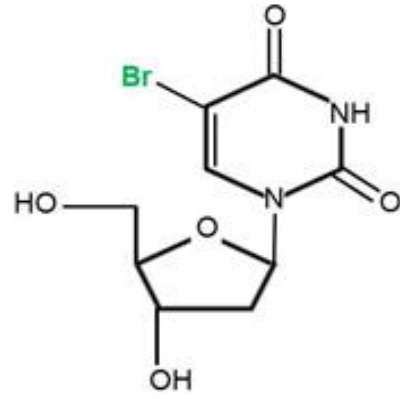
21. yüzyıl gerek sanayinin daha ileri bir noktaya gitmesi gerek teknolojiye gelişmeler açısından insanlık için önemli dönüm noktaları barındırmaktadır. Bu tarz gelişmeler bir takım çevresel sorunları beraberinde getirmiştir ve canlılar birçok mutajenle karşı karşıya kalmışlardır. Bunun sonucunda canlı sistemlerinde çeşitli değişiklikler meydana gelmiştir. Mutasyon dediğimiz bu değişiklikler canlı sistemlerinde pozitif ve negatif

gelişmelere yol açmıştır. Negatif değişimler genotoksisite testleri ile açıkça belirlenebilmektedir (Emre, 1989; Aksu, 2012).

Doğada çeşitli fiziksel, kimyasal ve biyolojik etmenlerin birikimiyle toksik yapılar meydana gelir bu toksik yapılar bilim insanlarının her zaman ilgisini çekmiştir. Kardeş kromatid test sistemi bu toksik maddelerin etkisini ortaya çıkarmak için bilim insanı Taylor ve arkadaşları tarafından geliştirildi. 1957 yılında ortaya konulan bu test sistemi kısa sürede geliştirilmiş ve en sık kullanılan toksisite testleri arasında yer almıştır (Taylor ve ark., 1957). Kardeş kromatid değişimi 2 tane kardeş kromatidin karşılıklı lokuslarında meydana gelen parça değişimi olarak adlandırılır (Barch, 1991; Hamurcu ve ark., 2008). Bu toksisite testi kardeş kromatidler arasındaki parça değişimi ile belirlendiği için çok hassas bir testtir. Birçok toksisite testi bu bakımdan KKD'den daha az başarılı bir profil çizmektedir. KKD miktar olarak çok düşük olan toksik etkiyi bile açıkça göstermekte başarılı bir yöntemdir (Aksu, 2012). Dünya sağlık örgütüne göre hücrelerde kardeş kromatid değişimi kendiliğinden olmakla birlikte iç ve dış etkenlerinde KKD frekansını artırdığı bilinmektedir (Emre, 1989). Kardeş kromatid değişimi miktarını artıran dış etmenlere ultraviyole, kimyasallar örnek verilirken viral enfeksiyonlar ve tümör varlığının da artırdığı bilinmektedir. Kardeş kromatid frekansındaki artış mutajenitenin açık bir göstergesi olmakla birlikte kanser riskinde aynı doğrultuda artırdığını ortaya koymaktadır (Hagmar ve ark., 1998). Kardeş kromatid değişimi hücrelerin bölünmesi sırasında hücre döngüsünün S safhasında meydana gelmektedir. DNA duplikasyonu sırasında ortamda bulunan ve timin analogu olan 5'-bromo-2'deoxyuridine (BrdU) bazının timin yerine girmesi ve giemsa ile boyandıktan sonra ışık mikroskopunda gözlenmesi kardeş kromatid değişim testi olarak açıklanabilmektedir (Ergün, 2005).



**Thymidine**

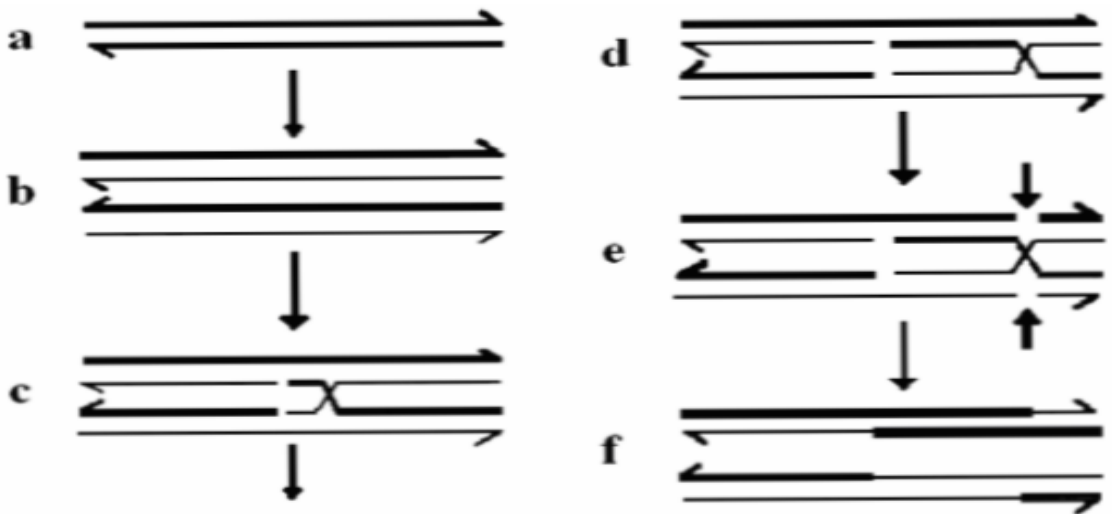


**5'-bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)**

**Şekil 1.4** Thymidine ve BrdU kimyasal yapısı (Iball ve ark., 1966; Young ve ark., 1969)

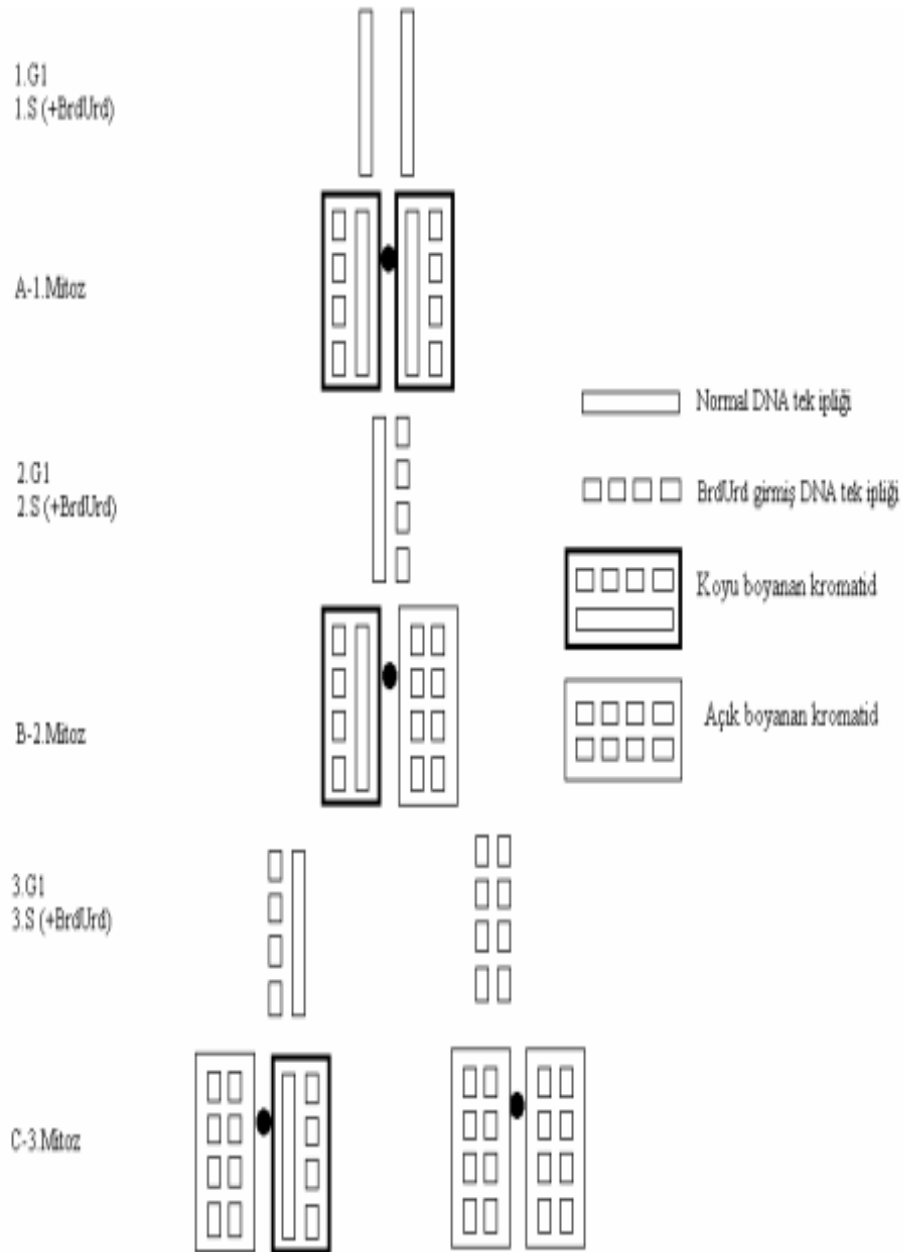
KKD gözlemek amacıyla ortamda BrdU bulunan hücre kültürü 2 hücre bölünmesi geçirmeli ve daha sonra boyanmalıdır. BrdU hücre DNA miktarını iki katına çıkardığı zaman yani replikasyon sırasında DNA yapısına girer ve ışık mikroskopunda açık boyanırken floresan mikroskopunda ise mavi yeşil renk vererek ayrılabilir. Işık mikroskopunun altında giemsa ile boyanan preparatlardaki KKD rahatlıkla gözlenebilmekte ve KKD sıklığının belirlenmesi için kolaylıkla sayılabilmektedir (Ergün, 2005).

#### Holiday KKD Oluşum Mekanizması



**Şekil 1.5** Holiday Kardeş Kromatid Değişim Oluşum Mekanizması (Emre, 1989).

Yukarı da yer alan şekile göre koyu renkli çizgiler atasal zincirlerdir, bu atasal zincirler BrdU varlığında yeni zincirler sentezler bir sonra ki basamakta zincirlerde kırılma meydana gelir ve crossing-over gerçekleşir. Bunun sonucunda heterodubleks yapı oluşur. Diğer bir basamakta rekombinasyon tekrarlanır ve Rekombinant DNA oluşur. Kısacası kardeş kromatid değişimi 4 temel basamaktan oluşmaktadır (Emre, 1989).



Şekil 1.6 Kardeş Kromatid Oluşum Mekanizması (Topaktaş ve Speit, 1990).

## **2. MATERYAL ve METOT**

### **2.1 Materyal**

Yapılan bu çalışmaya Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Yerel Etik Kurulu tarafından 01.03.2017/21 numaralı izni ile başlandı. Çalışmada test maddesi olarak *V. myrtillus* bitkisinin toprak üstü sıvı ekstraktları, materyal olarak da sağlıklı 6 erkek ve 6 kadından (19-25 yaş) alınan periferik lenfosit kan hücre örnekleri kullanıldı.

#### **2.1.1 Kullanılan Maddeler ve Çözeltiler**

##### **2.1.1.1 Mitomisin-C**

Mitomisin-C (MMC) mavi/menekşe renkli, kristal bir yapıda olup suda erimesi kolay olan bir kimyasaldır. Bu kimyasal maddenin hücreler üzerinde hücre bölünmesini bloke eden ajan olarak etkisi vardır ve bu amaç doğrultusunda kullanılmaktadır. MMC çözeltisi kültür ortamına pozitif kontrol olarak ve diğer deneyler için 0.3 µg MMC/ml besiyeri olacak şekilde eklendi. Bu solüsyon (pH=6.00-9.00) ışıktan uzak bir ortamda ve 2-8°C arasında muhafaza edildi.

##### **2.1.1.2 5'-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdU)**

BrdU'dan 5 mg alınarak 10 ml Chromosome Medium B'de çözdürüldü (50 µg/100 µl medium). Bu solüsyondan SCE çalışmasında besi yerine 10 µg/ml gelecek eklenildi (100 µl).

##### **2.1.1.3 Kolşisin**

Kromozomların metafaz plağı şeklinde elde edilmesinde hücre döngüsü sırasında iğ ipliği oluşumu engellenerek metafaz evrelerinde kalması için kolşisin kullanıldı. Kolşisin çözeltisi distile su içerisinde steril koşullarda hazırlanmış ve kromozom medyumunun her ml'sinde 0.06 µL olacak biçimde 5 ml'lik kromozom medyumuna kültürün 70. saatinde ilave edildi.

#### **2.1.1.4 *V. myrtillus* L. Ekstraktı**

*V. myrtillus* toprak üstü ekstraktlarından 100 µL alınıp 400 µL aseton ile homojen bir karışım elde edildi.

#### **2.1.1.5 Kromozom Medyumları**

Kromozom medyumları hücrelerin bölünmesi için gereken ortamı ve besinleri sağlamaktadır. Besiyerleri hücre döngüsünden önce -20 °C' de muhafaza edildi. Besi yerinin bir litrede bulundurduğu madde miktarı yukarıdaki gibidir. Bu besiyerleri bir tüpe 5ml olacak şekilde steril şartlarda paylaştırıldı.

#### **2.1.1.6 Hipotonik Çözelti**

Kristal toz halinde saf KCl'den % 0,4' lük KCl stok çözeltisi alınarak hipotonik çözelti olarak hazırlandı. Solüsyon distile su ile çalışmalara göre önceden hazırlanıp 37 °C'lik etüvde (NUVE EN 400) tutuldu.

#### **2.1.1.7 Carnoy Fiksatif**

Glasiyel asetik asit ve absolüt metanolün 1/3 oranında birleştirilmesi ile elde edildi ve deneylerde fiksatif solüsyon olarak kullanıldı. Bu fiksatif deneylerden önce hazırlandı ve her seferinde taze olarak kullanıldı.

#### **2.1.1.8 Sorensen Tampon Solüsyonu**

Bu tampon solüsyonu (Sorensen Buffer) tampon A ve tampon B olarak stok solüsyon halinde hazırlandı ve + 4 °C derecede muhafaza edildi.

Tampon A: 11.34 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  250 ml distile suda çözüldü (pH=4.80)

Tampon B: 14.83 g  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  250 ml distile suda çözüldü (pH=9.30)

#### **2.1.1.9 Entellan**

Preparatlar hazırlanırken ve kalıcı hale getirilirken kullanılan lam ve lameli birbirine yapıştırmak amacıyla kullanılan maddedir.

#### **2.1.1.10 Giemsa**

Giemsa boyası % 5' lik çözelti Sorensen Tamponu ile hazırlandı ve kromozomların boyanması amacıyla kullanıldı.

#### **2.1.1.11 Heparin**

Kan numuneleri alınırken antikoagülan olarak 5000 U/ml'lik heparinden hacime göre hazırlandı ve bu amaç doğrultusunda kullanıldı.

#### **2.1.1.12 Lamların Temizlenmesi**

Lamlar çalışmalar başlamadan önce temiz bir şaleye dizilerek üzerlerine 1 N nitrik asit tamamen kaplıyacak şekilde örtüldü. Lamlar bu durumda yaklaşık 24 saat ağzı kapalı şalede bekletildi. Bu süre sonunda akan suda 30 dakika boyunca durulandı. Son olarak distile sudan geçirilen lamlar kullanıma hazır hale getirildi.

#### **2.1.1.13 Aseton**

*V. myrtillus* bitkisinin seyreltilmesi amacıyla aseton kullanıldı. Merck marka 5 ml besiyerine eklenecek aseton 4 oranında meyve ekstraktı ise 1 oranında seyreltilip uygulanır.

#### **2.1.1.14 Standart Saline Sitrata (SSC) Çözeltisi**

Bu çözelti stok olarak hazırlandı. 11.05 gr trisodyum sitrat bir kapta belirli oranda çözdürüldü daha sonra 21.9 gr NaCl ayrı bir kapta çözdürüldü. Karışımlar ayrı ayrı çözdürüldükten sonra aynı kaba alınarak çözelti 500 ml distile su ile tamamlandı. Hazır olan 5xSSC çözeltiden 20 ml alınarak distile su ile 100 ml' ye tamamlandı ve böylece 1xSSC çözeltisi hazırlandı. Bu çözeltinin hazırlanma amacı kardeş kromatidler arasında kontrast farkını ortaya koymaktır.

## **2.1.2 Kullanılan Laboratuvar Aletleri**

### **2.1.2.1 Hassas Terazi**

Dış etmenlere karşı kabinli korumaya sahip ve 0,0001 g hassasiyeti olan Precisa XB 220 A (Swiss) marka hassas terazi maddelerin tartılmasında kullanıldı.

### **2.1.2.2 Santrifüj**

Deney tüpü içerisinde faz ayırma işlemleri için 5000 rpm'e kadar devri olan, 8 tüp kapasiteli ve zaman ayarlı Hettich EBA 20 (Almanya) marka santrifüj makinesi kullanıldı.

### **2.1.2.3 Mikroskop**

Olympus CX21 ve Leica DM500 marka ışık mikroskopları preparatları görüntüleme amacıyla kullanıldı.

### **2.1.2.4 Benmari**

Benmari (su banyosu, termal) preparatlar hazırlanırken ortamın nem düzeyini standart şartlarda tutulması için kullanıldı.

### **2.1.2.5 Vorteks**

Deney tüplerinde bulunan karışımların homojen hale getirilmesi için Yellowline marka vorteks kullanıldı.

### **2.1.2.6 pH Metre**

Sıvı olarak hazırlanan karışımların pH'sını ölçmek amacıyla Selecta marka pH metre kullanıldı.

### **2.1.2.7 Etüv**

Elektro.mag marka (M 420 BP İnkübatör) 0 - 100 °C' ye kadar ayarlanabilen etüv, deneyde hücrelerin inkübe edilmesinde 37 °C ve kardeş kromatid değişimi deneylerinin



ışınlanması sırasında preparatların salin sitrat eriğinde etüvde 58-60 °C 1 saat inkübe edilmesinde kullanıldı.

## 2.2 Metot

### 2.2.1 Hücre Kültürü ve Preparatların Hazırlanması

Bu yöntem Speit ve Haupter'in 1985 yılında geliştirdikleri yöntemin modifiye edilmiş halidir. Steril şartlarda tüplere paylaştırılmış 5ml besiyerine 19-25 yaşları arasında sağlıklı sigara içmeyen bireylerden heparinize (1/10) edilmiş tüplere alınan kan 12-14 damla olacak şekilde paylaştırıldı. Kan hücreleri besiyerine ekildikten sonra steril şartlarda hazırlanmış BrdU eriği mikropipet yardımıyla 10 mg/ml olacak şekilde besiyerlerine verildi. Bu tüpler çok sarsılmadan hafifçe çalkalandıktan sonra etüve konuldu ve  $37 \pm 1^\circ\text{C}$  72 saat inkübe edilmesi için bırakıldı. İnkübasyon süresinin 48. saatinde önce Mitomisin C (0.3 µl/ml) eriği eklenipve daha sonra aseton ile 4/1 oranda seyreltilmiş *V. myrtillus* 0.2, 0.4, 0.8, 1.6 µl/ml olacak şekilde 4 farklı doz meyve ekstraktları 4 farklı besiyerine verildi. Pozitif kontrol olarak ise MMC kullanıldı.

Hücreler inkübasyonun 70. saatinde yani döngünün bitmesine 2 saat kala kolşisin eriği (0.06 µg/ml) ile muamele edildi. Aseton çözücü ve negatif kontrol olarak kullanıldı. Hücre inkübasyon süresi bittikten sonra yani 72. Sate 2000 rpm de 10 dakika boyunca santrifüj işlemi yapıldı. Santrifüj işleminden sonra supernatant atıldı ve tüpün altında kalan 0.2 - 0.5 ml kalan hücreler daha önce etüvde ısıtılmış KCI hipotonik solüsyon ile damla damla muamele edilidikten sonra hücrelerin patlaması ve kromozomların daha iyi görüntülenmesi için  $37^\circ\text{C}$  30 dk etüvde bekletildi. Etüvde bekletilme süresinden sonra santrifüj edildi ve supernatant atılarak cornay fiksatifinden yaklaşık 4.5 ml damla damla eklenildi tekrar santrifüj gerçekleştirildi. Bu işlem ard arda üç kez tekrarlandı. Son santrifüjden sonra supernatant atıldı ve altta kalan yaklaşık 0.5 ml hücreler preparatlara yayıldı ve 24 saat kuruması için bırakıldı (Speit ve Haupter, 1985).

### 2.2.2 Preparatların Boyanması

Bu yöntem Speit ve Haupter' in 1985 yılında geliştirdikleri metotdan modifiye edilmiştir. Kardeş kromatid değişimini saptmak için yapılan bu özel boyama yönteminde daha önce hazırlanan ve kurutulan preparatlar Sorensen tampon ile üzeri

çok ince bir tabaka halinde kapatıldı. Sorensen tamponu, tampon A ve tampon B tamponlarından 5'er ml alınarak steril distile su ile toplamda 100 ml olacak şekilde hazırlandı (pH=6.80). Hazırlanan preparatlar 15 cm yüksekliğindeki mesafeden 30 W'lık 254 nm dalga boylu ultraviyole lambası ile yaklaşık 30 dakika boyunca ışınlandı. Işınlanma sonrası stok olarak hazırlanan 5×SSC çözeltisinden 20 ml alınarak steril saf distile su ile 100 ml tamamlandı ve 1×SSC solüsyonu hazırlandı. Işınlanan preparatlar bu solüsyonda 58-60 ° C sıcaklık aralığında 60 dakika boyunca etüvde bekletildi. Saline sitrat solüsyonunda çıkarılan preparatlar %5' lik giemsa (5 ml A tamponu, 5ml B tampon, 5 ml giemsa boyası ve 85 ml steril distile su) boyasında 20 dk bekletildi ve bu süre sonunda üç farklı kaptaki bulunan distile sudan geçirilerek kurumaya bırakıldı. 24 saat sonra kuruyan preparatlar entellan yardımı ile daimi hale getirildi (Speit ve Haupter, 1985).

### **2.2.3 Mikroskopik İnceleme**

Entellan yardımı ile daimi hale getirelen preparatlar Olympus marka mikroskopta incelendi.

### **2.2.4 KKD ve Replikasyon İndeksinin (RI) Saptanması**

Bu yöntem Speit ve Haupter'in 1985 yılında geliştirdikleri metottan modifiye edilmiştir. Kardeş kromatit değişim sayısı her örnekten 100'er adet ikinci mitozu içeren hücre sayımıyla tespit edildi. Replikasyon indeksinin hesaplanması da aşağıdaki formüle göre yapıldı.

Replikasyon İndeksinin Hesaplanması

$$RI = 1x (M1) + 2x (M2) + 3x (M3) / 100$$

M1 = Birinci mitozu geçiren hücreler

M2 = İkinci mitozu geçiren hücreler

M3 = Üçüncü mitozu geçiren hücreler

### **2.2.5 Mikroskopta Fotoğraf Çekme**

Hazırlanan ve daimi hale getirilen preparatlar Olympus marka binoküler mikroskopta fotoğraflandı.

### **2.2.6 İstatiksel Analizler**

KKD sayımları sonucunda elde edilen verilerin istatiksel hesaplamaları paket program (GraphPad InStat V 3.05) yardımıyla bilgisayar ortamında yapıldı. Gruplar arasında farklılıkların belirlenmesi için Dunnett ve Tukey çoklu karşılaştırma testleri kullanıldı. Doza bağlı etkiler arasındaki bağlantılar için tüm verilerin regresyon ve korelasyon analizleri yapıldı.

### 3. BULGULAR

#### 3.1 *Vaccinium myrtillus* L. Ekstraktları Farklı Dozlarının MMC'ye Karşı İnsan Periferal Lenfosit Kültüründe Antimutajenik Etkileri

*V. myrtillus* ekstraktlarının 0.2 µl/ml, 0.4 µl/ml, 0.8 µl/ml ve 1.6 µl/ml dozları ile 24 saat muamele edilen insan periferal lenfositlerinde belirlenen ortalama kardeş kromatid sayıları tablo 3.1' de görülmektedir. Her iki kontrolle karşılaştırıldığı zaman, sayılan 100 hücrede, *V. myrtillus* ekstraktlarının insan lenfositlerinde KKD sayısını MMC'nin yaptığı artışı belirli kademelerde azalttığı görüldü *V. myrtillus* ekstraktlarının dozu ve SCE arasında ( $r=-0.02$ ) negatif korelasyon bulundu.

**Tablo 3. 1** Farklı dozlarda *V. myrtillus* ekstraktı ile 24 saat muamele edilen insan periferal lenfositlerinde ortalama kardeş kromatid değişimi (KKD) sayısı.

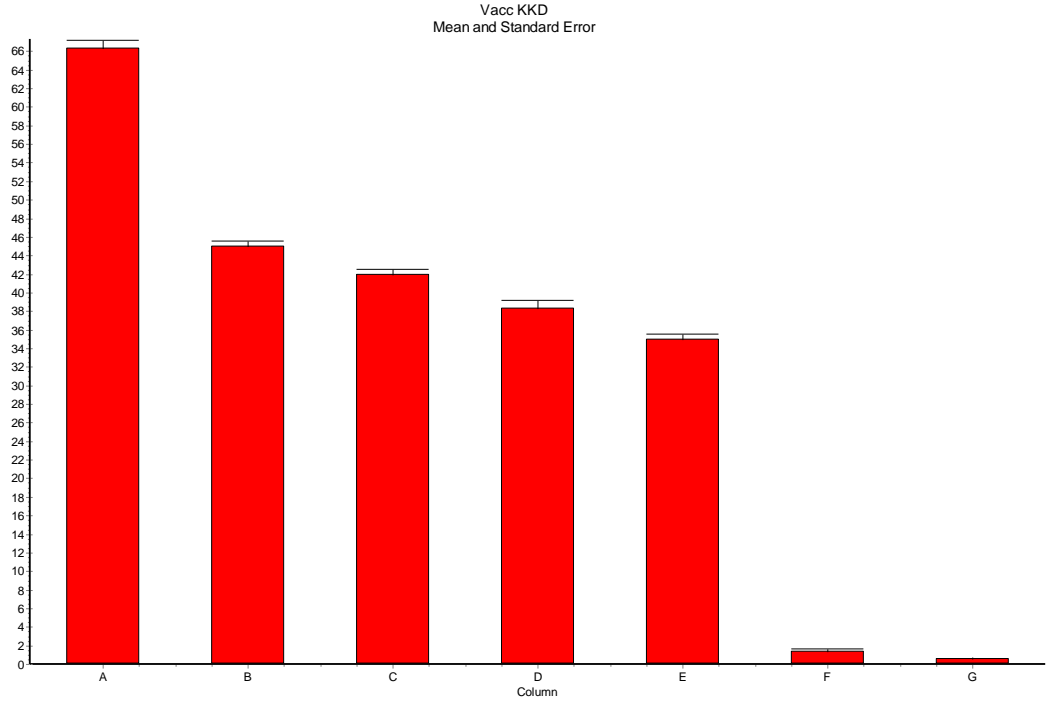
Gruplar	Konsantrasyon (µl/ml)	Muamele süresi (saat)	Toplam Hücre	KKD sayısı	±SEM (%)
Pozitif Kontrol (MMC)	0.3 µg/ml	24	100	66	±0.88
<i>V. myrtillus</i> Ekstraktı+ MMC	0.2 µl/ml	24	100	45*	±0.57
	0.4 µl/ml	24	100	42*	±0.57
	0.8 µl/ml	24	100	35*	±0.88
	1.6 µl/ml	24	100	28*	±0.55
Negatif Kontrol	-	24	100	0.3	±0.33
Aseton	2.5 µl/ml	24	100	1	±0.21

KKD:Kardeş Kromatid Değişimi, MMC:Mitomisin C, SEM:±Ortalamanın Standart Hatası

Dunnett T testi ile karşılaştırıldı.

Negatif kontrolle çözücü kontrol arasında fark yok ( $p > 0.05$ ).

\*Kontrol ve solvent kontrole göre önemli ( $p < 0.01$ )



**Şekil 3. 1** Farklı dozlarda *V. myrtillus* ekstraktı ile 24 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde ortalama kardeş kromatid değişimi sayısı. (A: Pozitif Kontrol, B: MMC+ *V. myrtillus* (0.2 µl/ml), C: MMC+ *V. myrtillus* (0.4µl/ml), D: MMC+ *V. myrtillus* (0.8 µl/ml), E: MMC+ *V. myrtillus* (1.6 µl/ml), F: Aseton (2.5 µl/ml), G: Negatif Kontrol).

### 3.2 *V. myrtillus* L. ekstraktı gruplarının İnsan Lenfosit Hücrelerinde Replikasyon İndeksi (RI)

**Tablo 3. 2** *V. myrtillus* ekstraktı Gruplarının İnsan Lenfosit Hücrelerinde Replikasyon İndeksi (%).

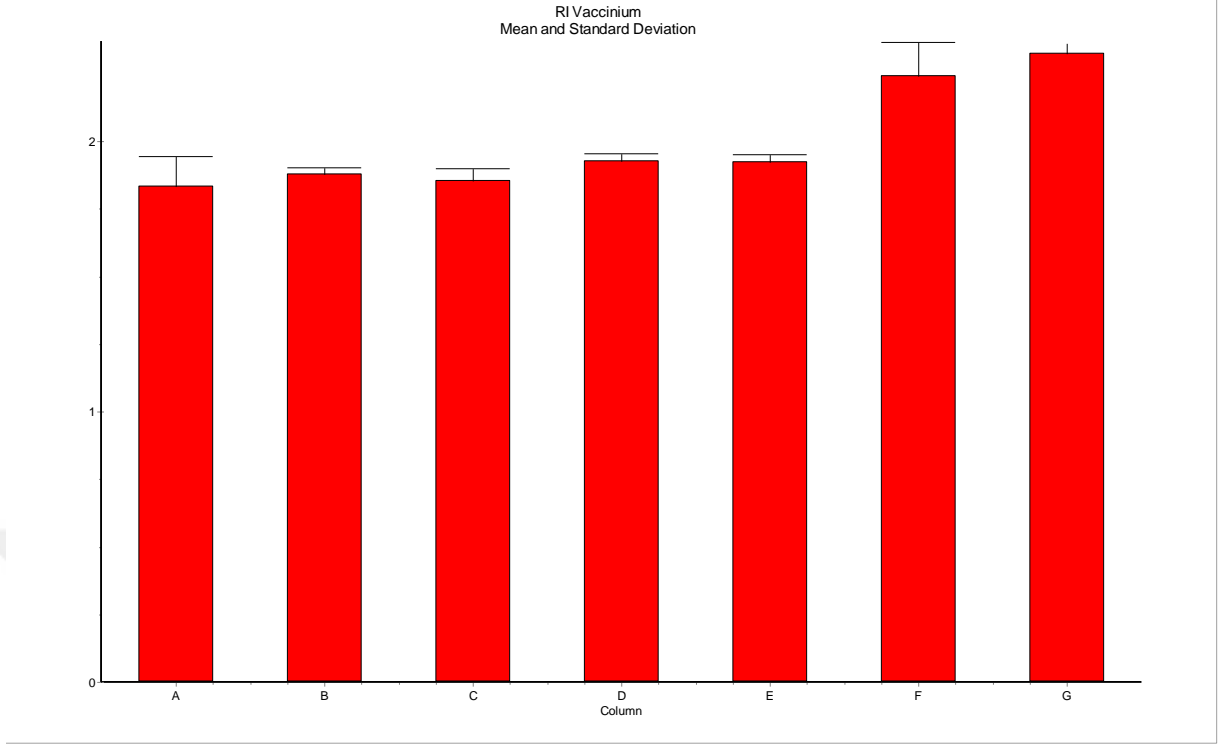
Gruplar	Konsantrasyon (µl/ml)	Muamele Süresi (saat)	Toplam Hücre	M1	M2	M3	RI	±SEM (%)
<b>Pozitif Kontrol</b>	0.3 µg/ml	24	100	45	28	27	1.82	±0.06
<b>Negatif Kontrol</b>		24	100	20	32	48	2.28	±0.02
<b>Aseton</b>	2.5 µl/ml	24	100	18	30	52	2.34	±0.07
<b><i>V. myrtillus</i> Ekstraktı+ MMC</b>	0.2 µl/ml	24	100	41	30	29	1.88*	±0.01
			100	42	35	23	1.81*	±0.02
	0.4 µl/ml	24	100	39	29	32	1.93*	±0.03
	0.8 µl/ml	24	100	38	32	30	1.92*	±0.02
	1.6 µl/ml	24						

RI: Replikasyon İndeksi, M1: Mitoz 1, M2: Mitoz 2, M3: Mitoz, MMC: Mitomisin C, SEM: Ortalamanın standart hatası.

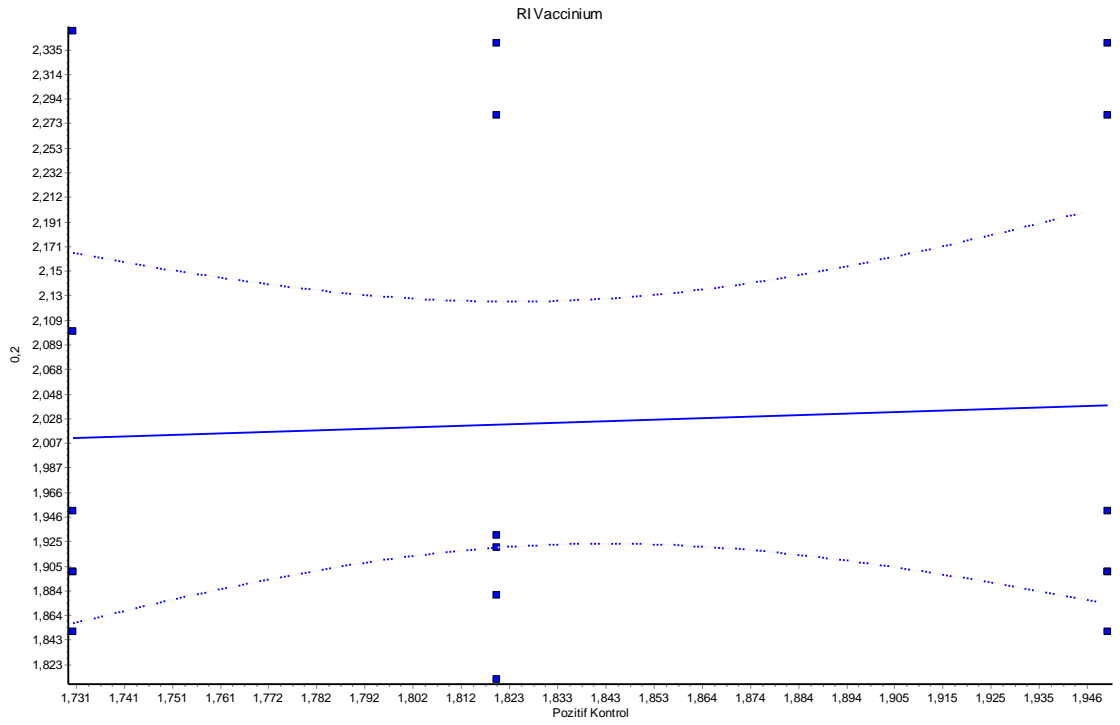
Dunnett T testi ile karşılaştırıldı.

Negatif kontrolle çözücü kontrol arasında fark yok ( $p > 0.05$ ).

\*Kontrol ve solvent kontrole göre önemli ( $p < 0.01$ ).



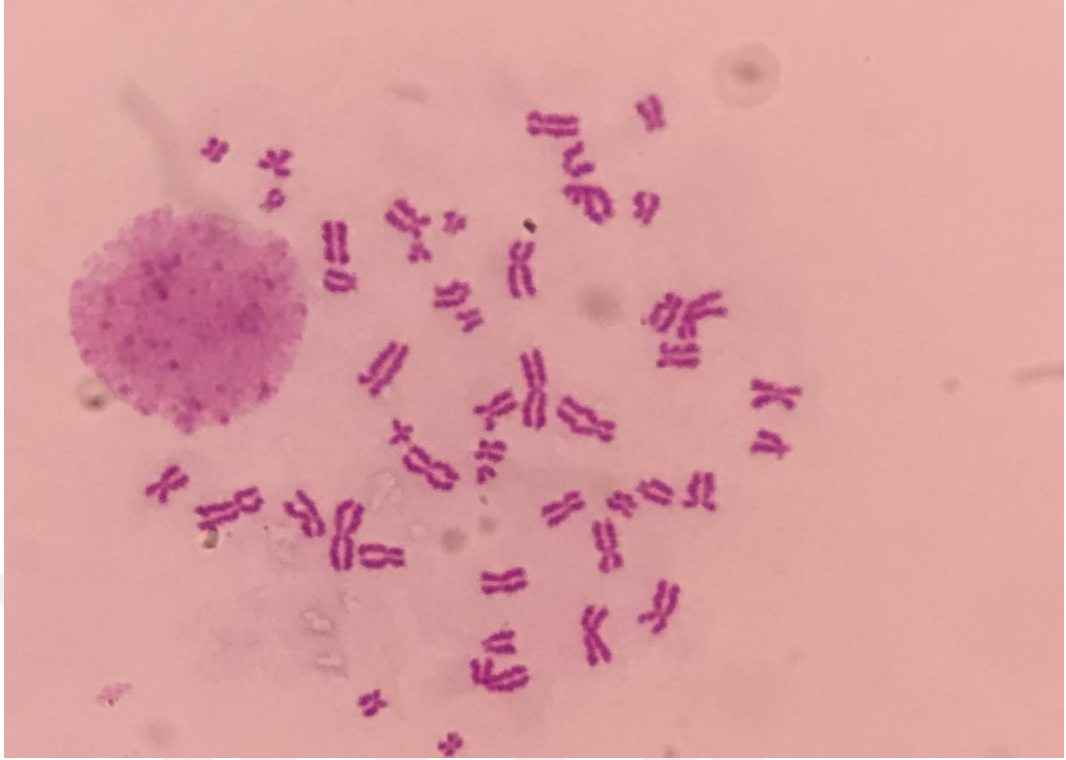
**Şekil 3. 2** Farklı dozlarda *V. myrtillus* ekstraktı ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde ortalama replikasyon indeksi. (A: Pozitif Kontrol, B: MMC+ *V. myrtillus* (0. 2 µl/ml) C: MMC+ *V. myrtillus* (0 .4 µl/ml), D: MMC+ *V. myrtillus* (0.8 µl/ml), E: MMC+*V. myrtillus* (1.6 µl/ml), F: Aseton (2.5 µl/ml), G: Negatif Kontrol).



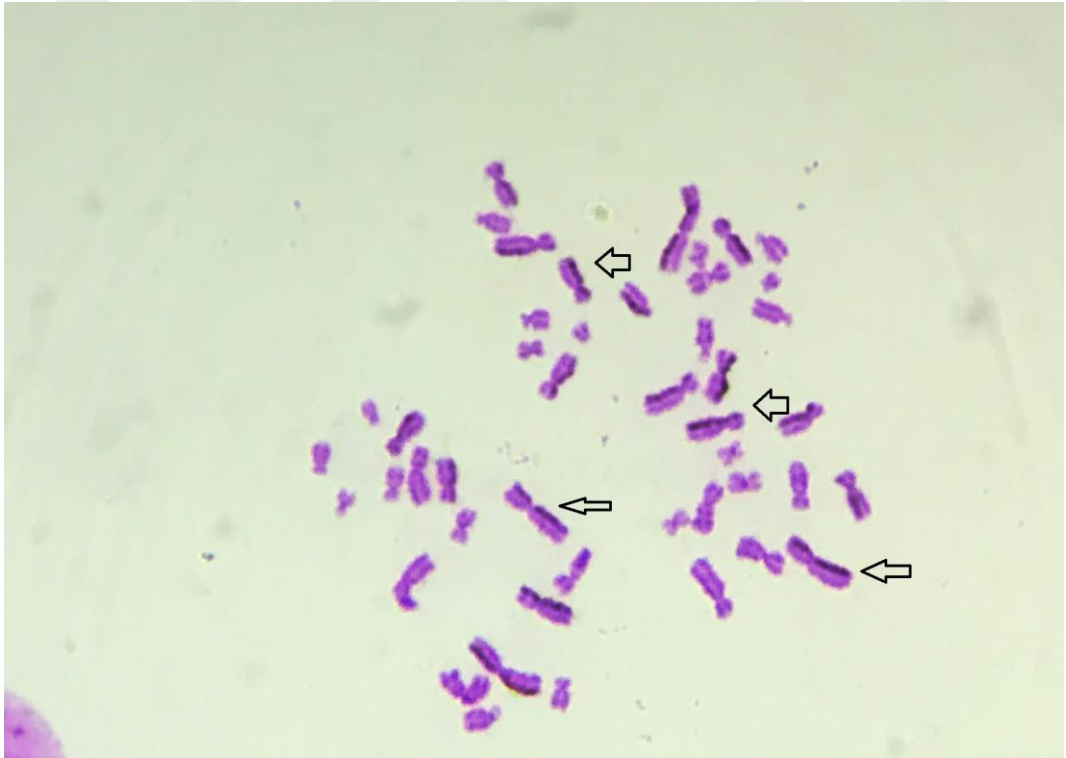
**Şekil 3.3** *V. myrtillus* için doz ve replikasyon indeksi arasında pozitif korelasyon bulunmuştur ( $r= 0.05$ ).

Replikasyon indeksi pozitif kontrolde 1.82 idi, negatif kontrolde ise 2.28 düzeyindeydi. *V. myrtillus*'un farklı dozlarının doza bağlı şekilde MMC'nin hücre bölünmesini baskılayıcı etkisini düzelttiği belirlendi. *V. myrtillus* için doz ve replikasyon indeksi arasında pozitif korelasyon bulundu ( $r= 0.05$ ).

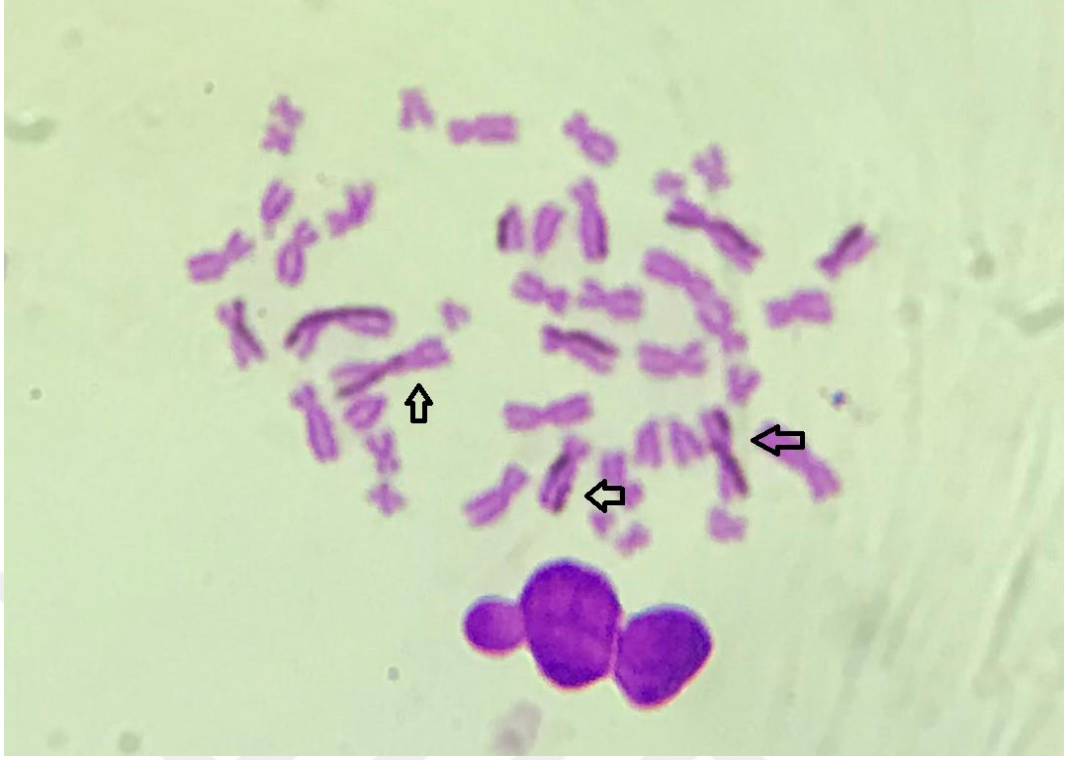




**Resim 3. 1** M1 evresindeki metafaz plağı (x1000)



**Resim 3. 2** M2 evresindeki metafaz plağı (x1000)



**Resim 3. 3** M3 evresinde metafaz plağı (x1000)

#### 4. SONUÇLAR ve TARTIŞMA

İnsanoğlu bilinen tarihten beri bitkisel ve çeşitli hayvansal kaynakları kullanmaktadır. Ancak bitkisel kaynaklara erişimin kolay olması ve evrilen toplum yapıları dolayısıyla bitkiler her açıdan insanlar için daha uygun hale gelmiştir. Bitkilerin bütün kısımları insanlar tarafından çeşitli amaçlarla kullanılmaktadır. Ancak tohum, yaprak ve meyve kısımları çoğunlukla ilaç yapımında tercih edilmektedir. Yer kürede bulunan bitkilerin yüksek bir oranı hala biyolojik ve kimyasal etkileri bakımından araştırılmamıştır. Dünya üzerinde sayısız bitki bulunmakla birlikte yaklaşık 20000'i tıbbi amaçla kullanılmaktadır (Baytop, 1984). Türkiye gerek Akdeniz ikliminin etkisi gerek Doğusunda sahip olduğu yükseltiler sayesinde geniş bitki çeşitliliğine sahip ender ülkelerden biridir. Türkiye'de 9000 üzerinde kayıtlı bitki türü bulunmaktadır. Bu bitkilerden yaklaşık 1000 tanesi ilaç hammaddesi olarak kullanımının yanı sıra baharat olarakta kullanılmaktadır (Cellat, 2011).

Deng ve arkadaşlarının miyop Gine domuzlarında yaptıkları bir çalışma sırasında 30 tane 3 haftalık domuz kullanılmıştır. Bu domuzlar gruplara ayrılıp belirli dozlarda yaban mersini ekstraktları verilmiştir. Gruplarda yapılan incelemeler sonucu domuzlardaki miyop oranının azaldığı ortaya konulmuştur. Bu çalışmanın sonucunda *V. myrtillus* ekstraktlarının göz hastalıkları için tedavi edici olarak kullanılabileceği ileri sürülmüştür (Deng ve ark., 2016).

Bir başka çalışmada ise Stefanescu ve arkadaşları tarafından Ericacea ailesine ait Vaccinioideae yarı ailesine üye bitkilerin yapraklarının sahip olduğu yüksek fenolik bileşikler sayesinde kardio vasküler hastalıklar başta olmak üzere obezite, kanser gibi bir çok hastalığa iyi geldiği derlenmiştir (Stefanescu ve ark., 2019).

Chan ve Tomlison yaban mersini ile yaptıkları çalışmada yaban mersinin anti - inflamuatar ve anti-obezite özelliklerinden başka tip 2 diyabet ve kardio vasküler rahatsızlıklar gibi birçok metabolik hastalığa içeriğindeki yüksek antisiyonin oranından dolayı iyi geldiği rapor edilmiştir (Chan ve Tomlison, 2020).

2019 yılında yapılan bir çalışmada ise fareler üzerinde yapılan deneyler sonucunda yaban mersini ekstraktlarının başta anksiyete olmak üzere hafıza, mekansal öğrenme gibi birçok duruma etki ettiği ortaya konulmuştur (Shipelin ve ark., 2019).

Dabbou ve arkadaşlarının yaptığı bir çalışmada ise özütünden arındırılmış yaban mersini tavşanların diyetine uygulanmıştır. Bu çalışmanın sonucunda ise tavşanlarda yüksek oranda yağ metabolizmasına etki ettiği bunun yanı sıra safra asitleri üzerine de etkisi olduğunu açıklanmıştır (Dabbou ve ark., 2017).

Kaya tarafından yapılan bir çalışmada *V. myrtillus* ekstraktaları MMC'nin mutajenik etkisine karşı insan lenfosit hücre kültürüne uygulanmıştır. Belirli dozlarda verilen *V. myrtillus* ekstraktları başta mitotik indeks olmak üzere kromozomal aberasyonlar gibi mutajenite ve karsinojenite göstergesi olan durumlara pozitif etkisi gösterilmiştir. Mikronukleus testinde de aynı iyileştirici sonuç gözlenmiştir. *V. myrtillus* bitki ekstraktlarının iyileştirici özelliği rapor edilmiştir (Kaya, 2018).

Azab ve arkadaşlarının 2019 yılında yaptıkları bir çalışmada ise akciğer kanseri, beyin kanseri gibi birçok kanser türünün tedavisinde kullanılan sisplatin ve karboplatin ilaçlarının kromozomal aberasyon ve kardeş kromatid değişim testleri ile toksik etkisi incelenmiştir. Çalışmada sağlıklı sigara içmeyen 22-24 yaşları arasındaki donörlerden alınan kan lenfosit hücre kültürüne alınmış ve daha sonra bu ilaçlar hücre kültürüne ilave edilmiştir. Sisplatin ve karboplatin antineoplastik ilaçlar grubunda yer almaktadır. DNA'yı alkiliyen bir grupta bulunmalarından dolayı DNA'da çapraz bağlar oluşturmaktadır. Çalışmanın sonucunda kromozomal aberasyon sayısının arttığı ve bununla birlikte kardeş kromatid değişiminin de anlamlı oranda arttığı rapor edilmiştir (Azab ve ark., 2019).

Yapılan bir çalışmada benzanol peroksitin insan lenfosit hücrelerinde genotoksik etkisi incelenmiştir. Benzanol peroksit gıda endüstrisinde kullanılan ve unda beyazlatma görevi yapan bir maddedir. Yapılan çalışma sonucunda doza ve süreye bağlı olarak KKD oranında artışa neden olduğu rapor edilmiştir (Sevinç, 2006).

Güzel ve Ayaz tarafından yapılan bir çalışmada günümüzde oldukça popüler olan paraben maddesinin kromozomal aberasyon, mikronukleus ve kardeş kromatid değişim testleri yardımıyla toksik etkisi incelenmiştir. Paraben antimikrobiyal olarak gıda ve temizlik endüstrisinde oldukça yaygın bir kullanım alanına sahiptir. İnsan periferik lenfositlerinde 24 ve 48 saat olmak üzere iki farklı inkübasyon süresi boyunca farklı dozlarda parabenin etkisi incelenmiştir. Yapılan çalışma sonucu artan inkübasyon süresi ile paralel olarak paraben maddesinin yapılan bütün test sistemlerinde oldukça toksik bir etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur (Güzel ve Ayaz, 2019).

Bir başka KKD çalışmasında ise Madhuri ve arkadaşları tarafından mide kanseri hastalarında kemoterapi ilaçlarının etkisinin incelenmesi amaçlanmıştır. Bu hastalara ve kontrol grubunda bulunan hastalara kardeş kromatid değişim testi yapılmıştır. Yapılan test sonucunda mide kanseri hastalarının kemoterapi ilaçları sebebiyle kardeş kromatid değişim oranı ve kromozomal aberasyon oranı arttığı ortaya konulmuştur (Madhuri ve ark., 2012).

Yapılan tüm literatür taramaları ve çalışmamızın ışığında *V. myrtillus* bitki ekstraktlarının MMC' nin yaptığı KKD artışını düzeltici etkisi kardeş kromatid değişim testi ile belirlendi. *V. myrtillus* bitkisinin insan periferik lenfosit kan hücresi kültüründe 0.2 µl/ml, 0.4 µl/ml, 0.8 µl/ml ve 1.6 µl/ml dozlarında MMC' nin mutajenik etkilerine 24 saatlik inkübasyon sonuçları aşağıdaki gibidir;

- 1) *V. myrtillus* ekstraktlarının insan lenfosit kültüründe KKD sayısını MMC' nin yaptığı artışı belirli oranda azalttığı görüldü.
- 2) *V. myrtillus* ekstraktlarının dozu ve KKD azalışı arasında pozitif korelasyon ( $r=0.02$ ) tespit edildi.
- 3) *V. myrtillus* için doz ve replikasyon indeksi arasında pozitif korelasyon bulundu ( $r=0.05$ ).

Yukarı da açıklanan sonuçlar doğrultusunda;

*V. myrtillus*'un antimutajenik etkilerinin bulunduğu, çalışmamızda elde edilen sonuçlarla da saptandı. *In-vitro* bu çalışma *V. myrtillus* bitkisinin yararlı etkilerinin açıklanmasında yetersiz kalabilir. Konunun *in-vitro* ve *in-vivo* olarak daha ayrıntılı çalışılması gerektiğini düşünüyoruz.

## 5. KAYNAKLAR

- Ağaoğlu, Y.S., (1986). Üzümsü Meyveler Ders Kitabı, A.Ü. Ziraat Fakültesi Yayını, Ankara, 290.
- Akkemik, Ü., (2018). Türkiye'nin Doğal-Egzotik Ağaç ve Çalıları. T.C. Orman ve Su İşleri Bakanlığı Orman Genel Müdürlüğü, Ankara.
- Akman, Y., (1998). Bitki Biyolojisine Giriş, Botanik. Palme Yayıncılık, Ankara, 1-220.
- Aksu, P., (2012). Akrilamidin In vivo ve In vitro Genotoksitesisi Üzerine Fenolik Bileşiklerden Pelargonidin ve Gallik Asidin Etkileri, Doktora Tezi, Kafkas Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Azab, B., Alassaf, A., Abu-Humdan, A., Dardas, Z. Almousa, H., Alsaem, M., Khabour O., Hammad, H., Saleh, T., Awidi, A., (2019). Genotoxicity of Clasplatin and Carboplatin in Cultured Human Lymphocytes a Comparative. İnterdsicip Toxicol, 12(2) 93-97.
- Balcı, N., (2015). Yaban Mersini Meyvesinden (*Vaccinium arctostaphylos* L.) Glutasyon s-Transferaz Enziminin Saflaştırılması, Karakterizasyonu ve Kinetik Özelliklerinin İncelenmesi. Atatürk Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Erzurum.
- Barlow, S. M., (2013). Safety of Food Additives in Europe. Saltmarsh. Essential Guide Degenerative Diseases of Aging. Proceedings of National Academy of Sciences of the United States of America, U.S.A. 90, 79157922.
- Barch, J.M., (1991). The Act Cytogenetic Labaratory Manual. Gustohow. Second Edition Raven Press. 1985 Avense of The America. New York.
- Baytop, T., (1984). Türkiye'de Bitkiler ile Tedavi Geçmişten Bugün'e. Nobel Tıp Kitapevi, İstanbul, 975-420-021-1, 480.

- Becerril, C., Acevedo, H., Ferrero, M., Sanz, F., and Castaño, A. (2001). DNA Fingerprint Comparison of Rainbow Trout and RTG-2 Cell Line Using Random Amplified Polymorphic DNA. *Ecotoxicology*, 10(2), 115-124.
- Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B.Ş. ve Alvir, M., (2004). DNA Hasarı Analizinde  $\mu$ -Fadu ve Comet Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Türk Klinik. Biyokimya Dergisi*, 2 (3): 97-103.
- Benli, M., Yiğit, N., (2005). Maya Hücre Duvar Yapısının Dinamikleri. *Orlab Online Mikrobiyoloji Dergisi*, 3 (3). 11-17. [www.mikrobiyoloji.org/pdf/702030104](http://www.mikrobiyoloji.org/pdf/702030104).
- Berridge, M. J., (2014). *Cell Cycle and Proliferation, Cell Signalling Biology*, Portland Press Limited, 2.
- Bilgin, B., (2004). Düzce İli ve Çevresindeki Gökkuşuğu Alabalığı (*Oncorhynchus mykiss*) Üretim Tesislerindeki Balıklarda Kromozom Farklılıklarının Belirlenmesi. İstanbul Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- Bozcuk, A. N., (2005). *Genetik*, Palme Yayıncılık, Genişletilmiş Düzeltilmiş İkinci Baskı, Ankara.
- Brooker, R. J., (2012). *Genetics: Analysis & Principles*, Fourth Edition. McGraw-Hill, New York.
- Burdulis, D., Sarkinas, A., Jasutiene, I., Stackevicene, E., Nikolajevs, L., Janulis, V., (2008). Comparative Study of Anthocyanin Composition, Antimicrobial and Antioxidant Activity in Bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) and Blueberry (*Vaccinium corymbosum L.*) Fruits. *Acta Poloniae Pharmaceutica*, 66(4), 399-408.
- Cabadak, H., (2008). Hücre Siklusu ve Kanser. *ADÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 9 (3). 51-61.

- Cellat, K., (2011). Bazı Endemik Bitkilerin Uçucu Yağ Bileşenlerinin Ekstrakte Edilmesi ve İçeriklerinin Araştırılması, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.
- Cemeroğlu, B. ve Acar, J. (1986). Meyve ve Sebze İşleme Teknolojisi. Gıda Teknolojisi Derneği. Yayın No: 6, Ankara.
- Ceylan, A., (1995). Tıbbi Bitkiler I.e.Ü. Ziraat Fakültesi Bornova, İzmir, 3. Basım No: 312.
- Chan, W.S., Tomlison, B., (2020). Effect of Biliberry Supplementation on Metabolic and Cardio Vascular Disease Risk. *Molecular Journal*, 25(7)1653.
- Choy, W.N., (2001). Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment. Marcel Dekker, New York, 29-187.
- Cooper, G. M., Hausman, R. E., (2016). Hücre Moleküler Yaklaşım 7. Baskı, İzmir Tıp Kitabevi, Çeviri Editörleri, Atabey, N., Kalay, E., İzmir.
- Connor, J. M., Ferguson-Smith, M. A., (2014). Tıbbi Genetiğin Esasları. 6. Baskı, İstanbul Tıp Kitabevi, Çeviri Editörleri, Oğur, G., Dündar, M., İstanbul.
- Craker, L.E., Grander, Z., Etter, S.C., (2003). Herbs in American Fields. *Hort Science*, 38(5). 977-978.
- Cunney, H. and Hodgson, E., (2004). A Textbook of Modern Toxicology, John Wiley & Sons, Incorporated, USA.
- Çelik, H., (2006). Karadeniz Bölgesindeki Asitli Topraklar İçin Mükemmel Bir Meyve. LİKAPA (Yaban Mersini). Of Ziraat Odası Yayın Organı-Çiftçi Dünyası. 2. Sayı.
- Çelik, E., Çelik, G.Y., (2007). Bitki Uçucu Yağlarının Antimikrobiyel Özellikleri. *Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi*, 05(2):1-6.



Dabbou, S., Gai, F., Renna, M., Rotolo, L., Dabbou, S., Zoccarato, C., (2017) Inclusion of Bluberry Pomace in Rabbit Diets: Effects on Carcass Characteristics and Meat Quality. *Meat Science*, 124, 77-83.

Demirsoy, A., (1995). Kalıtım ve Evrim. Meteksan A.Ş., V. B. Ankara, 902.

Deng, H. W., Tian, Y., Zhang, X.M., Meng, J., (2016). Effect of Bluberry Extract on Development of Form Deprivation Myopia in the Guine Pig. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, 32(4)196-202.

Doğanay S., (2014). Akut Yorucu Egzersiz Yaptırılan Ratlarda Kan ve Karaciğer Oksidan -Antioksidan Sistemler Üzerine Bluberry'nin (Yaban Mersini) Etkileri. Atatürk Üniversitesi, Erzurum.

Emre, S., (1989). Antikanser İlaçların ve Karsinojen Maddelerin İnsan Kromozomları Üzerine Etkilerinin İn Vitro Sistemde Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange, SCE) Analiz Yöntemi ile Belirlenmesi, Doktora Tezi, Hacettepe Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Ankara.

Ergün, S., (2005). Sjögren Sendromlu Hastalarda Genomik İnstabilitenin Sitogenetik Bir Biomarker Olan Kardeş Kromatid Değişim Sıklığı Yöntemiyle Araştırılması İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bil. Ens. Ağız, Diş Çene Cerrahisi Anabilim Dalı, Doktora Tezi, İstanbul.

Ertürk, Y.E. ve Geçer, M.K., (2014). Üzümsü Meyveler Ekonomisi.İğdır Üniversitesi Ziraat Fakültesi Ders Notları, İğdır, Türkiye.

Göktaş, G., (2013). Yaban mersini (*Vaccinium myrtillus /Vaccinium corymbosum*) fenolik Bileşiklerinin LC-MS/MS ile Belirlenmesi. (Yüksek lisans tezi). Ankara Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Gıda Mühendisliği Anabilim Dalı, Ankara.

Guay D. R., (2009). Cranberry and Urinary Tract Infections. *Drugs*, 69:775-807

- Güneş, H. V., (2006). Moleküler Hücre Biyolojisi.2. Baskı, Kaan Kitabevi, Eskişehir, 1-113.
- Gürsoy, O.V, Gürsoy, U.K., (2004). Anadoluda Ve Dişeti İle İlgili Hastalıkların Tedavisi Halk Arasında Yaygın Olarak Kullanılan Bitkiler, Kullanım Şekilleri ve Bitkisel Özellikleri. Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, 7(1): 6
- Güzel, B.D., Ayaz T.B., (2019). In vitro Genotoxic Effects of Some Parabens Esters on Human Peripheral Lymphocytes. Drug Chemical Toxicol, 42(4) 386-389.
- Hagmar, L., Bonassi, S., Stromberg, U., Mikoczy, Z. and et al., (1998). Cancer predictive Value of Cytogenetic Markers Used in Occupational Health Surveillance Programs: a Report From an Ongoing Study by The European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health. Mutation Research /Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis, 405,2:171-8.
- Hamurcu, Z., Altunbaş, D. H., Patiroğlu, T., (2008). Basal Level Micronucleus Frequency in Stimulated Lymphocytes of Untreated Patients with Leukemia. J. Cancer Genetics Cytogen, 180,140-144.
- Hardin, J., Bertoni, G., (2019). Becker'in Hücre Dünyası. Çeviri Editörü, Beldüz, A. O., Palme Yayınevi.
- He, J., Giusti, M. M., (2010). Anthocyanins: Natural Colorants with Health-Promoting Properties. Annual Review of Food Science and Technology, 1, 163-187.
- Helmstädter, A. and Schuster, N., (2010). *Vaccinium myrtillus* as an Antidiabetic Medicinal Plant—Research Through the Ages. Institute for the History of Pharmacy, 65(5), 315-321.

- Iball, J., Morgan, C.H., Wilson, H.R., (1966). Structures of 5-bromodeoxyuridine and 5' - bromouridine. Nature, 1230-1232.
- Jakobsen, L., Vanselow, K., Skogs, M., Toyoda, Y., Lundberg, E., Poser, I., Falkenby, (2011). Novel asymmetrically localizing Components of Human Centrosomes Identified by Complementary Proteomics Method. The EMBO Journal, 30 (8), p. 1521.
- Karol, S., Ayvalı, C. ve Suludere, Z., (2000). Hücre Biyolojisi. Öğün Matbaacılık, Ankara, 337.
- Kaya, M.M., (2018). Yaban Mersini ve Ahududu Bitkilerinden Elde Edilen Sıvı Ekstraktların İnsan Lenfosit Kültürün Mitomisin C'e Karşı Kromozomlar ve Hücre Bölünme Mekanizması Üzerine Antimutajenik Ekilerinin Araştırılması. T.C. Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kars.
- Khan, M. S., (2014). Genotoxicity: In Vivo Cytogenetic Assays. International Journal of Pharmamedix India, 2(3), 792-803.
- Krauze-Baranowska, M., Majdan, M., Hałasa, R., Glód, D., Kula, M., Fecka, I., Orzeł, A., (2014). The Antimicrobial Activity of Fruits from Some Cultivar Varieties of *Rubus idaeus* and *Rubus occidentalis*. Food & Function, 5(10), 2536-2541.
- L'amar –Herbal Products, (2006). Skin Care (Advertisement Listing Ingredients of Skin Care Products). [www.mall.coimbatore.com/bnh/lamar/skincare.html](http://www.mall.coimbatore.com/bnh/lamar/skincare.html). Erişim Tarihi: 03.02.2020.
- Lätti, A.K., Riihinen, K. R., Kainulainen, P. S., (2007). Analysis of anthocyanin variation in Wild populations of bilberry (*Vaccinium myrtillus L.*) in Finland. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(1), 190-196.

- Madhuri K., Vani K., Rabbani Syed, S. Jithender Kumar Naik ve Khalid Alharbi., (2011). Assessment of Drug İnduced Genotoxicity in Gastric Cancer Patients. African Journal of Biotechnology, 11(4), 974-978.
- Može, S., Polak, T., Gasperlin, L., Koron, D., Vanzo, A., Poklar Ulrih, N., Abram, V., (2011). Phenolics in Slovenian bilberries (*Vaccinium myrtillus L.*) and blueberries (*Vaccinium corymbosum L.*). Journal of Agricultural and Food Chemistry, 59(13), 6998-7004.
- Natarajan, A. T., Obe, G., (1982). Mutagenicity Testing with Cultured Mammalian Cells. Cytogenetic Assays. Heddle JA Mutagenicity. New Horizons in Genetic Toxicology. Academic Pres, New York, 1-213.
- National Plant Data Center., (1996). NRCS, USDA. Baton Rouge, LA 70874-4490 USA. Erişim tarihi: 26.04.2020. <http://plants.usda.gov>
- Nizamlioğlu, N. M., Sebahattin, N. A. S., (2010). Meyve ve Sebzelerde Bulunan Fenolik BileşiklerinYapıları ve Önemleri. Gıda Teknolojileri Elektronik Dergisi, 5(1), 20-35.
- Özhatay, N., Koyuncu, M., (1998). Türkiye’de Doğal Bitkilerin Ticareti, XII. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı 20-22 Mayıs 1998 Bildiri Kitabı, Ankara, 11-38.
- Pierce, B. A., (2012). Genetics: A Conceptual Approach. 4. Edition. Freeman and Company, New York, USA.
- Reece, J. B., Urry, A. L., Cain, M. L., Wasserman, S. A., Minorsky, P. V. and Jackson, R. B., (2013). Campbell Biyoloji, Çeviri Editörleri, Gündüz, E., Türkan, İ., Palme Yayıncılık, Ankara, 100-257.
- Sevinç, B., (2006). Hematolojik Malign Hastalıklarda Genomik İnstabilitenin Farklı Sitogenetik Yöntemlerle (Kromozom Aberasyonu, Kardeş Kromatid Değişimi,

Mikronukleus) Araştırılması. İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Tıbbi Genetik ABD, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul.

Shipelin, V.A., Zorin, S. N., Kochetkova, A. A., Meza, V. K., (2019). The Impact of Blubery Leaves Polyphenols on The Anxiety Level, Spatial Learning and Memory of db/db Mice. *Voprosy Pitaniia Journey (Problem of Nutrition)*, 88(3)53-62.

Shirley, B.W., (1996). Flavonoid Biosynthesis: New Functions for a Old Pathway. *Trends in Plant Science*, 1 (11), 377-382.

Skrovankova, S., Sumczynski, D. Mlcek, J., Jurikova, T.and Sochor, J., (2015). Bioactive Compounds and Antioxidant Activity in Different Types of Berries. *International Journay of Molecular Sciences*, 16(10): 24673–24706.

Speit, G., Haupter, S., (1985). On the Mechanism of Differential Giemsa Staining of Bromodeoxyuridine Substitued Chromosomes. II. Differences Between the Demonstration of Sister Chromatid Differantiation and Replication Patterns. *Journal of Human Genetics*, 70, 126-129.

Stefanescu, B. E., Szaba, K., Mocan, A., Crişan, G., (2019). Phenolic Compounds From Five Ericae Speceis Leaves and Their Related Bio Availabitiy and Health Beneits. *Molecules*, 24 (11) 2046.

Stevens, P. F., (1978). *Vaccinium L.* In: Davis P. H. H. ed. *Flora of Turkey and the East Aegean Islands*. Volume 6. Edinburgh, Edinburgh University Press, Edinburgh, 100-104.

Şekeroğlu, Z. A., Şekeroğlu, V., (2011). Genetik Toksisite Testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4 (3), 221-229.

Taylor, J. H., Wood, P.S., Hugdos, M.L., (1957). The Organization and Duplication of Chromosomos as Revealed by Autoradiographic Studies Using Tritium L. Ablede

Thymidine. Proceeding of National Academy of Sciences of the United States of America, 43: 1.

Temizkan, G. O., (1994). Genetik: I. Temel Genetik, İstanbul Üniversitesi Fen Fakültesi Basım Evi, 2. Baskı. İstanbul, 281.

Topaktaş, M., Speit, G.,(1990). Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. Çukurova Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi, 5 (1-2-3), 73-84.

Topaktaş, M. ve Rencüzoğulları, E., (1995). Sitogenetik, Eds: Dağıtım, N. Y., Nobel Yayın Dağıtım, Ankara, 1-182.

Wang, S. Y., Bowman, L., Ding, M., (2008). Methyl Jasmonate Enhances Antioxidant Activity and Flavonoid Content in Blackberries (*Rubus* sp.) and Promotes Antiproliferation of Human Cancer Cells. Food Chemistry, 107(3), 1261-1269.

Young, D. W., Tollin, P., Wilson, H. R., (1969). The Crystal and Molecular Structure of Tymidine. Acta Crystallographica Section B, 1423-1432.

Zeiger, E., (2004). History and Rationale of Genetic Toxicology Testing: an Impersonal and Sometimes Personal View. Environmental and Molecular Mutagenesis, 44: 363371.

Zhao, C., Giusti, M. M., Malik, M., Moyer, M. P., Magnuson, B. A., (2004). Effects of Commercial Anthocyanin-rich Extracts on Colonic Cancer and Nontumorigenic Colonic Cell Growth. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 52 (20), 6122-6128.

Zheng W., Wang S.Y., (2003). Oxygen Radical Absorbing Capacity of Phenolics in Bluberries, Cranberries, Chokeberries, and Lingonberries. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 51, 502-509.

<https://www.flickr.com/photos/candidum/3797760054> Erişim Tarihi: 22.04.2020.



## ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Sübhan ÖZÇAĞDAVUL  
DoĐum Yeri ve Tarihi : Kars \01.10.1994  
Yabancı Dili : İngilizce  
İletiřim (e-posta) : sozcagdavul5@gmail.com

### EĐitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Bařakřehir Lisesi  
Lisans : Atatürk Üniversitesi \Molekler Biyoloji ve Genetik  
Yüksek Lisans : Kafkas Üniversitesi \ Biyoloji Anabilim Dalı