

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

**KİMYON (*Cuminum cyminum*) VE KARABAŞ KEKİĞİ (*Thymbra spicata*) BİTKİ
UÇUCU YAĞLARININ İNSAN LENFOSİT KROMOZOMLARI ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Yağmur YILDIZ
Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN
Doç. Dr. Süleyman GÜL

HAZİRAN – 2014
KARS

Bu tez çalışması 2013-FEF-90 numaralı proje ile KAÜ Bilimsel Araştırmalar Projeleri Başkanlığı tarafından desteklenmiştir.

T.C.

**KAFKAS ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KİMYON (*Cuminum cyminum*) VE KARABAŞ KEKİĞİ (*Thymbra spicata*) BİTKİ
UÇUCU YAĞLARININ İNSAN LENFOSİT KROMOZOMLARI ÜZERİNE
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Yağmur YILDIZ

Yüksek Lisans Tezi

DANIŞMAN

Doç. Dr. Süleyman GÜL

HAZİRAN – 2014

KARS

T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Yağmur YILDIZ'ın Doç. Dr. Süleyman GÜL'ün danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı “**Kimyon (*Cuminum Cyminum*) ve Karabaş Kekiği (*Thymbra Spicata*) Bitki Uçucu Yağlarının İnsan Lenfosit Kromozomları Üzerine Etkilerinin İncelenmesi**” adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy **birliği** ile kabul edilmiştir.

10 /06 /2014

Adı ve Soyadı

Başkan : Doç. Dr. Süleyman GÜL

Üye : Yrd. Doç. Dr. Pınar AKSU

Üye : Yrd. Doç. Dr. Yüksel KIVRAK

İmza
.....
P. AKSU
.....
.....

Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/....../2014 gün ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

.....

Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır.

Bu çalışmanın tez konusu olarak seçilmesinde ve yürütülmesinde, gerekli laboratuvar olanaklarını sunan, yol gösteren, bilgi ve yardımlarını esirgemeyen danışmanım sayın, Doç. Dr. Süleyman GÜL'e, laboratuvar çalışmalarımda ve tezimin yorumlanmasında desteği ve yardımları ile her zaman yanımda olan Yrd. Doç. Dr. Pınar AKSU'ya, bitki uçucu yağlarının çıkarılmasında laboratuvar olanaklarını sağlayan KAÜ Veteriner Fak. Gıda Hijyeni Anabilim Dalı'na, laboratuvar çalışmalarımda yardımcı olan yüksek lisans öğrencileri Dilek IRMAK ve Hanife YILDIRIM'a, tezimin düzenlenmesinde yardımcı olan Doktora öğrencisi Uzman Biyolog Hasan ASKER'e, çalışmama maddi destek sağlayan Kafkas Üniversitesi Araştırma Fonu Başkanlığı'na teşekkürlerimi bir borç bilirim. Ayrıca bana her zaman maddi ve manevi destek olan sevgili aileme sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Kars, 2014

Yağmur YILDIZ

İÇİNDEKİLER

ÖZET	ii
ABSTRACT	iii
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
RESİMLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER ve TABLOLAR DİZİNİ	vii
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgi	4
2.1.1. Kromozomların Morfolojik Özellikleri.....	6
2.2. Genetik Toksisite.....	8
2.2.1. Kromozom Aberasyonları.....	10
2.2.2. Genotoksisite Testleri.....	13
2.3. Bitki Ekstraktları Hakkında Genel Bilgi.....	13
2.3.1. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi	14
2.3.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri.....	14
2.4. Labiatae Familyasının Genel Özellikleri	17
2.4.1. <i>T. spicata</i> Hakkında Genel bilgi	17
2.4.2. <i>T.spicata</i> Sistematığı	18
2.5. <i>C. cyminum</i> Bitkisinin Genel Özellikleri	18
2.5.1. <i>C. cyminum</i> Bitkisinin Sistematığı.....	18
3. MATERYAL METOD	21
3.1. Materyal	21
3.2. Metod	27
4. BULGULAR	31
5. TARTIŞMA VE SONUÇ	44
6. KAYNAKLAR	51
ÖZGEÇMİŞ	60

ÖZET

Bu çalışmanın amacı *T. spicata* ve *C. cyminum* uçucu yağlarının genotoksik ve sitotoksik etkilerinin insan periferik lenfosit kültüründe in-vitro olarak araştırılmasıdır. İnsan kan lenfosit hücreleri, *T. spicata* ve *C. cyminum* uçucu yağlarının 0.05µl/ml, 0.10µl/ml, 0.15µl/ml, 0.20µl/ml 'lik dozları ile 24 saat etkileşime bırakılmıştır. *T. spicata* ve *C. cyminum* uçucu yağlar uygulanmış tüm deneme grupları negatif kontrol ve pozitif kontrol mitomisin-C (MMC, 0.3 µg/ml) ile kıyaslandığında, uygulanan *T. spicata* ve *C. cyminum* uçucu yağ dozları kromozom aberasyon sıklığında artışa yol açmıştır. Kromozom ve kromatid kırıkları, kromatid birleşmeleri, fragment ve kromatid değişiklikleri tüm doz uygulamalarında gözlenmiştir. Negatif ve çözücü kontrol ile kıyaslandığında *T. spicata* ve *C. cyminum* uçucu yağları tüm konsantrasyonlarda hücre bölünme indeksini düşürmüştür. Çalışma sonuçları *T. spicata* ve *C. cyminum* uçucu yağlarının insan lenfosit kromozomlarında in-vitro klastojenik potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Anahtar kelimeler: *T. spicata*, *C. cyminum*, mitomisin-C (MMC), lenfosit kültürleri, insan kromozomları, kromozomal aberasyonlar, mitotik indeks.

ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the genotoxic and cytotoxic effects of essential oils of *T. spicata* and *C. cyminum* on human peripheral blood lymphocytes. Human peripheral blood lymphocyte cells were treated with 0.05µl/ml, 0.10µl/ml, 0.15µl/ml, 0.20µl/ml concentrations of essential oils of *T. spicata* and *C. cyminum* for 24 h. A significant increase was observed for induction of chromosomal aberration frequency in all treatments of essential oils of *T. spicata* and *C. cyminum* concentrations for 24 h comparing with the negative control and mitomycin C (MMC, 0.3µg/ml) which was used as positive control. Chromatid and chromosome breaks, sister chromatid union, fragment and chromatid exchange were observed in all treatment concentrations. Essential oils of *T. spicata* and *C. cyminum* decreased the mitotic index (MI) in all the concentrations and treatment times when compared with control and solvent control. Our results suggest that essential oils of *T. spicata* and *C. cyminum* has clastogenic potential for human lymphocytes chromosomes *in-vitro*.

Key words: *T. spicata*, *C. cyminum*, mitomycin C (MMC), lymphocyte cultures, human chromosomes, chromosome aberrations, mitotic index.

SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

α	: Alfa
β	: Beta
γ	: Gamma
%	: Yüzde
°C	: Santigrat Derece
μ L	: Mikrolitre
<	: Küçük
>	: Büyük
AH	: Anormal Hücre
Brd-U	: Bromodeoksiüridin
CA	: Chromosome Aberration
CE	: Kromatid Değişimi
CO ₂	: Karbondioksit
Cm ²	: Santimetre kare
DNA	: Deoksiribonükleik Asit
DSK	: Disentrik kromozom
F	: Fragment
FISH	: Fluorescent In Situ Hibridization
Gr	: Gram
HGPRT	: Hypoxhantine Guanine Phosphoribosyl Transferase
KA	: Kromozomal Anormallikler
KCl	: Potasyum Klorür
Kg	: Kilogram
KK	: Kromozom kırığı
Kk	: Kromatid kırığı
KKB	: Kardeş Kromatid Birleşimi
KKD	: Kardeş Kromatid Değişimi
mg	: Miligram

MI	: Mitotik İndeks
ml	: Mililitre
MMC	: Mitomisin C
MN	: Mikronükleus
NBI	: Nükleus Bölünme İndeksi
ORI	: Origins of Replication
RI	: Replikasyon İndeksi
Rpm	: Devir Sayısı
SCE	: Sister Chromatid Exchange
SMART	: Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
UDS	: Programlanmamış DNA Sentezi
WHO	: Dünya Sağlık Teşkilatı (World Health Organisation)

ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 2.1. İnsanda erkeğe ait kromozom takımının renklendirilmiş Görüntüsü	4
Şekil 2.2. Tarayıcı elektron mikroskobu altında görüntülenen insan mitotik kromozomlarının renklendirilmiş görüntüsü	6
Şekil 2.3. Kromozomların sentromer yerleşimleri ve buna dayanılarak yapılan isimlendirmeleri	8
Şekil 2.4. Mutasyonların neden olduğu zararlar	9
Şekil 2.5. Clavenger aparatı	15
Şekil 2.6. Soxhlet Aparatı	16

RESİMLER DİZİNİ

	Sayfa No
Resim 4.1. Sağlıklı Bir Bireye Ait Kromozom Görüntüsü, 24 saatlik muamele, (x1000)	31
Resim 4.2. Çözücü Kontrolle (Aseton) Muamele Edilmiş Kromozom Görüntüsü, 24 saatlik muamele, (x1000)	34
Resim 4.3. Kromozom kırığı (KK) (a), Kromatid kırığı (Kk) (b), 24 saatlik muamele, (x1000).	34
Resim 4.4. Kromozom kırığı (KK), 24 saatlik muamele, (x1000).	35
Resim 4.5. Kromatid kırığı (Kk) (a), Fragment (F), (b), 24 saatlik muamele, (x1000).	35
Resim 4.6. Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB), 24 saatlik muamele, (x1000).	36
Resim 4.7. Kromatid kırığı (Kk), 24 saatlik muamele, (x1000).	36
Resim 4.8. Disentrik kromozom (DSK) (a), Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB) (b) 24 saatlik muamele, (x1000).	37
Resim 4.9. Disentrik kromozom (DSK), 24 saatlik muamele, (x1000).	37

ÇİZELGELER ve TABLOLAR DİZİNİ

	Sayfa No
Tablo 2.1. Iran Alborz dağında yetişen kimyon uçucu yağının kimyasal kompozisyonu	19
Tablo 4.1. Kontrol ve Deneş Grularının Değişik Dozları ile Etkileşime Sokulan İnsan Lenfosit Kültürü Kromozomlarında Aberasyon Oranları	33
Tablo 4.2. Kontrol ve karabaş kekiğinin Değişik Dozları İle Etkileşime Sokulan İnsan Lenfosit Kültüründe Mitotik Aktivite Oranları	40
Tablo 4.3. Kontrol ve kimyonun Değişik Dozları İle Etkileşime Sokulan İnsan Lenfosit Kültüründe Mitotik Aktivite Oranları	41
Çizelge 4.1. Karabaş kekiğinin değişik dozları(0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml)ile etkileşime sokulaninsan lenfosit kültüründe kromozomal aberasyon oranları	38
Çizelge 4.2. Kimyonun değişik dozları(0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml) ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültüründe kromozomal aberasyon oranları	39
Çizelge 4.3. . Karabaş kekiğinin değişik dozları (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml)ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültüründe mitotik indeks oranları	42
Çizelge 4.4. Kimyonun değişik dozları (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml)ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültüründe mitotik indeks oranları	42
Çizelge 4.5. Karabaş kekiğinin farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki regresyon ($r = -0.99$) çizelgesi	43
Çizelge 4.6. Kimyonun farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki regresyon ($r = -0.99$) çizelgesi	43

1. GİRİŞ

Dünya üzerinde yaklaşık olarak bir milyon civarında bitki türünün var olduğu tahmin edilmektedir. Bu bitkilerin yaklaşık olarak yarısı adlandırılmış ve bilim dünyasına kazandırılmıştır [1].

İnsanlık tarihi boyunca birçok hastalık (şeker hastalığı, sarılık, nefes darlığı vb.) bitkilerle tedavi edilmeye çalışılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO), dünyada yaklaşık 4 milyar insanın (dünya nüfusunun % 80'i) sağlık problemlerini öncelikli olarak bitkisel droglarla tedavi etmeye çalıştıklarını bildirmektedir [2].

Ayrıca, gelişmiş ülkelerdeki reçeteli ilaçların yaklaşık olarak % 25'i bitkisel kökenli etken maddeler (atropin, kolşisin, digoksin, taksol, vinkristin, morfin vimbilastin, rezerpin, kinin, aspirin vb.) içermektedir [2].

1980 yılında, Dünya Sağlık Örgütü (WHO), tıbbi bitkileri "bir veya birden fazla organıyla tedavi edici veya hastalıkları önleyici olabilen veya herhangi bir kimyasal-farmasötik sentezin öncüsü olabilen bitki çeşitleridir" şeklinde tanımlamış ve bitkisel ürünlerin tedavide kullanılabileceklerini kabul etmiştir. İlaç olarak bir maddenin kullanılabilmesi için yapısının iyi bilinmesi, etki mekanizmasının ve dozunun belli olması ve güvenilirlik sınırının belirtilmiş olması gerekmektedir [3].

Türkiye coğrafi konumu, iklim ve bitki çeşitliliği, tarımsal potansiyeli, geniş yüzölçümü sayesinde tıbbi ve aromatik bitkilerin ticaretinde önemli bir konuma sahiptir [4].

Ülkemizde 9000'e yakın farklı doğal bitki türü bulunmaktadır. Bunların %30'u ise endemiktir. Fakat bu bitki zenginliğinden yeterince faydalanılamamaktadır [5].

Türkiye'de tıbbi olarak kullanılan bitkilerin sayısı tam olarak bilinmemekle birlikte, yaklaşık 500 civarında olduğu tahmin edilmektedir. Bunlardan 200'ünün ihraç potansiyeline sahip olduğu belirtilmektedir [1,6,7].

Uçucu yağların tedavi edici özellikleri yanında zarar verici yönlerinde olduğu göz önünde bulundurulup, kullanılacağı yer ve dozunun iyi bir şekilde ayarlanması gerektiği açıklanmıştır. Özellikle uçucu yağların ve bileşenlerinin bazılarının

genotoksik aktivitesi belli doz artışına paralel olarak ortaya çıktığı yapılan çalışmalarla gösterilmiştir [8-13].

Toksik ajanların DNA molekülleri ile etkileşimi sonucu ortaya çıkan ve gelecek kuşaklara taşınan toksisite “genotoksisite” olarak tanımlanır. Genotoksik etki metillenmeyle ya da ajanların direkt olarak mutasyona neden olmasıyla gerçekleşebilir. Bu etkinin organizmadaki mekanizmasını ve mutajenlerin neden olabileceği risk faktörlerini araştıran bilim dalına ise “Genotoksikoloji” adı verilmektedir [14].

Moleküler kanser genetiğindeki son gelişmeler gösteriyor ki; karsinojenlerin çoğunun, genotoksite ve karsinogenezi, onkogenler ve antionkogenlerdeki mutasyonlarla ilişkilidir [15,16].

Genotoksisite testleri temel olarak kanserden korunmada, çevresel etkenlerin (UV, irradyasyon), endüstriyel kimyasalların etkisini araştırmada, ilaçların kullanım aşamasına gelmeden önce toksik etkilerini ve güvenilirliğini araştırmada kullanılmaktadır. Bu genotoksisite testleri 1970’lerden beri kullanılmaktadır ve o tarihten günümüze kadar birçok in-vivo ve in-vitro genotoksisite testleri geliştirilmiştir [15,16].

Genotoksisite testleri, moleküler ve kromozom düzeyinde olabilmektedir. Moleküler düzeyde yapılan genotoksisite testleri; DNA hasarının direkt belirlenmesi amacıyla yapılan Comet testi, tamir edilebilir DNA hasarının belirlenmesi amacıyla Programlanmamış DNA Sentezi (UDS), Ames testi ve Drosophila testleri sıklıkla kullanılmaktadır. Kromozom düzeyinde genotoksisite araştırmalarında ise sitogenetik testler olan Kardeş Kromatid Değişimi (KKD), Kromozom Aberasyonları (KA) ve Mikronükleus (MN) analiz yöntemleri sıklıkla kullanılmaktadır [17].

KKD testi, kardeş kromatidler arasında parça değişimi sonucu DNA’da meydana gelen ve sonra tekrar birleşen kırıkların belirlenmesini sağlamaktadır. KKD testinde hücreler, bir timin analogu olan Brd-U (bromodeoksiüridin) ile mitoz sırasında muamele edilir ve Brd-U’ nun floresan bir parlaklık vermesiyle kardeş kromatid değişimlerinin belirlenmesi sağlanır. Kanser gibi hastalıklarda, SCE frekansında artış olduğu bilindiği için, mutajenlere maruziyet sonucu oluşabilecek hasarların belirlenmesinde yaygın olarak tercih edilen bir tekniktir. Çeşitli mutajenik maddeler

kromatid kırıklarını ve değişimlerini alkilleyici özellikleriyle (mitomisin C, nitrojen mustard gibi) indüklemektedirler [18].

Anöploidi ve poliploidi gibi sayısal kromozom bozulmaları ile kromozom/ kromatid tipi kırılmalar, anormal birleşmeler kromozomal aberasyon test sistemi ile belirlenebilmektedir. Bu test yöntemi 70'li yıllardan beri klastogenik etkinin araştırılması için uygulanmaktadır [19,20].

Kromozom aberasyonları, DNA düzeyindeki bir harabiyet sonucunda ortaya çıkar ve DNA' daki çift zincir kırıklarının onarılamaması veya yanlış onarılmasından kaynaklanabilir [21].

Mikronükleus hücre çekirdeğinin dışında sitoplazmada yer alan çekirdek orijinli küçük küresel bir yapıdır. Mitotik hücrelerde kromozom fragmentlerinden veya anafazda geç kalarak her iki kardeş çekirdeğe dahil olmayan kromozomlardan ya da tam veya asentrik kromozom fragmentlerinden köken alır [22,23].

Karabaş kekiği, halk arasında, soğuk algınlıkları, öksürük, parazit, egzama gibi cilt hastalıklarının tedavisinde ve ağrı kesici olarak kullanılmaktadır. Uçucu yağının içerdiği fenoller nedeniyle bakteri ve mantarlara karşı güçlü bir antibiyotik etkiye sahip olduğundan, başta et ürünleri olmak üzere gıda ürünlerinde aromatan olarak, bununla beraber parfüm, sabun, şampuan, içki ve diş macunları, konserve, salça sosları ve sucukların yapımında da yaygın bir şekilde kullanılmaktadır [1,24-26].

Kimyon, halk arasında; gaz söktürücü, süt arttırıcı, ishal kesici, romatizmal tedavide (antienflamatuvar etki), diş ağrısında (analjezik ve antienflamatuvar etki), farenjit (antienflamatuvar etki), karın ağrısı (antispazmodik etki), diüretik ve idrar yollarının tıkanıklıklarını açma (antienflamatuvar etki) gibi hastalıkların tedavisinde kullanıldığı bildirilmektedir [27,28].

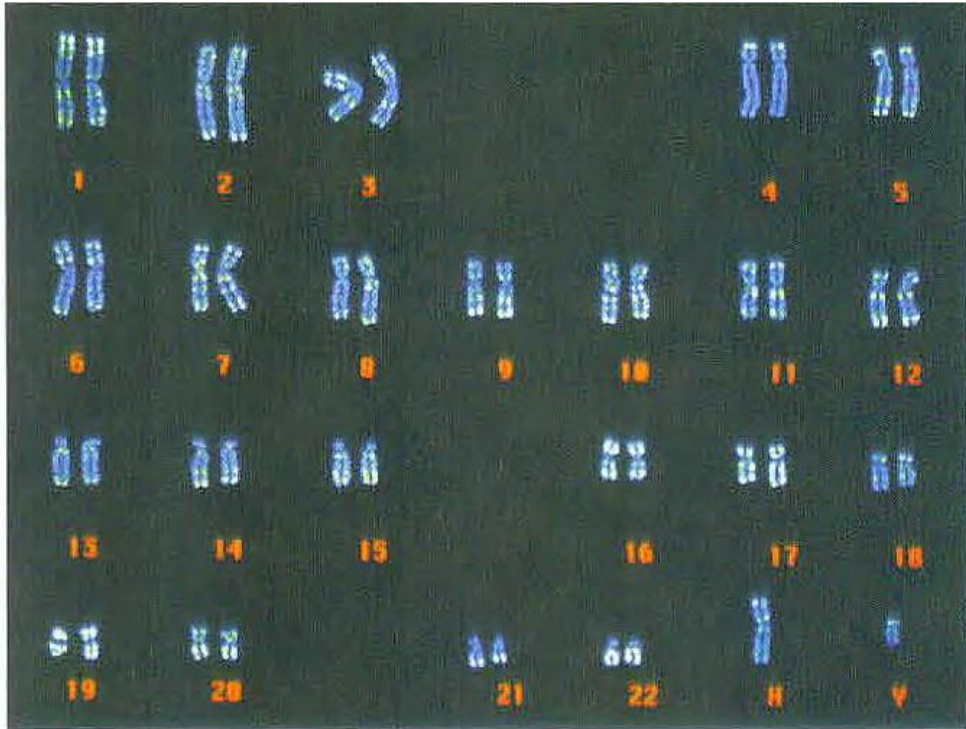
Ancak yapılan literatür taramaları sonucu karabaş kekiği (*T. spicata*) ve kimyon (*C. cuminum*) bitkilerinin kromozom aberasyonları üzerine etkilerinin çalışılmadığı görülmüştür. Bu çalışma ile halk arasında yaygın olarak kullanılan karabaş kekiği ve kimyon bitkilerinin uçucu yağlarının *in-vitro* insan periferik lenfositlerinde kromozomal aberasyon oluşumuna (KA) etkisinin saptanması amaçlanmıştır.

2. GENEL BİLGİLER

2.1. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgi

“Chromosome” olarak adlandırılan hücre organellerinin işlev ve morfolojilerini inceleyen sitogenetik, sitoloji ve genetik bilimlerinin birleşmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu birleşme, özellikle Mendel ilkelerinin 20. yy başlarında yeniden keşfedilmesine ve kalıtımın kromozomal temelini anlaşılmaya sebep olmuştur [29].

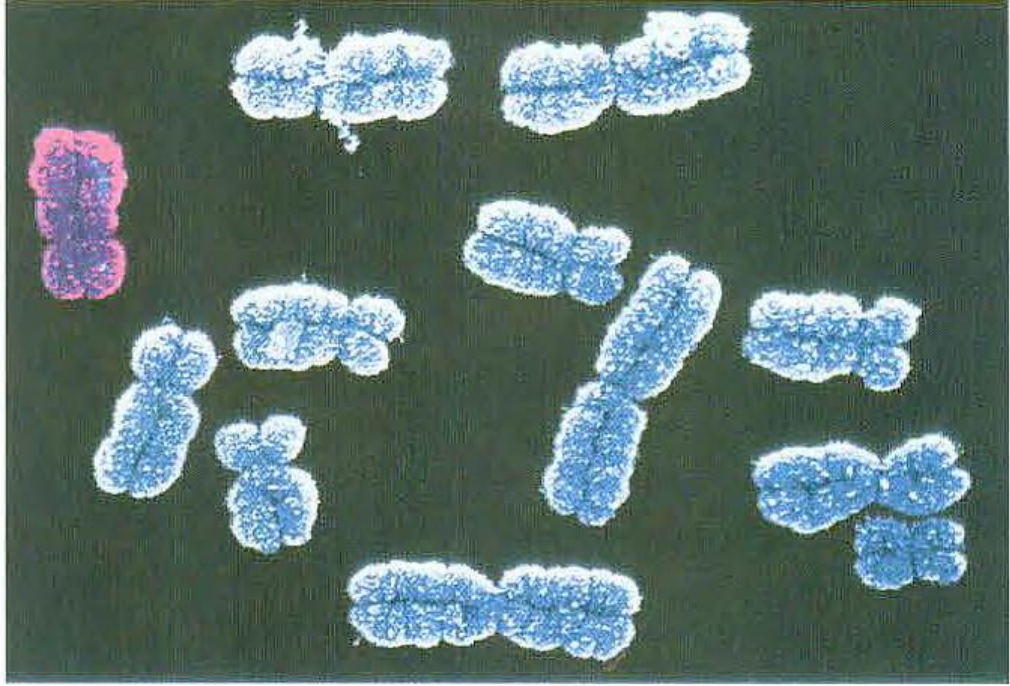
Kromozom, spesifik boyanma özelliğinden dolayı Yunanca chromos (boya) ve soma (kütle) kelimelerinden türemiştir ve ilk kez Waldayer tarafından kullanılmıştır. İnsan kromozomlarına yönelik yapılan ilk çalışmalarda mayotik hücreler incelenmiş ve insan kromozom sayısı 48 olarak belirlenmiştir. 1956 yılında Tijo ve Levan ‘ın insan fetüsü akciğer fibroblastlarında yapmış oldukları çalışmalarda, insan kromozom sayısının 46 olduğunu kesin olarak belirlemişlerdir. İnsanda 46 kromozom bulunmaktadır ve bunların 44 ‘ü otozomal (vücut) ve 2 tanesinde gonozomal (eşey) kromozomlardır [29].



Şekil 2.1 İnsanda erkeğe ait kromozom takımının renklendirilmiş görüntüsü [30].

Yapılan analizlerde her vücut hücresinde 6×10^{-9} , her sperma ve yumurta çekirdeğinde ise 3×10^{-9} miligram DNA olduğu tespit edilmiştir [31].

Kalıtsal materyalin hücre döngüsünün interfaz safhasındaki kümeleşmiş ve yumaklanmış haline kromatin denilmektedir. Kromatinin kimyasal olarak incelenmesi neticesinde kromozomların DNA histon (bazik) ve histon olmayan (non-histon, asidik) proteinlerden meydana geldiği görülmüştür. Histon proteinler ile DNA karşılıklı sıkı ilişki içerisindedir. Ökaryotik organizmalarda ne kadar DNA varsa o kadar histon tipi protein vardır. Ökaryotlardaki histon proteinler H1 H2a H2b H3 ve H4 olmak üzere 5 grup içerirler. Kromozomun ana ünitesi 110 \AA çapındaki iplik yumağı şeklinde görülmektedir ve bu iplik yumağı üzerinde boncuk tanesi gibi yapılar bulunmaktadır. Bu yapılar nükleozom olarak adlandırılmaktadır. H2a H2b H3 ve H4 histonlarının monomerlerinden oluşan 8 histon molekülünün biraraya gelmesiyle oktomer yapı ortaya çıkmaktadır ve yaklaşık 200 baz çiftinden oluşan çift sarmallı DNA molekülü oktomerin dış çevresini 2 kez sarmaktadır. İki nükleozom H1 histonu ile 50 nükleotid çiftinden oluşan çift sarmallı düz bir DNA zinciri ile birbirine bağlanır ve bu düz DNA zinciri kromatinini kolay bir şekilde eğilip bükmesini sağlamaktadır. Nükleozomlar, ökaryotik hücrelerde DNA zincirinin boyunun kısalmasını ve paketlenmesini sağlamaktadır. İlk evrede DNA molekülü çift sarmal hale geçer ve kendini iki kat artırır, ikinci evrede histonlar DNA sarmalıyla sarılır ve nükleozom oluşur. Üçüncü evrede ise nükleozomlar kıvrılarak bobin benzeri yapı oluştururlar ki bu yapıya bobin modeli denilmektedir. Son olarak dördüncü evrede ilmekler oluşarak kromozom meydana gelmektedir [29].



Şekil 2.2 Tarayıcı elektron mikroskobu altında görüntülenen insan mitotik kromozomlarının renklendirilmiş görüntüsü [30].

Genetik materyal denildiğinde ilk olarak kromozom terimi akla gelmektedir. Anne ve babaya ait kalıtsal karakterlerin açıklanmasında veya bir sonraki döle aktarılmasında kromozomlar görev almaktadır [32,33]. Kromozomlar üzerinde birbirinden farklı boyanma özelliğine sahip iki ayrı kısım vardır. Bunlardan koyu boyanan bölgeler heterokromatin, açık boyanan bölgeler ökromatin olarak adlandırılır. Genetik olarak inaktif olan heterokromatin bölgeler sıkıca katlanmış kromozom ipliklerinden oluşmaktadır [34].

2.1.1. Kromozomların Morfolojik Özellikleri

Sayıları 23 çift ($2n=46$) olan insan kromozomları ışık mikroskobu ile mitoz bölünmenin metefaz safhasında incelenebilmektedir. Kromozomlar incelenirken bazı morfolojik özellikler dikkat çekmektedir. Bu morfolojik özellikler [29]:

Kromatid: Kromatinlerin protein iskelete sarılması ile ortaya çıkan yapılardır ve kromozomun kolları gibi görünürler. Sentromerin her iki tarafındaki kromatidler

kromozom kolu olarak adlandırılır; kısa kolu (p kolu) ve uzun kolu (q kolu). Kardeş kromatidler birbiriyle tamamen aynı genetik bilgiyi taşırlar (Mayoz I'de crossingover'a kadar) [35].

Sentromer: Sentromerler, spesifik proteinlerin bağlandığı DNA dizileridir. Sentromer, kromozomu p ve q olarak iki kola ayıran ve sitogenetik bir belirleyici olarak görünen primer boğum şeklinde tanımlanmıştır [35].

Telomer: Kromozomların uç kısımlarında bulunan özel DNA dizileridir. Kromozomun kendi üzerine katlanmasını ve diğer kromozomlara yapışmasını engelleyerek kromozom bütünlüğünde büyük rol oynar. Yaşlanma ile birlikte telomerik DNA dizileri kısaltmaya başlar. Kanser hücrelerinin telomerik dizilerinde kısalma gözlenmez [35].

Replikasyon Orjini (Origins of Replication, ORI): Işık mikroskobu ile görülememesine rağmen, bütün kromozomlarda en az bir tane DNA sentezinin başladığı bölge bulunur. Ökaryotik kromozomlarda ise birden fazla ORI bölgesi bulunur [35].

Kromozom Şekilleri

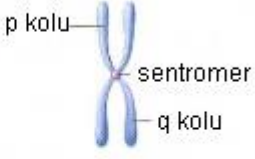







Kromozomlar sentromerlerinin bulunduğu bölge ile total ve kol uzunluklarına göre dört grupta incelenmektedir. Bunlar:

Metasentrik kromozom: Sentromeri ortada ve iki kolu birbirine eşit olan kromozomlara denilmektedir.

Submetasentrik kromozom: Sentromeri merkezden uzak ve iki kolu birbirine eşit olan kromozomlara denilmektedir.

Akrosentrik kromozom: Sentromeri kromozomun bir ucuna daha yakın olan kromozomlara denilmektedir.

Telosentrik kromozom: Sentromerin kromozomun uç bölgesinde bulunduğu kromozomlar olup normalde insanda gözlenmeyen kromozom tipidir [29].

Sentromer yerleşimi	İsmi	Metafazdaki şekli	Anafazdaki şekli
Orta	Metasentrik		
Uçla orta arası	Submetasentrik		
Uca yakın	Akrosentrik		
Uçta	Telosentrik		

Şekil 2.3 Kromozomların sentromer yerleşimleri ve buna dayanılarak yapılan isimlendirmeleri [30].

2.2. Genetik Toksisite

Müller' in 1927 yılında yaptığı çalışmada X ışınlarının *Drosophila*'da mutasyon oranlarını normalden 15 000 kat daha fazla arttırdığını belirlemesiyle başlayan genetik toksikoloji bugün, gelişen teknoloji ile artan risk ve analiz yöntemlerine bağlı olarak en önemli araştırma dallarından biri haline gelmiştir [36].

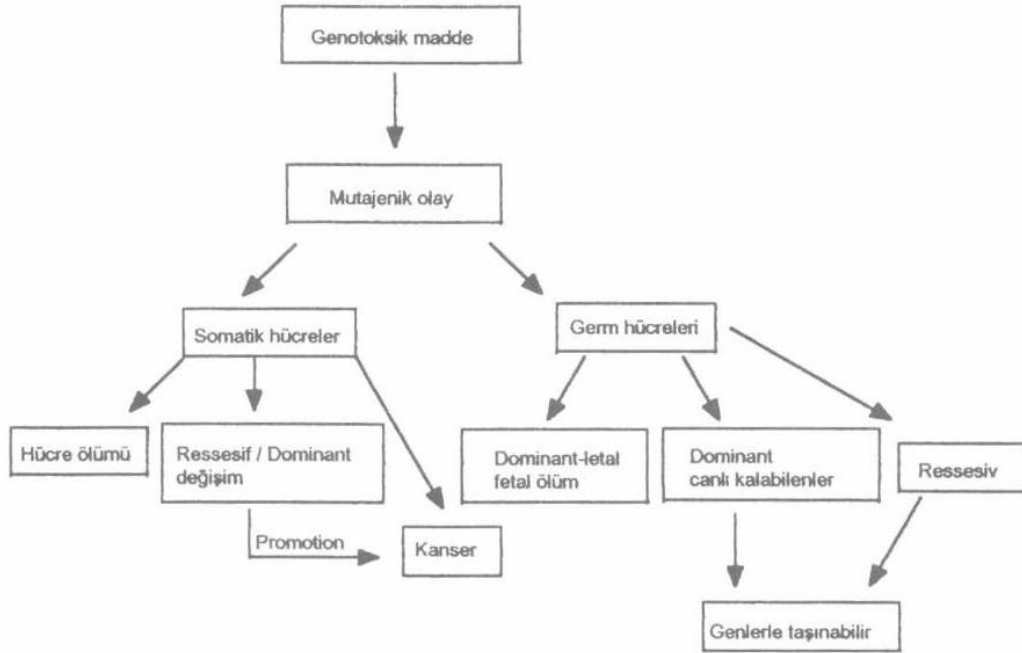
Toksikolojinin alt dalı olan genetik toksikoloji, organizmanın normal biyolojik işleyişi sırasında veya fiziksel, kimyasal ve biyolojik etkenlere bağlı olarak hücrelerin DNA moleküllerinde meydana gelen değişiklikleri inceleyen bilim dalı olarak adlandırılmaktadır [37-39].

Çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen hasarlar, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploidi gibi olayların tümü genotoksisite olarak adlandırılmaktadır [38,40,41].

Kanser oluşumunun somatik mutasyon birikimi ile açıklanması bilinen bir doğrudur. Genotoksinler, kromozom ve genlerde değişim ya da yeniden düzenlenmeye sebep

olan ajanlardır. Mutasyon ise DNA hasarına yol açan işleyiş mekanizması ile hücre ya da organizma için kalıtsal değişimdir. Toksik madde ve genetik materyal ikilisinin sonucu mutasyon olabilir. Mutasyon, mutajen denilen fiziksel veya kimyasal ajanlarla uyarılma sonucu ortaya çıkabilir [42].

Bir organizmanın genetik işaretlerinde, kalıtsal (herediter) bir farklılaşma oluşturan maddelere genetik zehirler denilmektedir. Genetik zehirler, gen hücreleri üzerindeki etkilerine göre; sitotoksik, sitostatik ve mutajenik etkenler olmak üzere sınıflandırılabilir. Sitotoksik maddeler; anoksi, protein koagülasyonu veya membran permeabilitesinin artmasına bağlı olarak hücre ölümüne neden olabilir. Sitostatik etki ise, daha çok kromozom yapısı ve sayısındaki değişimleri gösterir. Genlerdeki DNA üzerindeki değişimler "nokta mutasyonu" olarak isimlendirilir. Genlerdeki nokta mutasyonuna neden olan "mutajenik etkenler" virüsler, kimyasal maddeler ve fiziksel etkenler olabilir. Bu olaya "mutajenezis", mutasyona uğrayan türe de "mutant" denir [37].



Şekil 2.4 Mutasyonların neden olduğu zararlar [37].

Bitkilerden elde edilen uçucu yağlarda bulunan bazı bileşiklerin, sitotoksik, mutajenik veya antimutajenik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir [43,44].

2.2.1. Kromozom Aberasyonları

Kromozom yapısı veya sayısındaki değişimler kromozom aberasyonları olarak adlandırılmaktadır. Bu olay kendiliğinden veya kimyasal/radyasyon muamelesi sonucu ortaya çıkmaktadır [45].

Ökaryotik kromozomlarda meydana gelen bu değişiklikler sitolojik olarak mayoz ya da mitoz bölünme sırasında çeşitli boyama teknikleri kullanılarak tespit edilebilmektedir [46,47].

2.2.1.1. Sayısal Anomaliler

Kromozomlardaki sayısal anomaliler 2 temel mekanizma ile ortaya çıkmaktadır.

- 1- Kromozomların ayrılamaması (nondisjunction olayı)
- 2- Kromozomların anafazda geri kalması (Anafazlag olayı)

Kromozom anomalilerini meydana getiren mekanizmalardan en önemlisi mayozda kromozomlara az ya da çok sayıda kromozom gitmesidir. Kromozomlarda görülen sayısal anomaliler Öploidi (Euploidi) ve Anöploidi (Aneuploidi)dir. Kromozom sayısının katlar halinde artmasına Euploidi denir. Örneğin insanda haploid sayı 23 'dür, diploid sayı ise 46'dır. Haploid sayının 3 kat artması ile triploidi oluşmaktadır. Genelde bu katlar şeklindeki artışa poliploidi denir. Poliploidinin sebebi hücre çekirdeği bölündüğü halde sitoplazma bölünmesinin meydana gelmemesidir. Aneuploidi ise kromozom sayısı normal diploid sayıdan (46) bir ya da birkaç adet fazladır ya da eksiktir. Bir ya da birkaç kromozom azlığına hipoploidi, fazlalığına ise hiperploidi denir. Hipoploidiye en iyi örnek monozomidir. Bu durumda homolog kromozomlardan biri azalmıştır ve toplamda 45 olmuştur. Buna örnek olarak Turner Sendromu (45,X0) gösterilebilir. Hiperploidiye en iyi örnek trizomilerdir. Trizomide normalde iki adet olan homolog kromozomlar üç adettir. Trizomiye örnek olarak "Trizomi 21" (üç tane 21. kromozom) olarak da bilinen Down Sendromu gösterilebilir [48].

2.2.1.2. Yapısal Anomaliler

Kromozom yapısındaki değişmeler kromozom kırılmaları şeklinde ortaya çıkar [49]. Kromozom kırıkları hücre siklusunun G_1 , S ve G_2 safhalarında mitoz ve mayoz süresince oluşabilir. Kromozom kırıklarıyla yapılan çalışmalar, gen mutasyonlarıyla yapılan çalışmalar ile bağlantılıdır. Çünkü mutajenlerin çoğu hem kromozom kırıklarını hem de gen mutasyonlarını indükler. DNA'nın tek zincirinde kırık oluşma nedenleri arasında; pirimidin dimerlerinin oluşması (kısa dalga boylu UV), baz alkilasyonu (alkilleyici ajanlar), iplikçikler arasında çapraz bağlantı (uzun dalga boylu UV, çok fonksiyonlu alkilleyici ajanlar), DNA çift sarmalının arasına mutajen girmesi (acriflavin, proflavin vb.) gibi faktörler gösterilebilir. Kromozomlarda yapısal olarak kromozom ve kromatid tipi olmak üzere iki tip kırık vardır. Kromozom veya kromatid tipi kırıklara sebep olan bir ajanın hücre siklusunun hangi safhasında etkili olduğuna bağlıdır. Mitoz bölünmenin G_0 ya da G_1 fazında etkili olan ajan kromozom tipi kırıklara, S ya da G_2 fazında etkili olan ise kromatid tipi kırıklara neden olur. Kromozom kırıkları, G_1 safhasında yalnız bir kromatid de kırık meydana getirir ve S safhası süresince devam ederse, metafazdan sonra her iki kromatid de kırık oluşur ve böylece kromozom tipi kırık meydana gelir. Eğer bu kırık tekrar birleşmezse, delesyonlu bir kromozom ve asentrik fragment meydana gelir. Kromozom kırılması sonucu oluşan asentrik parçalar ya metafazda kaybolur ya da anafazda mikronükleusları oluşturur [35,50-52].

Bir kromozom kırılmasını, kromozom segmentlerinin tekrar birleşmesi işlemi izleyebileceği gibi bu şekilde tekrar birleşme olayı meydana gelmeyebilir. Segmentler, orijinal yapı halinde tekrar birleşirse normal olarak kırılma farkedilmez. Bu şekilde tekrar birleşme meydana gelmemişse aşağıda ki kromozomal değişmelerin bir ya da birkaçı ortaya çıkabilir [49].

Delesyon: Kromozomun bir kısmının koparak yitirilmesine denir. Kopan parça herhangi bir kromozoma bağlanmaz. Sitoplazma içerisinde kalan bu kromozom parçaları enzimlerin etkisiyle kendini oluşturan ana birimlere kadar parçalanır. Sonuç

olarak hücre kaybolan parça üzerindeki genleri yitirecektir. Eğer yitirilen parça çok büyükse gen dengesi tamamen bozulur ve sonuçta ölüm meydana gelir [31].

Duplikasyon: Homolog iki kromozomdan birinde meydana gelen iki kırık sonucu kopan parça, diğerinde tek kırık ile oluşan aralığa girerek kaynaşmasına denir. Duplikasyonlar delesyonlardan daha sık görülürler ve daha az zararlıdır [53].

Translokasyon: Translokasyon veya yer değiştirme, bir kromozomdan kopan parçanın diğer bir kromozoma yerleşmesi demektir. Parça değişimi homolog kromozomlar arasında olabileceği gibi, homolog olmayan kromozomlar arasında da meydana gelebilir [53].

İnversiyon: Bir kromozomun iki yerden kırılması ve sonrada kopan kromozom segmentinin ters dönerek kopan yere tekrar eklenmesi veya yapışmasına denir [49].

Ring Kromozom: Sağlam kromozomlar birbirleri ile birleşmezler, çünkü kromozomların telomerlerinde (uçlarında) bir polarite vardır [53]. Geriye kalan kısımlar yapışma özelliği göstereceğinden birleşerek ring kromozomu oluştururlar [48].

İzokromozom: Hücre bölünmesinin metafaz safhasında iç iplikçiklerine sentromerleriyle tutunmuş olan kromozomlar uzunlamasına bölünerek kutuplara çekilirler. Ancak bir hata sonucu boylamasına bölünmesi gereken kromozom enlemesine bölünebilir. Bu tip kromozomlara izokromozom denilmektedir [29].

Sentrik Fragment: Genellikle rutin karyotip sırasında rastlanan küçük, ek, metasentrik fragmentlerdir [48].

Sister Union (Kardeş Kromatid Birleşmesi): Aktarılmayan tipteki mutasyonlardır. Birçok araştırmacıya göre kırılmalar rastgele yerlerde meydana gelmezler, buna göre kromozomlar üzerinde bazı bölgelerin kırılmaya karşı duyarlılıkları diğer bölgelere göre daha fazladır. Ayrıca kromozomlar genellikle tek kromatid halinde olduklarında yani metabolik evrede daha kolay kırılırlar. Yeniden yapışma olmaması durumunda meydana gelen sentromerli ve sentromersiz parçalar mitoz ilerlerken uzunlamasına yarılr ve her biri iki kromatid meydana getirir. Daha sonra her parçadaki kromatidin kırık uçları birbiriyle birleşebilir. Bu olaya kardeş kromatidlerin birleşmesi adı verilir [54].

Disentrik Kromozom: Aktarılmayan tipteki mutasyonlardır. Herbirinde bir sentromer olan iki kromozom segmentinin sentromersiz parçalarını kaybederek birleşmesi ile oluşmaktadır. İnversiyon lobundaki 2 gen arasındaki crossing-overdan dolayı iki sentromer anafaza birlikte göç etmeye başlayacağı için bir rekombinant kromatid disentrik köprü formasyonunu oluşturur. İki sentromerli bu kromozom disentrik kromozom adını alır [45].

2.2.2. Genotoksisite Testleri

Genetik toksisite testleri 1970' lerden beri kullanılmaktadır ve günümüze kadar kanserden korunmada, çevresel etkenlerin (UV, radyasyon), endüstriyel kimyasalların etkisini araştırmada, ilaçların piyasaya sürülmeden önce toksik etkilerini ve güvenilirliğini araştırmak amacıyla kullanılmaktadır [55].

Genetik sistemler ile genotoksisitesi test edilmek istenen maddelerin karsinojenik ve mutajenik etkilerini belirlemek amacıyla kullanılan *in vitro* ve *in vivo* mutajenite testleri şunlardır,

- Comet Testi
- Ames testi
- Kromozom Anomalileri (CA) Testi
- Kardeş Kromatid Değişimi (SCE)
- Mikronükleus Testi (MN) [56].

2.3. Bitki Ekstraktları Hakkında Genel Bilgi

Aromatik bitkilerden veya bitkisel droglardan elde edilen, bitkiler aleminde yaygın olarak bulunan, kendine özgü koku, tat, renk ve görünümünün yanı sıra uçucu özelliğe sahip, oda sıcaklığında sıvı halde olan fakat bazen donabilen yağimsı karışımlara uçucu yağ denilmektedir [27,57].

Açıkta bırakıldıklarında, oda sıcaklığında buharlaşabildiklerinden dolayı “uçucu yağ”, “eterik yağ”, “esans” gibi isimler verilen bu yağlarda terpenik hidrokarbonlar ve bunların oksijenli türevlerinin yanı sıra organik asitler, alkoller, fenoller ve ketonlar bulunmaktadır [27,57].

Bugüne kadar uçucu yağlarda 2000'den fazla kimyasal bağlantının bulunduğu ve çok sayıda su buharında uçucu olan azot ve kükürt içeren bileşiklerin mevcut olduğu tespit edilmiştir. Bu maddeler fizyolojik etkileri nedeniyle bireysel veya toplu halde terapide kullanılmaktadır. Uçucu yağlar bitkinin belirli organlarında (folia=yaprak, fructus=meyve, cortex=kabuk) ya da bitkinin tüm organlarında bulunabilir. Uçucu yağlar bitkilerin bağlı bulunduğu familyalara göre salgı tüyünde, salgı ceplerinde, salgı kanallarında veya salgı hücrelerinde bulunmaktadır [58].

2.3.1. Uçucu Yağların Kimyasal Bileşimi

Kimyasal bileşimleri bakımından uçucu yağlar elde edildikleri bitkilere göre farklılık gösterirler fakat içerdikleri maddelere göre terpenik maddeler, aromatik maddeler, düz zincirli hidrokarbonlar, azot ve kükürt taşıyan bileşikler olarak sınıflandırılabilirler. Uçucu yağların büyük bölümü (yaklaşık %90) terpenik maddelerden oluşmuştur [59].

2.3.2. Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri

Uçucu yağ genellikle bitkilerden, su buharı destilasyon yöntemiyle elde edilir. Bitkinin yetiştiği ülkeye göre uçucu yağ verimi farklılık gösterir ve ortalama %0.5-3 arasındadır [60].

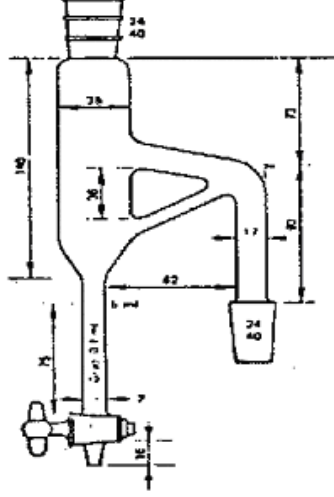
Uygulanacak yöntem bitkinin ısıya dayanıklılığına, uçucu yağın miktarına, suda çözünüp çözünmemesine ve bileşenlerine bağlı olarak seçilmektedir [61].

Destilasyon, sıvıların kaynama noktalarındaki farklılardan yararlanılarak gerçekleştirilen bir ayırma işlemi olup bu yöntem; su destilasyonu, buhar destilasyonu ve vakum destilasyonu olmak üzere 3'e ayrılmaktadır [62].

Destilasyon: Destilasyon, sıvıların kaynama noktalarındaki farklılardan yararlanılarak gerçekleştirilen bir ayırma işlemi olup bu yöntem; su destilasyonu, buhar destilasyonu ve vakum destilasyonu olmak üzere 3'e ayrılmaktadır [63].

Bu ayırma işlemi için Clavenger Aparatı denilen cam bir düzenek kullanılmaktadır. Bu yöntem belirli miktardaki bitki parçalarının (bu miktar kullanılan cam balonun büyüklüğüne göre değişebilir) su içinde ısıtılarak 2-3 saat boyunca kaynatılması ve

serbest hale geçen uçucu yağın soğutma sisteminde soğutularak belirli bir yerde toplanması esasına dayanmaktadır [64].

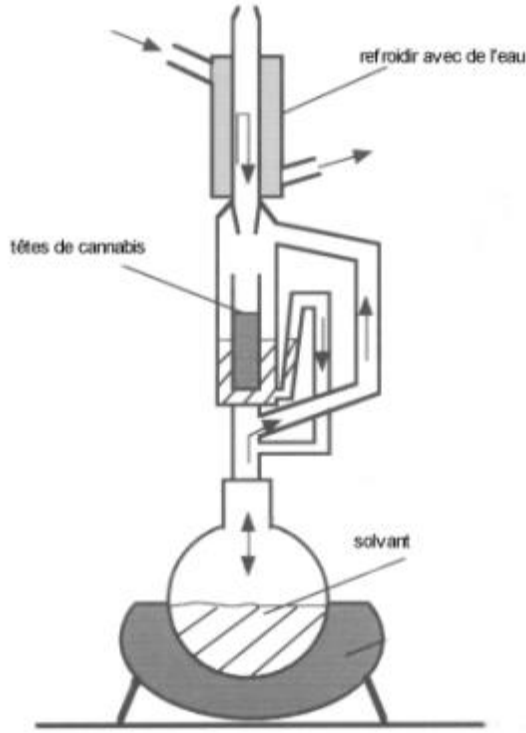


Şekil 2.5 Clavenger aparatı [65].

Sıkma: Diğer destilasyon yöntemleri ile bozulan materyaller için preslerde sıkma veya benzeri mekanik yollar uygulanır. Sıkışmış kabukların su ile yıkanması sonucu ayrılan yağ-su emülsiyonu bir kapta toplanır ve bu emülsiyon santrifüj edilerek uçucu yağ elde edilir [62].

Ekstraksiyon: Bitkisel ve hayvansal droglardan etken maddeleri çıkarmak amacıyla kullanılmaktadır [62].

Bu yöntemde bazı çözücü solventler (örneğin; hexane, aseton, etanol, metanol vb.) kullanılarak ekstraksiyon işlemi yapılmaktadır ve bu işlem için Soxhlet Aparatı adı verilen cam düzenekler kullanılmaktadır. Kullanılan çözücü madde ısıtılarak buharlaşması sağlanmakta ve buharlaşan çözücü soğutma sisteminde soğutularak bitki parçalarının konulduğu kısma geri dönmekte ve bitki içindeki maddeleri çözerek çözülmüş maddeler ile birlikte çözücünün içinde toplanmaktadır. Bu işlemlerin ardından çözücü madde döner başlıklı evaporatörde uçurulmakta ve cam balon içinde sadece çözülmüş maddeler kalmaktadır [65].



Şekil 2.6 Soxhlet Aparatı [65]

Uçucu yağ eldesinde kullanılan ekstraksiyon yöntemleri;

- Organik çözücü ile ekstraksiyon: Drog, benzen, hekzan, heptan gibi uygun bir çözücüyle yapılan ekstraksiyona denilmektedir. Bu esnada uçucu yağ, sabit yağ, mum ve boya organik çözücüye geçer ve bu çözücünün alçak basınçla uçurulmasıyla da uçucu yağ elde edilir [62].
- Sabit yağ ile ekstraksiyon: Sabit yağ yöntemiyle uçucu yağ elde etmek için kokusuz, renksiz yumuşak bir sabit yağ kullanılır. Bu işlem için en çok saf domuz yağı tercih edilir [62].
- Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon: Sıvılaştırılmış gazlarla ekstraksiyon için daha çok çözücü olarak sıvılaştırılmış CO₂ kullanılmaktadır. İşlem sıvılaştırılmış gazın, kritik noktasında (73 kg/cm² basınç ve 31°C sıcaklıkta), yüksek basınçlı ekstraksiyon kabında drog üzerinden sirkülasyonla gerçekleştirilir. Çözücü gaz, ekstre'den basıncın değişmesiyle ya da buharlaştırılmasıyla uzaklaştırılır. Çözücü artığı içermediğinden bu yöntem ile elde edilen yağ oldukça değerlidir [62].

2.4. Labiatae Familyasının Genel Özellikleri

Ülkemizde yaygın olarak kullanılan ve kekik olarak isimlendirilen Labiatae familyası *Satureja*, *Coridothymus*, *Origanum*, *Thymus* ve *Thymbra* türlerini içerir [66].

Labiatae familyası bitkilerinin 200 cinsi ve 3200 türü bulunmaktadır. Türkiye’de 42 cins ve 570 tür Labiatae bitkisinin yetiştiği bilinmektedir [66].

Kekik bitkisinde timol, karvakrol, α -terpinen, γ -terpinen, α -terpineol, terpinen-4-ol, borneol, borneol asetat, simol, p-simen, p-pinen, α -pinen, linaol, β -karyofillen, neral (cis-sitral), geranial (trans-sitral), geranil asetat, β -bisabolen, nerol, geraniol, karyofillen oksit, α -tuyen, , α -tuyon, kamfen, 1-okten-3-ol, cis-p-menten-1-ol, mirsen, limonen, 1,8-sineol, apigenin, luteolin, flavonlar, triterpenler, kafeik asit gibi fenolik asitler, ursolik ve rosmarinik asit gibi triterpen asitler, sakkaritler, bifeniller ve tanenler bulunmaktadır.

Toprağın kimyasal yapısı, nem ve sıcaklık gibi iklim farklılıkları bitkinin kimyasal içeriğinde farklılık yapabilmektedir [66].

2.4.1. *T. spicata* Hakkında Genel bilgi

T. spicata türü 50 cm kadar boya erişebilen, tüylü mor çiçeklere sahip, çalı görünümünde Akdeniz bitkisidir. *T. spicata* Isparta ve yöresinde karabaş otu adıyla tanınır. Çayı veya yağı mide ağrılarında analjezik etki için kullanılmaktadır ve antiseptik, antiparaziter ve kan dolaşımına olan etkilerinden yararlanılmaktadır. *T. spicata* yağının safra asitlerini artırıcı etkisi de olduğu bilinmektedir. Uçucu ve kokulu bileşiklere sahiptir ve en önemli uçucu yağ bileşikleri thymol ve karvakrol ’dur. Ayrıca myrcene, cymene, linaol, borneol, pirene ’de içerdiği saptanmıştır [1,67].

2.4.2. *T.spicata* Sistematığı

Alem: Plantae (Bitkiler)
Bölüm: Magnoliophyta (Kapalı tohumlular)
Sınıf: Magnoliopsida (İki çenekliler)
Takım: Lamiales
Familiya: Lamiaceae (Labiata) (Ballıbabagiller)
Cins: *Thymbra*
Tür: *T. spicata*

2.5. *C. cyminum* Bitkisinin Genel Özellikleri

M.Ö. 1550 yıllarında Mısır'da kullanılan tıbbi bitkiler listesinde kimyon bitkisine rastlanmıştır. Maydanozgiller (Apiaceae) familyasına ait, Mayıs-Haziran ayları arasında beyaz ve pembemsi çiçekleri açan, 40- 60 cm boya ulaşabilen tek yıllık otsu bir bitki türüdür. Anavatanının Doğu Akdeniz ve Orta Doğu olduğu bilinmektedir. Gövdeleri diktir ve üst taraflara doğru dallanma gösterir. Yaprakları iplik gibi parçalı ve tüysüz; çiçekleri ise şemsiye durumunda toplanmış haldedir. Çiçekleri beyaz ya da pembe renkli, meyvesi ise köşeli, oval şekilli, 4-5 mm boya sahiptir. Kimyon bitkisinin olgunlaştıktan sonra toplanıp kurutulan tohumlarından ya da bu tohumların öğütülmesinden elde edilen kimyon baharat olarak kullanılır. Keskin, acı ve biraz sert bir tada sahip olan bu bitkinin meyveleri % 2.5- 6 uçucu yağ, % 10- 23 sabit yağ, % 15-25 protein, tanen, flavonoid, reçine ve zamk içerir. [68-70]

2.5.1. *C. cyminum* Bitkisinin Sistematığı

Alem: Plantae (Bitkiler)
Bölüm: Angiosperms (Kapalı tohumlular)
Sınıf: Eudicots (İki çenekliler)
Takım: Apiales
Familiya: Apiaceae (Maydanozgiller)
Cins: *Cuminum*
Tür: *C. cyminum*

Tablo 2.1 İran Alborz dağında yetişen kimyon uçucu yağının kimyasal kompozisyonu [71].

No.	AlborzMountain	RIa	%b
1	Isobutylisobutyrate	892	0.8
2	α -Thujene	922	0.3
3	α -Pinene	931	29.2
4	Sabinene	971	0.6
5	Myrcene	981	0.2
6	p-Cymene	1013	0.3
7	Limonene	1025	21.7
8	1, 8-Cineole	1028	18.1
9	γ -Terpinene	1051	0.6
10	Terpinolene	1082	0.3
11	Linalool	1089	10.5
12	α -Campholenal	1122	0.03
13	trans-Pinocarveole	1130	0.07
14	δ -Terpineole	1154	0.09
15	Terpinene-4-ol	1169	0.5
16	α -Terpineole	1180	3.17
17	trans-Carveole	1213	0.4
18	cis-Carveole	1217	0.07
19	Geraniol	1242	1.1
20	Linalylacetate	1248	4.8
21	Methylgeranate	1310	0.2

Tablo 2.1 (Devam) İnan Alborz dağında yetişen kimyon uçucu yağının kimyasal kompozisyonu [71].

22	α -Terpinylacetate	1342	1.3
23	Nerylacetate	1351	0.09
24	Methyleugenol	1369	1.6
25	β -Caryophyllene	1430	0.2
26	Spathulenol	1562	0.07
27	Humuleneepoxide II	1608	0.08
28	Acetocyclohexanedione (2)	1704	0.4

3. MATERYAL METOD

3.1. Materyal

*Kafkas Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurulu tarafından 29.06.2011/ 06 sayılı izni ile çalışma onayı alındı.

Bu çalışmada araştırma materyali olarak *C. cyminum* ve *T. spicata* uçucu yağları kullanılmıştır. Sigara içmeyen, rutin ilaç kullanmayan yaşları birbirine yakın sağlıklı 10 erkek (22-25) ve 10 bayandan (22-25 yaş aralığında) alınan periferik kan besiyerine alındı.

Çalışmada kullanılan bitki uçucu yağları

Bu çalışmada araştırma materyali olarak *C. cyminum* uçucu yağı ve *T. spicata* uçucu yağı kullanıldı.

Karabaş kekiği ve kimyon bitkileri 500 ml'lik balon joje içerisine 40 gr bitki ve 400 ml su koyularak yaklaşık 3.5- 4 saat Non- Asbestos marka Clevenger cihazı ile su buharı destilasyonuna tabi tutuldu. 4 saat sonunda çıkarılan uçucu yağ toplama kabına alınarak çalışmada kullanılmak üzere +4 C de saklandı.

Mitomisin-C (MMC)

Mitomycin C, Sigma firmasından temin edildi ve bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanıldı ve kapalı formülü: $C_{15}H_{18}N_4O_5$ 'dir.

Mitomisin C 0.6 mg alındı ve distile suda çözdürülerek hacmi 1.5 ml'ye tamamlandı.

Çalışmada kullanılan kimyasal maddeler ve solüsyonlar

Deneylerde kullanılmak üzere karabaş kekiği ve kimyon uçucu yağı için iki ayrı stok oluşturuldu. Birinci stok karabaş kekiği için olup tüp içerisine 100 µl karabaş kekiği uçucu yağı 900 µl aseton eklenerek stok hazırlandı. Yani 1 kısım yağ 9 kısım aseton ile karıştırıldı.

T. spicata uçucu yağı için;

0.05 µl/ml lik doz için besiyeri 5 ml olduğundan $0.05 \times 5 = 0.25$ µl uçucu yağ gereklidir.

1000 µl/ml stokda	100 µl yağ
X µl	0.25 µl yağ

X=2.5 µl olarak bulunur.

İkinci dozumuz olan 0.10 µl/ml lik doz için besiyeri 5 ml olduğundan $0.10 \times 5 = 0.50$ µl uçucu yağ gereklidir.

1000 µl/ml stokda	100 µl yağ
X µl	0.50 µl yağ

X=5 µl olarak bulunur.

Üçüncü dozumuz 0.15 µl/ml'lik doz için besiyeri 5 ml olduğundan $0.15 \times 5 = 0.75$ µl uçucu yağ gereklidir.

1000 µl/ml stokda	100 µl yağ
X µl	0.75 µl yağ

X=7.5 µl olarak bulunur.

Son dozumuz 0.20 µl/ml'lik doz için besiyeri 5 ml olduğundan $0.20 \times 5 = 1$ µl uçucu yağ gereklidir.

1000 µl/ml stokda	100 µl yağ
X µl	1 µl yağ

X=10 µl olarak bulunur.

Aynı hesaplamalar *C. cyminum* dozları içinde yapıldı.

Kromozom Medyumu (Besi Yeri)

Bu çalışmada hücre kültürü olarak Biochrom firmasının ürettiği Chromosome Medium B kullanıldı. Aşağıdaki maddeler Chromosome Medium B'nin her litresinde bulunmaktadır:

Non essential Amino Acids.....	850 ml
Fetal Calf Serum	150 ml
Heparin.....	25.000 E
Penicillin G, Sodium Salt.....	75.000 E
Streptomycin Sulphate.....	50 mg
Phytohemagglutinin M.....	2.5 mg

Kromozom medyumu her tüpe 5 ml olacak şekilde paylaştırıldı. Kültür tüpleri steril olarak temin edildi.

Kolsişin

Colchicine (Kolsişin) (Sigma), kromozom preparatlarının hazırlanmasında mitotik zehir olarak kullanıldı. Kolsişin çözeltisi steril distile su içerisinde hazırlanmış ve kromozom medyumunun her ml'sinde 0.06 µg olacak şekilde (0.06 µg/ml) 5 ml'lik kromozom medyumuna ilave edildi. Kolsişin'in bazı özellikleri aşağıda gösterilmektedir.

Kapalı formülü: C₂₂H₂₅N₀₆

Molekül ağırlığı: 399.4

Etil asetat içeriği: %3.4

Kloroform içeriği: < %0.1

Hipotonik Çözelti

Kromozomlarda az miktarda hasar yaptığından en çok kullanılan hipotonik çözelti KCl'dir [72].

Hipotonik çözelti olarak % 0,4'lük KCl (Merck) kullanıldı ve çözelti bidistile su içinde hazırlanıp, ağzı kapalı bir cam kaptaki buzdolabında (+4 °C) saklanmıştır. Her preparasyon işleminden yaklaşık 2 saat önce yeterli miktarda alınıp, 37 °C'deki etüvde ısıtılarak kullanıldı.

Fiksatif

Kullanılan fiksatif, 1 kısım glacial asetik asit' in 3 kısım metanol (1/3 glacial asetik asit/metil alkol) ile karıştırılmasıyla hazırlandı. Fiksatif kullanılmadan iki saat önce hazırlanarak buzdolabında saklandı. Her defasında preparat yapım işleminden iki saat önce taze olarak hazırlanıp kullanıldı.

Aseton

Alifatik ketonların en basit üyesi olan aseton, dimetil keton olarak da bilinir. Saf aseton renksiz, hoş kokulu, kolay alevlenebilen, uçucu bir sıvıdır. Her oranda suyla karıştırılabilir ve suda çözünür. Kalsiyum asetatın kuru olarak damıtılmasıyla elde edilir ve birçok organik maddenin çözücüsüdür. Kimyasal olarak ise ketonların tüm özelliklerini taşıdığı bilinmektedir [73].

Karabaş kekiği ve kimyon bitki uçucu yağlarını çözmek için Merck marka aseton kullanıldı.

Sorenson Fosfat Tampon Çözeltisi: KH₂PO₄ çözeltisinden 60 ml. ve Na₂HPO₄ çözeltisinden 30 ml. alınarak şaleye konular ve üzerine 10 ml. giemsa boyası eklenmesi suretiyle %10' luk giemsa-sorenson fosfat tampon çözeltimiz hazırlandı [74].

Giemsa

Giemsa boyası Merck firmasından temin edildi. Çalışmada Sorensen tamponu içinde % 10'luk olarak hazırlandı ve preparatların boyanmasında kullanıldı.

Entellan

Merck firmasından temin edilen solüsyon preperat kapatılmasında kullanıldı. Lam ve lamelin birbirlerine yapıştırılmasını sağlar.

Kullanılan Deney Ekipmanları

Hassas Terazi

Tartım işlemlerinde 0.0001 gr hassasiyetindeki PRECİSA XB 220 A marka terazi kimyasalların tartılmasında kullanıldı.

Santrifüj

5000 rpm'e kadar yükselebilen devir hızı, 15 dk.'lık zaman ayarlayıcı ve 8 tüp kapasiteli ELEKTRO-MAG marka santrifüj çalışmalarda kullanıldı.

Mikroskop

Preparat incelemeleri sırasında koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan OLYMPUS marka binoküler ışık mikroskobu kullanıldı.

Etüv

Elektro-mag M 420 Bp marka 0 °C - 100 °C ayarlanabilir etüv hücre kültürünün yapımında ve bazı eriyiklerin 37 °C'ye ısıtılmasında kullanıldı.

Vorteks

Deney tüplerinin karıştırılması için Yellowline marka vorteks kullanıldı.

Deney Ekipmanları

1. Etüv (Elektro-mag M420 Bp)
2. Vorteks (Yellowline)
3. Mikroskop (Olympus model CHK)
4. Santrifüj (Elektro-mag)
5. Derin dondurucu
6. Buzdolabı
7. Otomatik pipet
8. Fotomikroskop (Olympus BH-2,Nikon Coolpix 8800)

Sarf Malzemeler

1. Heparin (Roche)
2. Giemsa (Merck)
3. KH₂P₀₄ (Merck)
4. Glasial asetik asit (Merck)
5. Metanol (Merck)
6. İmmersiyon yağı (Merck)
7. KCL (Merck)
8. Alkol (Merck)
9. Distile su
10. Tüplük
11. Çeşitli cam malzemeler
12. Konik tabanlı 10ml'lik steril kültür tüpü
13. Enjektör
14. Çeşitli ebatlarda puarlar
15. Pasteur pipeti
16. Lam
17. Lamel

3.2. Metod

Kromozom Aberasyonlarını Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Preparatların Hazırlanması Ve Boyanması

Hücre Kültürünün Yapılması ve Preparatların Hazırlanması

Sigara ve düzenli olarak ilaç kullanmayan, yaş aralığı 22-25 olan sağlıklı 10 erkek ve 10 bayandan alınan periferik kan kullanıldı. 1/10 oranında alınan heparinize edilmiş kan örnekleri kromozom medyumlarına (her tüpte 5ml) yaklaşık 10-12 damla steril olarak ekildi. Hücre kültürü etüvde 37 °C de 72 saat inkübe edildi.

Negatif Kontrol Grubu:

Negatif kontrol grubu olarak tutuldu. Hazırlanan deney tüplerine besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kontrol grubumuza herhangi bir şey ilave edilmedi. Her iki deney grubumuz için yapıldı.72 saat inkübasyona tabi tutuldu.

Pozitif Kontrol Grubu:

Pozitif kontrol grubu olarak tutuldu. Hazırlanan deney tüplerine Mitomisin-C (MMC) 0,3 µg/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) MMC eklendi. Her iki deney grubumuz için yapıldı.

Çözücü Kontrol Grubu (Aseton):

Hazırlanan deney tüplerine çözücü kontrolü için asetondan 2.5 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) aseton eklendi. Her iki deney grubumuz için ayrı olarak yapıldı.

Deney 1: *T. spicata* uçucu yağı

Grup 1. Hazırlanan deney tüplerine kekik uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.05 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) karabaş kekik uçucu yağı eklendi.

Grup 2. Hazırlanan deney tüplerine kekik uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.10 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) karabaş kekik uçucu yağı eklendi.

Grup 3. Hazırlanan deney tüplerine kekik uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.15 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) karabaş kekik uçucu yağı eklendi.

Grup 4. Hazırlanan deney tüplerine kekik uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.20 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) karabaş kekik uçucu yağı eklendi.

Deney 2: *C. cyminum* uçucu yağı

Grup 1. Hazırlanan deney tüplerine kimyon uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.05 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) kimyon uçucu yağı eklendi.

Grup 2. Hazırlanan deney tüplerine kimyon uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.10 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) kimyon uçucu yağı eklendi.

Grup 3. Hazırlanan deney tüplerine kimyon uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.15 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) kimyon uçucu yağı eklendi.

Grup 4. Hazırlanan deney tüplerine kimyon uçucu yağı için oluşturulan stoktan 0.20 µl/ml besi yeri (12 damla kan+5 ml besi yeri) olacak şekilde ilave edildi. Kültürün inkübasyon (72 saat) süresinin dolmasına 24 saat kala (yani inkübasyona konduktan 48 saat sonra ilave edildi) kimyon uçucu yağı eklendi.

Kültür süresinin bitimine 2 saat kaldığında (kültürün 70. saatinde) her tüpe 40µl hazırlanan kolşisin eriyiğinden eklendi (0.06 µg kolşisin/ml besi yeri) ve tüpler karıştırıldı. Hücreler 2 saat kolşisin ile muamele edildi. Kültür süresinin bitiminde (72. Saat sonunda) kültür tüpleri, 2000 rpm de 10 dak. Santrifüj edildi ve süpernatant kısım atıldı. Tüpün dibinde kalan ve hücreleri içeren 0.5- 0.7 ml' lik sıvı karıştırıldıktan sonra her tüpe etüvde 37 °C de muhafaza edilen hipotonikten 5 ml damla damla eklendi. Tüplerin ağzı kapatılarak etüve konuldu. 37 °C etüvde hücreler hipotonikte 30 dak. bekletildi. Sürenin sonunda tüpler 2000 rpm de 10 dak. santrifüj edilerek süpernatant kısımları atıldı. Her tüpe yavaş yavaş ve karıştırarak 5 ml ye tamamlanacak şekilde soğuk fiksatif eklendi. Tüpler oda sıcaklığında 2000 rpm de 10 dak. santrifüj edildi ve süpernatant kısım atıldı. Tüplere tekrar fiksatif eklendi ve bu işlem 3 kez tekrar edildi. Son santrifüjden sonra tüpün dibinde 0.5-0.7 ml. Sıvı kalacak şekilde son süpernatant kısımda atıldı. Tüpün dibinde kalan hücreler pasteur pipeti ile karıştırılarak homojenize edildi. Pasteur pipetine 4-5 damla hücre süspansiyonundan çekildi ve 50 cm yükseklikten her lama 3 damla olacak şekilde damlatıldı. Damlatma işlemini yaparken lam da farklı alanlara gelmesine dikkat edildi. Bu sayede hücrelerin üst üste gelmesi önlenmiş oldu. Hazırlanan preparatlar oda sıcaklığında 24 saat kurumaya bırakıldı [75,76].

Preparatların Boyanması ve Daimi Hale Getirilmesi

Oda sıcaklığında kurumuş olan preparatlar % 10 luk giemsa boya çözeltisi ile boyandı. Kurumuş olan preparatlar boya içersine konuldu ve yaklaşık 10 dk. bekletildi. Boyadan çıkarılan preparatlar üzerindeki fazla boyanın akmasını sağlamak amacıyla 3 ayrı kapta bulunan saf sudan geçirildi. Preparatlar dik olacak şekilde kurumaya bırakıldı. Kuruyan preparatları daimi hale getirmek amacıyla entellan ile yapııştırıldı. Entellan kuruduktan sonra mikroskop altında incelendi.

Mikroskopik inceleme

Hazırlanmış olan daimi preparatlar Olympus marka binoküler ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelendi (10x100=1000 büyütmede). İyi dağılmış kromozomlara sahip daimi preparatlardan, 100 metafaz sayılarak, kromozom, kromotid kırığı, kromatid birleşmesi, fragment, vb. gibi olguları saptamak için mikroskopik inceleme yapıldı. Bu hücreler içinde oluşan anormallikler kaydedilerek

yüzdeleri hesaplandı. Gözlediğimiz kromozom yapı ve sayı anormallikleri Uluslararası İnsan Sitogenetik Adlandırma Sistemine (ISCN= International System for Human Cytogenetic Nomenclature) uygun olarak değerlendirildi ve isimlendirildi [77].

Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

Her gruba ait preparatlardan toplamda 3 bin hücre incelendi ve bunlar arasındaki metafaz safhasında olan hücreler saptanarak kaydedildi. 3 bin hücre içerisinde oluşan metafazların oranı yüzde olarak hesaplanarak mitotik indeks saptandı.

Mikroskopta Fotoğraf Çekme

Fotoğraflar Olympus marka mikroskopla 1000 büyütmede çekildi. KA'lara ait örneklerin fotoğrafları çekildi.

İstatistik Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Tüm istatistiksel analizler Windows 95 GraphPad InStat 3.05 (GraphPad Software, San Diego California USA) kullanılarak yapılmıştır. Deney grupları ve negatif kontroller arasında farklılığın tespiti için Dunnett t testi kullanıldı. Doz-etki ilişkisini ortaya koymak amacıyla regresyon ve korelasyon analizleri yapıldı, regresyon denklemi ve korelasyon katsayısı (r) bulundu ve regresyon doğrusu çizildi.

4. BULGULAR

Normal sağlıklı bir bireye ait kromozom görüntüsü (Resim 4.1) ve (Resim 4.2)de verilmiştir. Kromozomlar öncelikle pozitif kontrol olarak kullanılan MMC ile etkileşime bırakılmıştır (0.3 µg/ml). Mitomycin-C'in kromozomlarda kromozom ve kromatid kırıkları, fragment, disentrik kromozom ve kardeş kromatid birleşimi gibi hasarlara neden olduğu gözlenmiştir.



Resim 4.1Sağlıklı Bir Bireye Ait Kromozom Görüntüsü, 24 saatlik muamele, (x1000)

Kontrol ve deney gruplarının değişik dozları ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültürü kromozomlarında aberasyon oranları Tablo 4.1 de gösterilmiştir (Tukey Test). Çözücü kontrol, kontrol grubuyla kıyaslandığında önemli bir artış olmadığı saptanmıştır. Karabaş kekiği uçucu yağı uygulanmış tüm deneme grupları negatif kontrol ve pozitif kontrol mitomisin-C (MMC, 0.3 µg/ml) ile kıyaslandığında, uygulanan karabaş kekiği dozları (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml) kromozom aberasyon sıklığında istatistiksel olarak artışa yol açmıştır (Çizelge 4.1). Kromozom ve kromatid kırıkları, kardeş kromatid birleşmeleri, fragment ve disentrik kromozomlar tüm doz uygulamalarında gözlenmiştir. Negatif ve çözücü kontrol ile

kıyaslandığında karabaş kekiği tüm konsantrasyonlarda hücre bölünme indeksini (MI) düşürmüştür (Çizelge 4.3). Çalışma sonuçları karabaş kekiği'nin insan lenfosit kromozomlarında in-vitro klastojenik potansiyeli olduğunu göstermektedir. Yani karabaş kekiği kromozom aberasyonu oluşumunu uyarmıştır. Ancak bu artış pozitif kontrol olan MMC'deki kadar olmamıştır.

Kimyon uygulanmış tüm deneme grupları negatif kontrol ve pozitif kontrol mitomisin-C (MMC, 0.3 µg/ml) ile kıyaslandığında, uygulanan kimyon uçucu yağı (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml) kromozom aberasyon sıklığında istatistiksel olarak artışa yol açtığı Çizelge 4.2' de gösterilmiştir. Kromozom ve kromatid kırıkları, kardeş kromatid birleşmeleri, fragment ve disentrik kromozomlar tüm doz uygulamalarında gözlenmiştir. Negatif ve çözücü kontrol ile kıyaslandığında kimyon uçucu yağı tüm konsantrasyonlarda hücre bölünme indeksini düşürmüştür (Çizelge 4.4). Çalışma sonuçları kimyon uçucu yağı'nın insan lenfosit kromozomlarında in-vitro klastojenik potansiyeli olduğunu göstermektedir.

Yani kimyon uçucu yağı aberasyon oluşumunu uyarmıştır. Ancak bu artış pozitif kontrol olan MMC'deki kadar olmamıştır.

Tablo 4.1: Kontrol ve Deney Gruplarının Değişik Dozları ile Etkileşime Sokulan İnsan Lenfosit Kültürü Kromozomlarında Aberasyon Oranları

Guruplar	Muamele Süresi (Saat)	Doz	KK	Kk	F	DSK	KKB	Toplam (%)	±SEM (%)
Negatif	24	-	2	1	-	-	1	4	±0,3
MMC (µg/ml)	24	0,3	65	81	15	13	16	190	±4,7*
Çözücü Kontrol (µl/ml)	24	2,5	1	1	-	-	1	3	±0,16
Kekik (µl/ml)	24	0,05	9	4	-	6	4	23	±1,15*
		0,10	12	8	2	6	7	35	±0,57*
		0,15	15	6	3	5	9	38	±0,57*
		0,20	22	10	6	8	11	57	±0,88*
Kimyon (µl/ml)	24	0,05	5	3	-	1	5	14	±0,57*
		0,10	10	3	2	3	8	26	±0,57*
		0,15	13	8	-	11	5	37	±0,57*
		0,20	15	12	5	7	14	53	±1,2*

KK: Kromozom kırığı, Kk: Kromatid kırığı, F: Fragment, DSK: Disentrik kromozom

KKB: Kardeş kromatid birleşmesi MMC: (0.3 µg/ml mitomycine-C (24 saat).

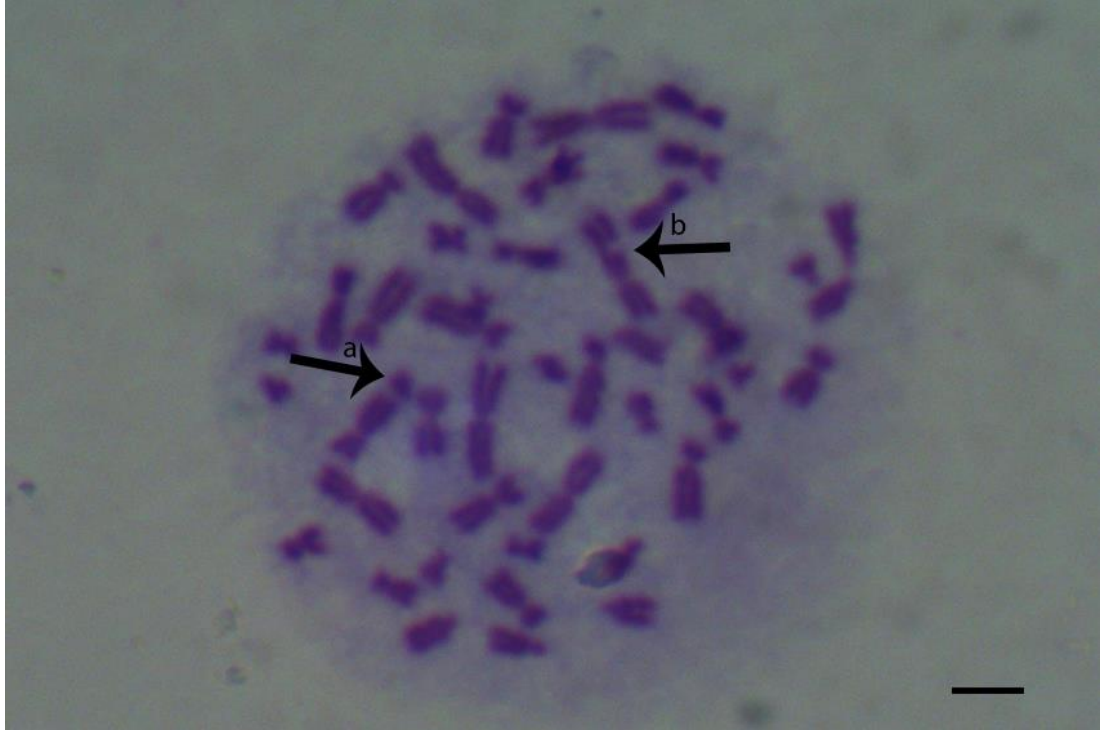
p>0.05 negatif kontrol ile çözücü kontrol arası fark önemsiz

* p< 0.01 kontrolle karşılaştırıldığında fark önemli (Tukey testine göre)

İnsan lenfosit kültüründe karabaş kekiği ve kimyon uygulanmış deney gruplarında meydana gelen kromozom kırığı (Resim 4.3), (Resim 4.4), kromatid kırığı (Resim 4.3) (Resim 4.5) (Resim 4.7), disentrik kromozom (DSK) (Resim 4.8) (Resim 4.9), fragment (Resim 4.5), kardeş kromatid birleşimi (KKB) (Resim 4.6) (Resim 4.8) gösterilmiştir.



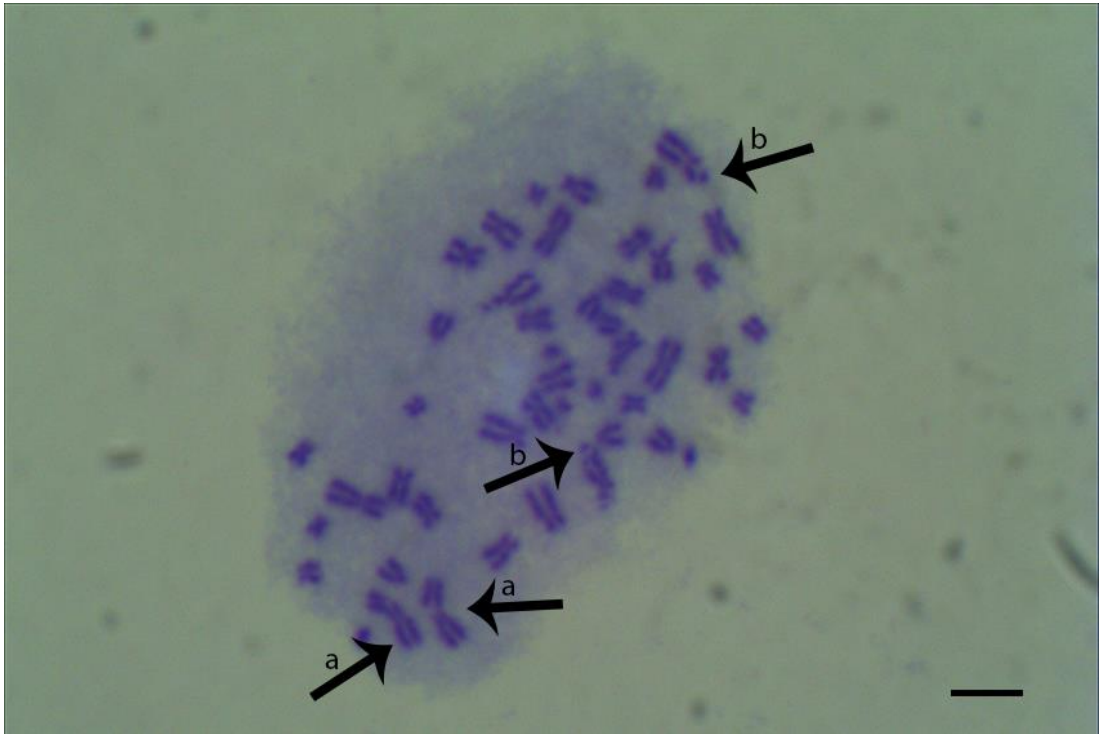
Resim 4.2 Çözücü Kontrolle (Aseton) Muamele Edilmiş Kromozom Görüntüsü, 24 saatlik muamele, (x1000)



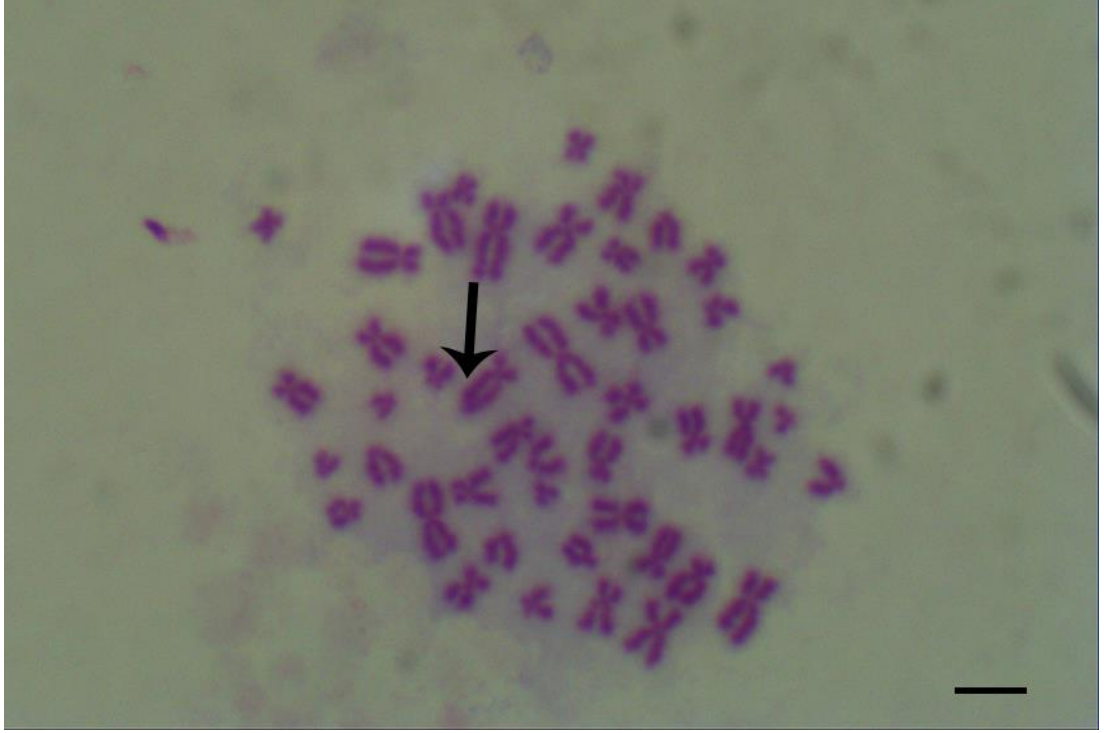
Resim 4.3 Kromozom kırığı (KK) (a), Kromatid kırığı (Kk) (b), 24 saatlik muamele, (x1000).



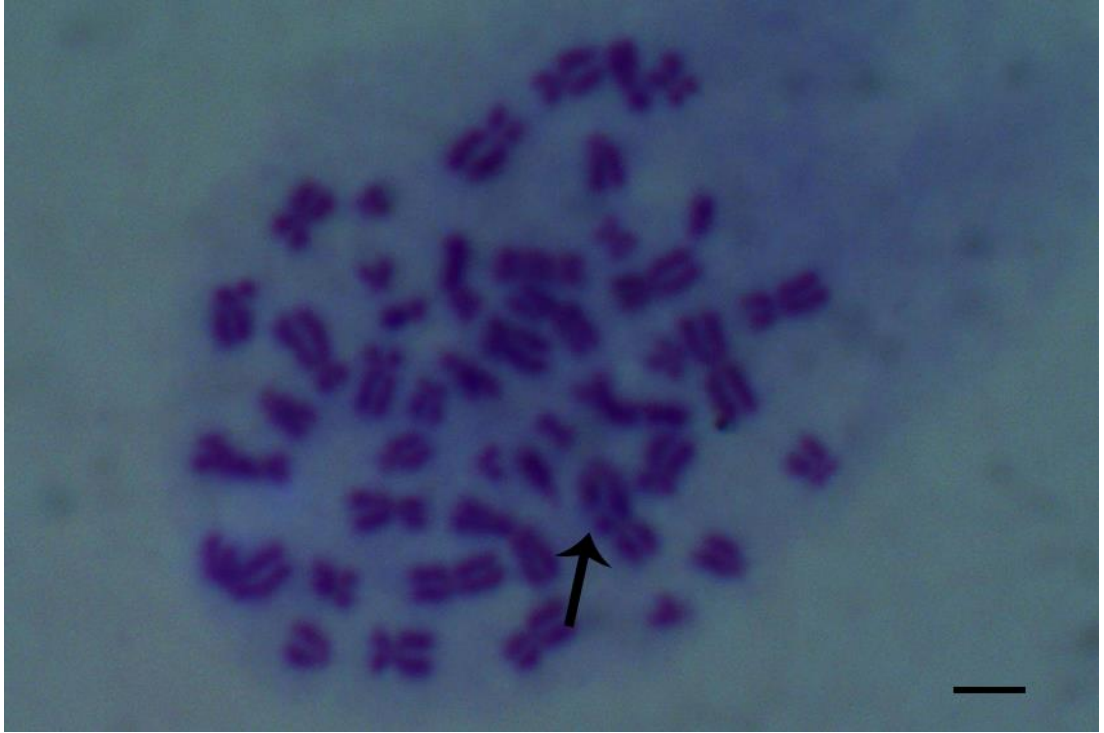
Resim 4.4 Kromozom kırığı (KK), 24 saatlik muamele, (x1000).



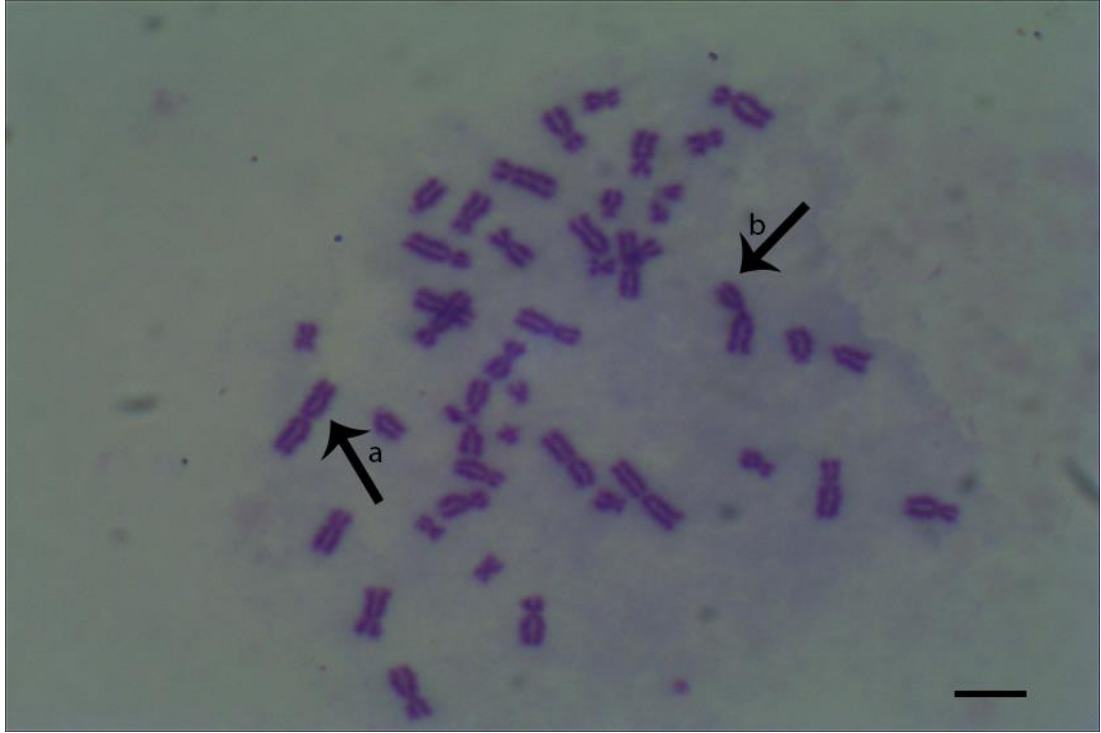
Resim 4.5 Kromatid kırığı (Kk) (a), Fragment (F), (b), 24 saatlik muamele, (x1000).



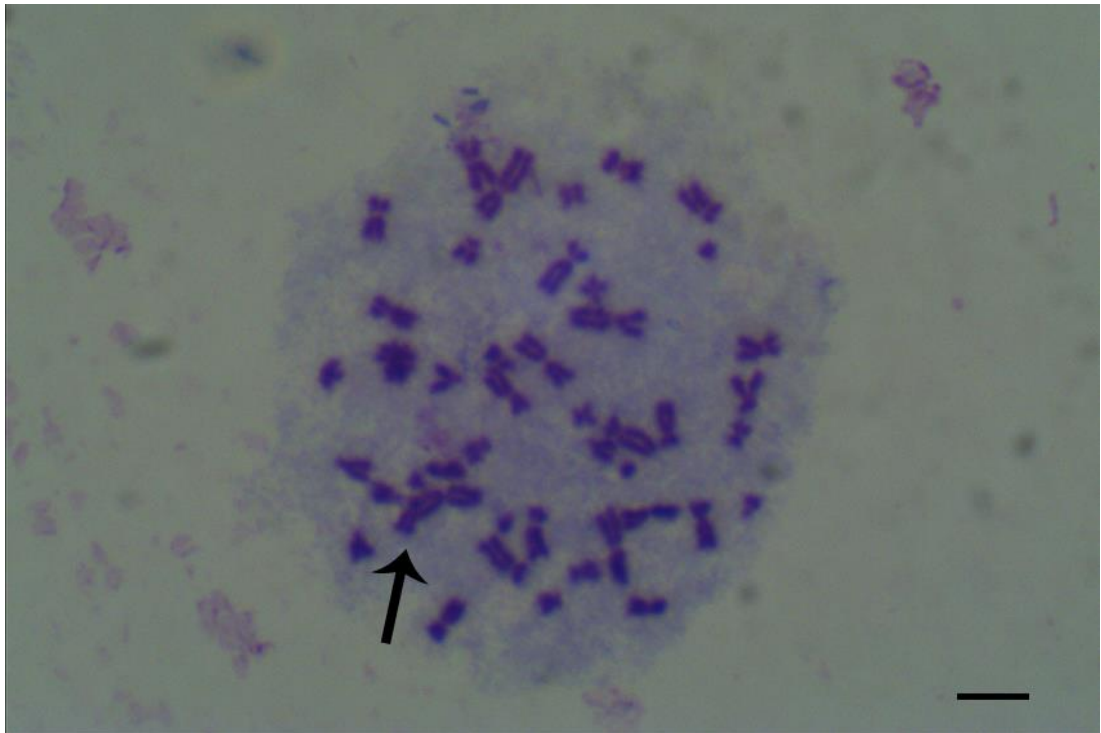
Resim 4.6 Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB), 24 saatlik muamele, (x1000).



Resim 4.7 Kromatid kırığı (Kk), 24 saatlik muamele, (x1000).

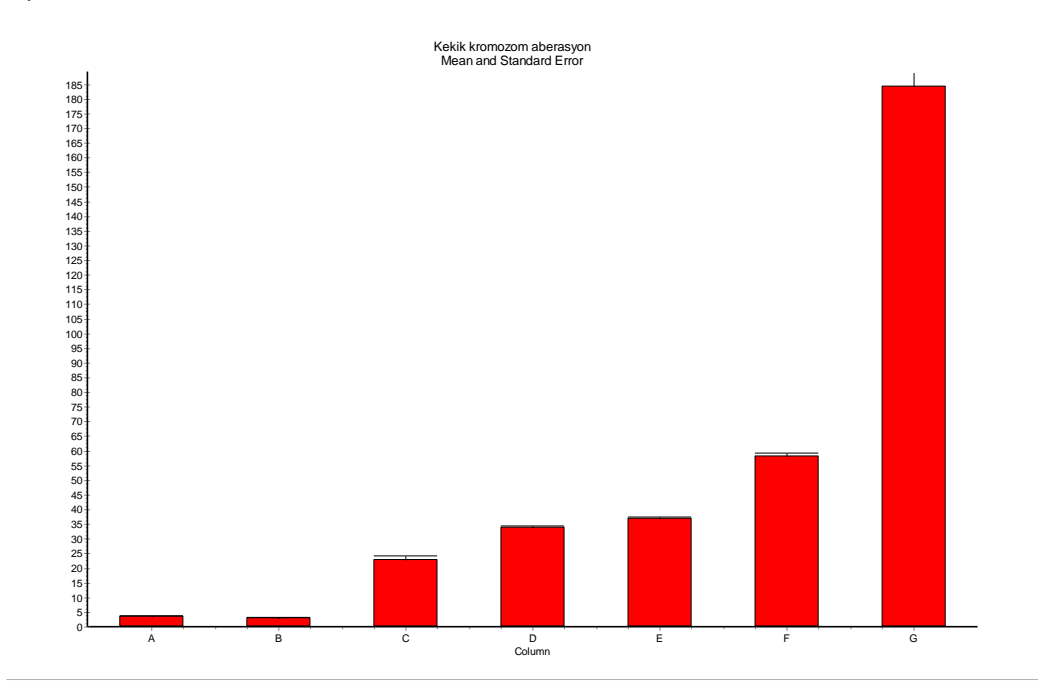


Resim 4.8 Disentrik kromozom (DSK) (a), Kardeş Kromatid Birleşmesi (KKB) (b) 24 saatlik muamele, (x1000).

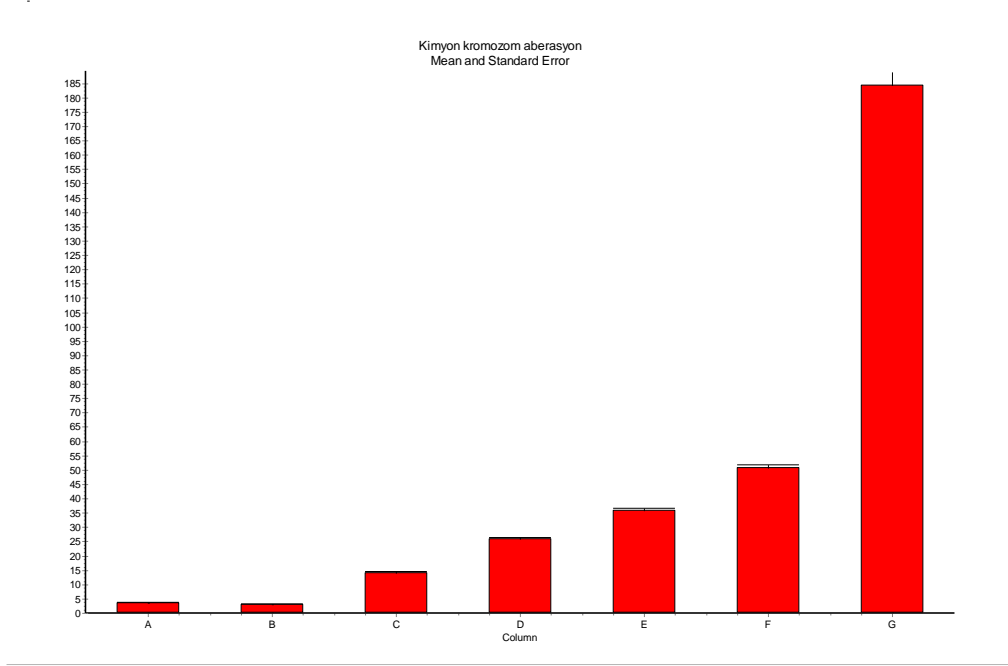


Resim 4.9 Disentrik kromozom (DSK), 24 saatlik muamele, (x1000).

İnsan lenfosit kültüründe karabaş kekiğinin değişik dozları (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml) ve kimyonun değişik dozları (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml) ile etkileşime sokulan kromozom aberasyon oranları çizelge 4.1 ve çizelge 4.2’de gösterilmiştir.



Çizelge 4.1. Karabaş kekiğinin değişik dozları (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml) ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültüründe kromozomal aberasyon oranları (A: Negatif Kontrol, B: çözücü kontrol, C: 0.05µl/ml karabaş kekiği, D: 0.10µl/ml karabaş kekiği, E: 0.15µl/ml karabaş kekiği, F: 0.20µl/ml karabaş kekiği, G: MMC)



Çizelge 4.2. Kimyonun değişik dozları (0,05 µl/ml, 0,10 µl/ml, 0,15 µl/ml, 0,20 µl/ml) ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültüründe kromozomal aberasyon oranları (A: Negatif Kontrol, B: çözücü kontrol, C: 0.05 Kimyon, D: 0.10, Kimyon E: 0.15 Kimyon, F:0.20 Kimyon, G: MMC)

İnsan lenfosit kültürlerinde deneylerde kullanılan karabaş kekiği ve kimyonun mitotik indeks üzerine etkileri Tablo 4.2 ve Tablo 4.3 de verildi.

Karabaş kekiği mitotik indeks oranları; negatif kontrol ile çözücü kontrol arasında fark önemsiz ($p > 0.05$), tüm dozlar kontrolle karşılaştırıldığında fark önemli ($* p < 0.01$) bulundu (Dunnnett t testi). Tüm dozlar negatif ve pozitif kontrolle karşılaştırıldı (çizelge 4.3). Karabaş kekiğinin farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki regresyon eğrisi çizildi (çizelge 4.5). Karabaş kekiğinin farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki negatif korelasyon ($r = -0.99$) bulundu.

Kimyonun mitotik indeks oranları ise; negatif kontrol ile çözücü kontrol arasında fark önemsiz ($p > 0.05$), tüm dozlar kontrolle karşılaştırıldığında fark önemli ($* p < 0.01$) bulundu (Dunnnett t testi). Tüm dozlar negatif ve pozitif kontrolle karşılaştırıldı (çizelge 4.4). Karabaş kekiğinin farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki regresyon eğrisi çizildi (çizelge 4.6). Kimyonun farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki negatif korelasyon ($r = -0.99$) bulundu.

Tablo 4.2: Kontrol ve Karabaş kekiğinin Değişik Dozları İle Etkileşime Sokulan İnsan Lenfosit Kültüründe Mitotik Aktivite Oranları

Gruplar	Muamele Süresi (Saat)	Toplam Hücre	Metafaz hücre sayısı	Mitotik İndex (24 saat) (%)	±SEM(%)
Negatif kontrol	24	3000	188	6.14	± 0.09
			181		
P.Kontrol MMC(0.3 µg/ml)	24	3000	82	2.71	±0.08*
			81		
Karabaş kekiği (0.05 µl/ml)	24	3000	168	5.55	±0.10*
			165		
Karabaş kekiği (0.10 µl/ml)	24	3000	160	5.31	±0.05*
			159		
Karabaş kekiği (0.15 µl/ml)	24	3000	153	5.08	±0.03*
			152		
Karabaş kekiği (0.20 µl/ml)	24	3000	148	4.88	±0.08*
			145		
Çözücü kontrol(aseton) (2.5 µl/ml)	24	3000	182	6.04	±0.02
			180		

p>0.05 negatif kontrol ile çözücü kontrol arasında fark önemsiz

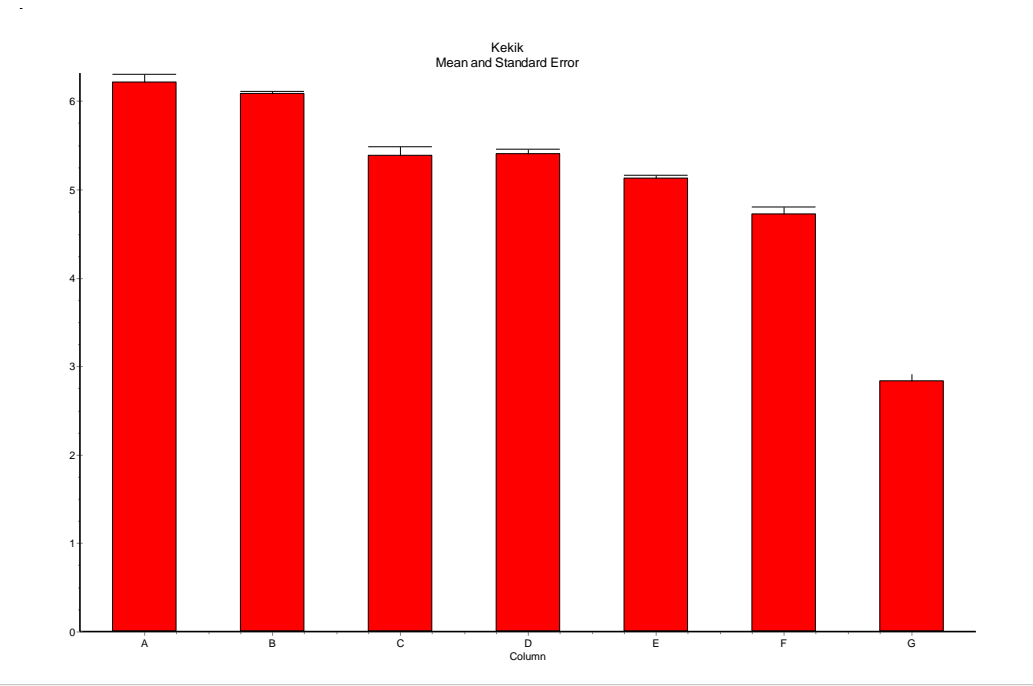
* p< 0.01 kontrolle karşılaştırıldığında fark önemli (Dunnnett t testi)

Tablo 4.3: Kontrol ve Kimyonun Değişik Dozları İle Etkileşime Sokulan İnsan Lenfosit Kültüründe Mitotik Aktivite Oranları

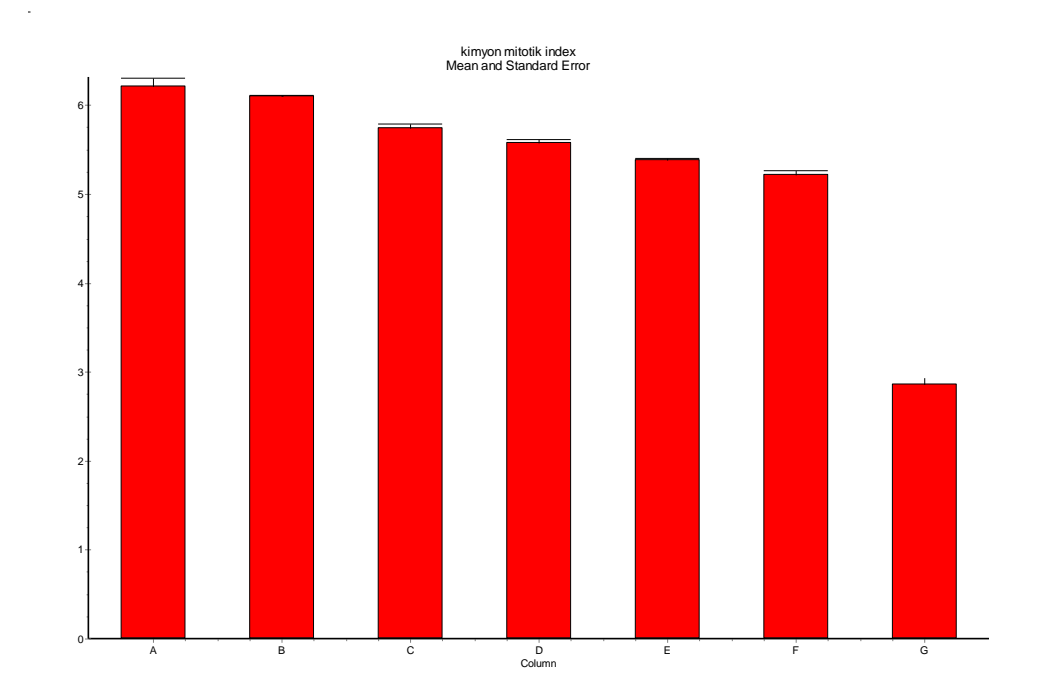
Gruplar	Muamele Süresi (Saat)	Toplam Hücre	Metafaz hücre sayısı	Mitotik İndex (24 saat) (%)	±SEM(%)
Negatif kontrol	24	3000	188	6.14	±0.090
			181		
P.Kontrol MMC(0.3 µg/ml)	24	3000	82	2.71	±0.060*
			81		
Kimyon (0.05 µl/ml)	24	3000	176	5.83	±0.050*
			174		
Kimyon (0.10 µl/ml)	24	3000	171	5.63	±0.030*
			167		
Kimyon (0.15 µl/ml)	24	3000	163	5.41	±0.010*
			162		
Kimyon (0.20 µl/ml)	24	3000	159	5.21	±0.040*
			154		
Çözücü kontrol(aseton) (2.5 µl/ml)	24	3000	185	6.10	±0.006
			181		

$p > 0.05$ negatif kontrol ile çözücü kontrol arasında fark önemsiz

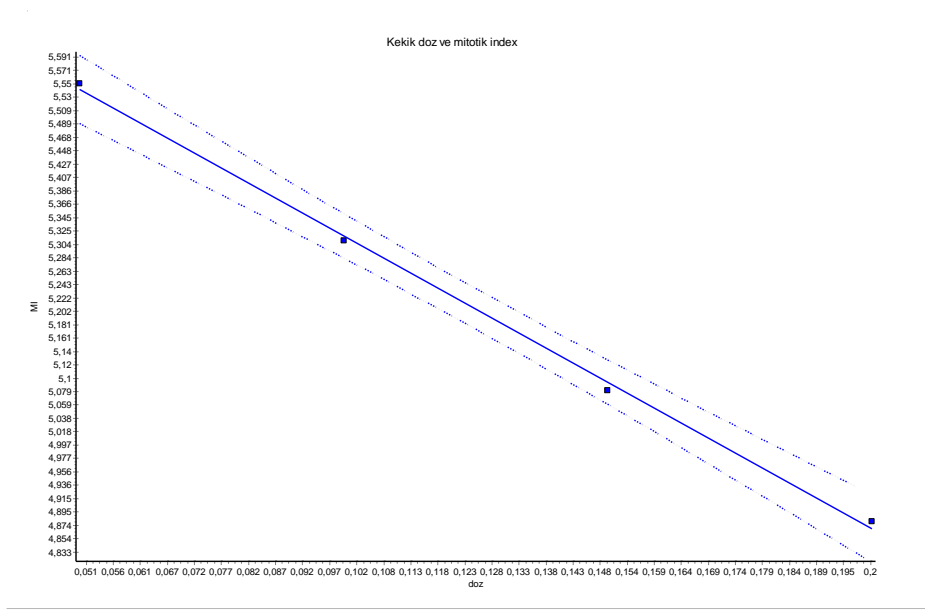
* $p < 0.01$ kontrolle karşılaştırıldığında fark önemli (Dunnett t testi)



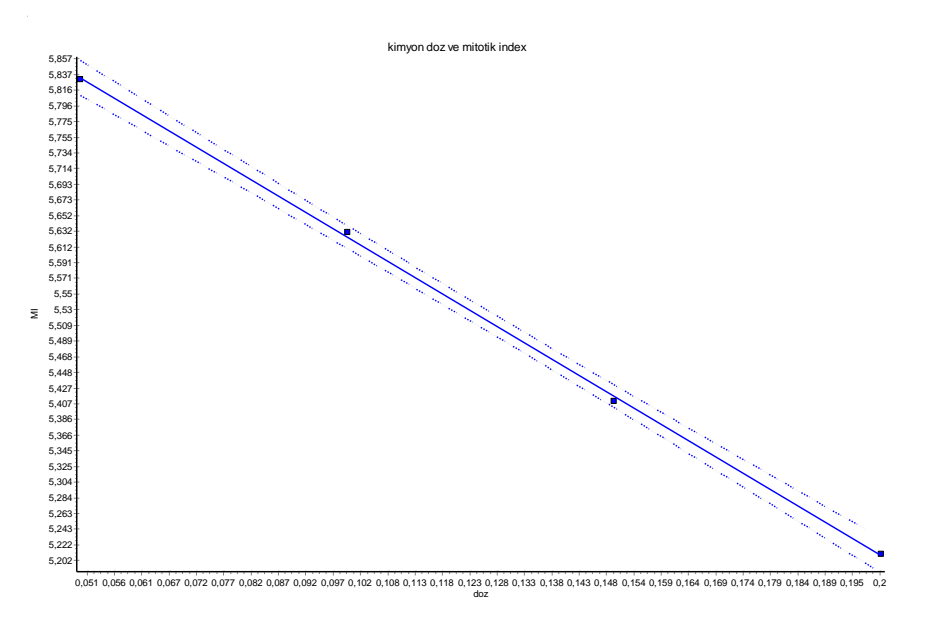
Çizelge 4.3 Karabaş kekiğinin değişik dozları (0.05 µl/ml, 0.10 µl/ml, 0.15 µl/ml, 0.20 µl/ml) ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültüründe mitotik indeks oranları (A:Negatif Kontrol, B: çözücü kontrol, C: 0.05 µl/ml karabaş kekiği, D: 0.10 µl/ml karabaş kekiği, E: 0.15 µl/ml karabaş kekiği, F: 0.20 µl/ml karabaş kekiği, G: MMC)



Çizelge 4.4 Kimyonun değişik dozları (0.05 µl/ml, 0.10 µl/ml, 0.15 µl/ml, 0.20 µl/ml) ile etkileşime sokulan insan lenfosit kültüründe mitotik indeks oranları (A: Negatif Kontrol, B: çözücü kontrol, C: 0.05 µl/ml Kimyon, D: 0.10 µl/ml Kimyon, E: 0.15 µl/ml Kimyon, F: 0.20 µl/ml Kimyon, G: MMC)



Çizelge 4.5 Karabaş kekiğinin farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki regresyon ($r = -0.99$) çizelgesi



Çizelge 4.6 Kimyonun farklı konsantrasyonları ile mitotik indeks arasındaki regresyon ($r = -0.99$) çizelgesi

Tablo ve şekillerde görülebileceği gibi karabaş kekiği uçucu yağı ve kimyon uçucu yağında doz arttıkça kromozom kırığı ve diğer aberasyonların oranı artmakta, mitotik indeks ($r = -0.99$) doza bağlı olarak azalmaktadır.

5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Tüm dünya da olduğu gibi Türkiye’de de tıbbi olarak önemli olan bitkiler yıllardan beri halk tarafından hastalıkların tedavi edilmesi amacıyla kullanılmaktadır. Tıbbi bitkilerin eski zamanlardan beri kullanılmasının bazı önemli nedenleri şunlardır:

1. Yeterli düzeyde kimya endüstrisine sahip olmayan ülkelerde, bitkilerden yararlanarak ucuz ve kolay tedavi olanağı sağlanmaktadır. Mısır, Hindistan ve Pakistan gibi ülkeler buna örnek gösterilebilmektedir ve bu ülkeler olumlu sonuçlar almaktadırlar.
2. Tedavi amacıyla kullanılan yeni sentetik maddelerin bazılarında görülen tehlikeli yan etkiler.
3. Bazı bitkisel ilaç ham maddelerinin, sentetik olanlardan daha ucuz ve daha basit yollarla elde edilebilme olanakları. Bunlara örnek olarak Steroid bileşikler, kına kına alkaloidleri, afyon alkaloidleri, atropa alkaloidleri, digitalis glikozitleri verilebilir.
4. Bitkisel ilaçları sentetik ilaçlardan ayıran en büyük özellik etki mekanizmasının daha geniş olmasıdır. Sentetik bileşikler genellikle tek bir etkiye sahiptirler ve bunların bazılarının yan etkilerini önlemek için başka ilaçlara ihtiyaç duyulur [1].

Çelik ve ark., yaptıkları çalışmada *Thymus kotschyanus* var. *glabrescens*’ in klastojenik ve Mitomycin C (MMC)’ ye karşı anti-klastojenik etkilerini incelemişlerdir. Bu bitkiden elde edilen ekstraktlar KKD (10-2 µl/ml konsantrasyonu hariç) ve KA’yı kontrol ve çözücü kontrolle karşılaştırıldığında artırmadığını bildirmişlerdir. Bununla birlikte bu bitkiden elde edilen ekstrakt KA’ ya neden olan MMC’nin etkisini azalttığını belirtmişlerdir. Diğer yandan bitki ekstraktı MMC ile birlikte KKD’yi pozitif kontrolle karşılaştırıldığında önemli derece artırdığını saptamışlardır [78].

Siddique ve ark., yaptıkları çalışmada in- vitro insan lenfosit kültüründe *Centella asiatica* L. bitkisinin ekstraktının Cyproterone acetate (tümör oluşumuna neden olan çeşitli metabolik hastalıkların tedavisinde kullanılan genotoksik ajandır) tarafından oluşturulan genotoksik etkisine karşı anti-genotoksik etkisini incelemişlerdir.

Cyproterone acetate' in tedavide kullanılan iki dozuna *C. asiatica* bitki ekstraktları 4 farklı dozda eklenmiş ve anti-genotoksik etkisi CA ve SCE testleri ile test edilmiştir. Sonuç olarak *C. asiatica* 'nın Cyproterone acetate' in insan lenfosit kültüründe oluşturduğu genotoksik etkiyi doza bağlı olarak azalttığı gözlenmiştir ve bu bitkinin Cyproterone acetate' in oluşturduğu hasarlara karşı koruyucu olduğunu saptamışlardır [79].

Çelikler ve ark., yaptıkları çalışmada in-vitro insan lenfosit kültüründe *Codium tomentosum* bitkisinin etenollü ekstraktının genotoksik/ mutajenik etkisini belirleme amacıyla CA, SCE ve MN test yöntemlerini kullanmışlardır. Çalışma sonucunda *C. tomentosum*' un güçlü bir anti-oksidan ve anti-genotoksik olduğu sonucuna varmışlardır [80].

Çelikler ve ark., yaptıkları çalışmada in-vitro insan lenfosit kültüründe *Ulva rigida crude* bitkisinin ekstraktının anti-klastojenik ve anti-genotoksik etkisini belirleme amacıyla 3 farklı dozda (10, 20, and 40 g/mL) CA, SCE ve MN test yöntemlerini kullanarak incelemişlerdir. Çalışma sonucunda *Ulva rigida crude* ekstraktının klastojenik olmadığı, MMC ile karşılaştırıldığında bu 3 dozun MN ve SCE oluşumunda düşüşe aynı zamanda CA' nın oluşumunda da önemli derecede azalmaya sebep olduğu sonucuna varmışlardır [81].

İshidate ve ark., *coriander* uçucu yağının (kişniş) çin hamster fibroblast hücrelerinde in vitro kromozomal aberasyon testiyle mutajenitesini araştırmışlardır. Hücrelere farklı dozlarda verilen kişniş uçucu yağının kromatid ya da kromozom aralıkları, kromozom kırıkları ve değişimleri, ring kromozom değerleri normal hücrelerle karşılaştırılmış ve sonuç olarak kişniş yağının klastojenik olmadığını tespit etmişlerdir [82].

Aras, Ş., yapmış olduğu çalışmada insan periferik kan lenfosit hücrelerin de *Origanum onites*' in (kekik) metanol ekstraktını 4 farklı dozda (1,2,3,4 µg/ml) kullanarak 24 ve 48 saatlik etkisine bakmıştır. *O. onites*' in tüm konsantrasyonları negatif kontrol ve pozitif kontrol olarak kullanılan Mitomisin-C ile karşılaştırıldığında, kromozomal aberasyon sıklığında önemli derecede bir artış olmadığını gözlemlemiştir. Mitomisin-C nin aberant hücrelerin sıklığında artışa neden olduğunu saptamıştır. Kromozom ve kromatid kırıkları, kardeş kromatid

birleşimi ve kromotid değişimi bütün konsantrasyon denemelerinde saptanmamıştır. *O. onites*'in tüm dozlarının hücre bölünme indeksini düşürmediğini saptamıştır [83].

Uçucu yağların bazı yan etkileri de bulunmaktadır [84,85].

Bu maddelerin en büyük tehlikeleri mutasyon ya da kansere sebep olabilme riskleridir. Bitkilerin tedavi amaçlı kullanılmalarının yanı sıra, bunların insan genomunda mutasyonlara sebep olup olmadıklarının ortaya çıkarılması son derece önemlidir [86].

Günlük yaşamda ya da tıbbi amaçlı olarak kullanılan bitkilerin toksisiteleri ve güvenli kullanımları hakkında Uluslararası Yaşam Bilim Enstitüsü (International Life Sciences Institute, ILSI), Ulusal Araştırma Konseyi ve Tıp Enstitüsü (Institute of Medicine/National Research Council-Amerika), Uluslararası Temel ve Uygulamalı Kimya Birliği (Union of Pure and Applied Chemistry, IUPAC), Avrupa Birliği Tıp Ajansı (European Medicines Agency) ve Avrupa Birliği Gıda Güvenliği Otoritesi (European Food Safety Authority, EFSA) gibi çeşitli uluslararası kuruluşlar dökümanlar yayınlanarak bilgilendirme yapmaktadır [87].

Phillips ve ark., maydanoz uçucu yağını yeni doğmuş farelere 4 farklı dozda (0.25, 0.5, 1.0 ve 3.0 µmol) intraperitoneal yolla vermişlerdir. Yapılan çalışmanın sonucunda yeni doğmuş farelerin karaciğerinde DNA'da adduct (kanserojen olan maddenin DNA'ya bağlanması sonucu oluşan yapı) oluşumuna neden olduğu yani verilen maddenin DNA ipliklerine kovalent olarak bağlandığını saptamışlardır [88].

Yıldız, M. A., *Stachys petrokosmos* yaprak ekstraktının metabolik aktivatör (S9mix) varlığında ve yokluğunda insan lenfositlerinde genotoksik ve anti-genotoksik etkisini belirlemek amacıyla yapmış olduğu çalışmasında metabolik aktivatör yokluğunda *S. Petrokosmos* yaprak ekstraktı tek başına KKD sayısını sadece en yüksek dozlarda arttırdığını, KA'yı tüm dozlarda uyardığını fakat MN sayısını artırmadığını saptamıştır. Bununla birlikte *S. petrokosmos* yaprak ekstraktı Mitomycin C'nin kromozom anomaliliği üzerindeki etkisini azalttığını saptamıştır. *S. petrokosmos* yaprak ekstraktının tek başına sadece yüksek dozlarda sitotoksik etkiye sahip olduğunu, yine sadece yüksek dozlarda MMC'nin sitotoksik etkisini artırdığını saptamıştır. Metabolik aktivatör varlığında *S. petrokosmos* yaprak ekstraktının

genotoksik ve sitotoksik olmadığını, fakat Cyclophosphamide'in KKD ve MN oluşumu üzerindeki etkisini azaltarak anti-genotoksik etkiye sahip olduğunu saptamıştır [89].

Lazutka ve ark., dereotu (*Anethum graveolens* L) bitkisinden elde ettikleri uçucu yağları insan lenfositlerinde in vitro KA ve KKD testleri ile ayrıca in vivo *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon (SMART) testlerini kullanarak dereotu'nun genotoksik etkisini araştırmışlardır. Dereotu'nun tohumundan elde edilen uçucu yağlar KA ve KKD'yi doza bağlı olarak artırdığını ve bu yağın insan lenfositleri için sitotoksik olduğunu bildirmişlerdir. SMART testinde ise doza bağlı olarak dereotu bitkisinin uçucu yağının mutasyon sıklığını artırdığını saptamışlardır. Aynı araştırmacılar sarıçam bitkisinden elde ettikleri uçucu yağların genotoksik risklerini insan lenfositlerinde in vitro KA ve KKD testleri, *Drosophila melanogaster*'de in vivo somatik mutasyon ve rekombinasyon (SMART) testi ile araştırmışlardır. Yapılan çalışmada sarıçam bitkisi yapraklarından elde edilen uçucu yağların açık bir şekilde doza bağlı olarak KA ve KKD'yi artırdığı, SMART testinde ise doza bağlı olarak sarıçam uçucu yağının mutasyon sıklığını artırdığını bildirmişlerdir. Nane bitkisinden elde edilen uçucu yağların genotoksitesini insan lenfositlerinde in vitro KA ve KKD testleri ile *Drosophila melanogaster*'de SMART testi ile araştırmışlar ve yapılan çalışmalar sonucunda nane yağının KKD'yi artırdığı ve *Drosophila*'da doza bağlı olmadan mutasyonlara sebep olduğunu saptamışlardır. Nane yağının insan lenfositleri için sitotoksik olduğunu saptamışlardır [90].

Kopar, N., yapmış olduğu çalışmada *Salvia fruticosa* bitki ekstraktının kromozom yapı anormalliklerini artırdığını, MMC ile birlikte kullanıldığında *S. fruticosa*'nın sinerjik etki yaparak hem 24 hem de 48 saatlik muamele sürelerinde ve tüm dozlarda MMC'nin etkisini artırdığını saptamıştır. *S. fruticosa* yaprak ekstraktının anormal hücre sayısını artırdığını ve bu artışın doza bağlı arttığını saptamıştır. *S. fruticosa* yaprak ekstraktı MMC ile birlikte anormal hücre yüzdesini artırdığını saptamıştır. *S. fruticosa* yaprak ekstraktı ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde genel olarak kromatid tipi anormallikler görülmesine rağmen kromozom tipi anormallikler de önemli sayıda gözlemlenmiştir. Kromatid tipi anormalliklerden en fazla gözlenen kromatid kırığı ve kromatid değişimi (CE) iken kromozom tipi anormalliklerden kromozom kırığı ve kardeş kromatid birleşmesi (sister union) tipi yapısal

anormallikleri de saptamıştır. *S. fruticosa* yaprak ekstraktı ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde poliploid hücre gözlemlenmiş ve dolayısıyla *S. fruticosa*'nın kromozom sayısı anormalliğini artırmadığını saptamıştır [91].

Gadano ve ark., tıbbi olarak kullanılan *C. multifidum* (kazayağı) ve *C. ambrosioides* (Meksika çayır otu) bitkisinin uçucu yağının genetik zararlarının değerlendirilmesi için insan lenfosit hücrelerini kullanmışlardır. Kazayağı bitkisinin uçucu yağları ile maruz kalan kültürlerde SCE ve KA'nın indüklendiğini, MI'nın ise azaldığını tespit etmişlerdir. Meksika çayır otu uçucu yağı ile muamele edilen lenfosit kültürlerinde SCE sıklığı ve KA yüzdesinin arttığı, MI'nın ise düştüğünü tespit etmişlerdir [92].

Aloe vera yaprak ekstraktının genotoksik ve anti-genotoksik etkileri sıçan kemik iliği hücrelerinde kromozom aberasyon testi (KA), insan lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi, MN ve KA testleri ve Ames/Salmonella/mikrozom test sistemleri ile araştırılmıştır. Aloe vera ekstraktı sıçan kemik iliği hücrelerinde uygulanan tüm konsantrasyon ve muamele sürelerinde yapısal ve sayısal kromozom anormalliklerini önemli derecede uyardığı tespit edilmiştir. Kullanılan ekstraktın, insan lenfositlerinde KKD sayısını artırmadığını, fakat mikronukleus frekansı ve yapısal kromozom anormalliklerini istatistiksel olarak önemli düzeyde artırdığını saptamışlardır. Ayrıca insan lenfositlerinde replikasyon indeksini, mitotik indeksi ve nukleus bölünme indeksini düşürdüğünü, sıçan kemik iliği hücrelerinde ise sadece mitotik indeksi düşürerek sitotoksik etki gösterdiğini tespit etmişlerdir [93].

Gül ve ark., *Urtica dioica* L. (ısırgan) bitkisinin uçucu yağının in-vitro insan lenfosit hücrelerinde sitotoksik ve genotoksik etkisini incelemek için yapmış oldukları çalışmada; ısırgan uçucu yağını 4 farklı dozda (0.10, 0.15, 0.20, 0.25 µl/ml) CA test yöntemi ve sitokinez bloklama MN test sistemini kullanarak 24 saatlik etkisini incelemişlerdir. 0.10 µl/ml doz hariç diğer tüm dozlar kromozomal aberasyonda artışa neden olurken, tüm dozların mitotik indeksi azalttığını saptamışlardır. Ayrıca tüm dozlarda doza bağlı olarak mikronukleus oluşumunda artış olduğunu saptamışlardır [75].

İpek ve ark., insan lenfositlerinde yaptıkları bir çalışmada, carvacrol'ün genotoksik ve antigenotoksik etkileri SCE testi ile araştırılmıştır. Carvacrol'ün SCE sayısını

artırmadığı diğer yandan MMC tarafından artırılan SCE sayısını da azalttığı yani antigenotoksik etkiye sahip olduğu belirtilmiştir [94].

Azırak, S., yapmış olduğu çalışmada *T. spicata* uçucu yağının aroma kimyasalarının (thymol ve carvacrol) in vivo sıçan kemik iliği hücrelerinde kromozomal anormallikleri artırıp artırmadığını saptamaya ve canlılar için genotoksik risk oluşturup oluşturmadığını belirlemeye çalışmış, sonuç olarak da thymol ve carvacrol in vivo sıçan kemik iliği hücrelerinde ATP üretimini baskı altında tutmalarından ya da genotoksik etkilerinden dolayı hücre bölünmesini azalttıkları ve sitotoksik etki gösterdikleri sonucuna varmıştır [95].

Dorman ve ark., yaptıkları çalışmada *T. spicata* ekstraktının antioksidan bir etkiyesahip olmadığını bildirmişlerdir [96].

Stammati ve ark., yaptıkları çalışmada *T. spicata*'nın aerokimyasalları olan thymol ve carvacrol'un Ames testinde mutajenik etkiye sahip olduklarını bildirmişlerdir [97].

Bir diğer çalışmada ise Azizan ve Blevins, thymol'ün herhangi bir mutajenik ya da anti-mutajenik etkiye sahip olmadığını bildirmişlerdir [98].

Aydın ve ark., yaptıkları çalışmada kekik yağının metanollü ekstraktlarının genotoksik aktivitelerini insan lenfositlerinde tek hücre jel elektroforezi ile kekik yağının DNA üzerindeki koruyucu etkisini de IQ (2-amino-3-methylimidazo [4,5-f]-quinoline) ve MMC varlığında incelemişlerdir. Kekik yağının düşük konsantrasyonlarda DNA ipliklerinde kırılmaya neden olmadığını, yüksek konsantrasyonda ise DNA'da önemli hasarlara neden olduğunu tespit etmişlerdir. Ayrıca kekik yağının düşük konsantrasyonlarda IQ ve MMC'nin neden olduğu DNA hasarlarını azalttığını da saptamışlardır [99].

Al-Batina ve ark., baharat olarak kullanılan kimyon bitkisinin uçucu yağının *Salmonella typhimurium*'un TA97a, TA98, TA100 ve TA102 suşları üzerinde birçok zayıf oksidatif mutajenik aktivasyona neden olduğunu bildirmişlerdir [100].

Yapılan literatür taramaları sonucunda *T. Spicata*'nın etken maddelerinden olan thymol ve carvacrol ile in-vivo ve in-vitro olarak yapılan çalışmalardaki sonuçlar Azırak S., [95] ve Stammati ve ark., [97] bizim bulduğumuz sonuçlar ile örtüşmektedir.

Bu bitkileri tüketirken aşırı konsantrasyondan kaçınmanın faydalı olacağı söylenebilir. Ayrıca *T. spicata* ve *C. cuminum* bitkilerinin kimyasal yapısında bir çok etken madde vardır. Bu türlerin gösterdiği genotoksik etkilerin hangi etken maddeden kaynaklandığını ya da etken maddelerin birbirleriyle etkileşime girip bu genotoksik etkiye sebep olabileceği göz ardı edilmemelidir.

Bu bitkilerin yapısındaki etken maddelerin izole edilerek tek tek sitogenetik testlere tabi tutulması, bu türlerin sitogenetik etkilerinin içeriğindeki hangi maddeden veya maddelerden kaynaklandığına dair bilgiler verebilir. Genotoksik özellikler *T. spicata* ve *C. Cuminum*'un kimyasal yapısındaki bir veya birden fazla maddenin sinerjistik etkilerinden dolayı ortaya çıkmış olabilir. Bu durum daha ileri çalışmalar için yeni araştırma konuları oluşturmaktadır.

Sonuç olarak; ülkemizde geleneksel halk tıbbında ve baharat olarak kullanılan *T. spicata* ve *C. cuminum* uçucu yağlarının insan lenfosit kültüründe in-vitro olarak 4 farklı dozda (0.05, 0.10, 0.15, 0.20µl/ml) 24 saat muamele edilmesi ile;

- 1) *T. spicata* ve *C. cuminum* uçucu yağlarının MI düşürdüğü ve karabaş kekiğinin farklı konsantrasyonları ile MI arasında negatif korelasyon ($r = -0.99$) olduğu aynı şekilde kimyonun farklı konsantrasyonları ile MI arasında da negatif korelasyon ($r = -0.99$) olduğu,
- 2) Negatif kontrolde 6,14 olan mitotik indeksin karabaş kekiğinin en üst dozunda 4,88'e düştüğü aynı şekilde kimyonun en üst dozunda 5,21'e düştüğü dolayısıyla bu iki bitkinin uygulanan dozlarda hücre bölünmesini baskıladığı,
- 3) Bu iki bitkinin negatif kontrolle karşılaştırıldığında doza bağlı olarak kromozom aberasyonlarını arttırdığı;

saptanmıştır.

6. KAYNAKLAR

- [1] Baytop, T., “Therapy with Medicinal Plants in Turkey Past and Present”, 2nd edition, ISBN: 975-420-021-1 Nobel Tıp Kitabevi, İstanbul,1999.
- [2] Farnsworth, N.R., et al., The Bulletin of WHO., s63, s9865-s9871 (1985).
- [3] Başaran, A. A., 2012. “Ülkemizdeki bitkisel ilaçlar ve ürünlerde yasal durum”. Türk Eczacıları Birliği Yayını / Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi, Sayı: 27-28, 22-26.
- [4] Bayram, E., Kırıcı, S., Tansı, S., Yılmaz, G., Arabacı, O., Kızıl, S., Telci, İ., “Tıbbi Ve Aromatik Bitkiler Üretiminin Arttırılması Olanakları”. Türkiye Ziraat Mühendisliği VII. Teknik Kongresi Bildiriler Kitabı-I, 437–456, Ankara, Ocak 2010,
- [5] İlçim vd, 1998. “Bazı Bitki Ekstraktlarının Antimikrobiyal Etkilerinin Araştırılması”, Tr. J. of Biology, Sayı: 22, 119-125.
- [6] Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytaç, Z., Adıgüzel, N., “Türkiye Bitkileri Kırmızı Kitabı”, (Eğrelti ve Tohumlu Bitkiler), “Red Data Book Of Turkish Plants” (Pteridophyta And Spermatophyta), ISBN: 975-93611-0-8, Ankara, 2000.
- [7] Aydın, S., 2004. “Anadolu Diyagonali: Ekolojik Kesinti Tarihsel-Kültürel bir Farklılığa İşaret edebilir mi?”, Kebikeç İnsan Bilimleri İçin Kaynak Araştırmaları Dergisi, Sayı:17, 117-137.
- [8] Millard, L.G., “Contact sensitivity to toothpaste”, Br. Med. J., 1(5854), s.676, (1973).
- [9] Dooms-Goossens et al. “Turpentine-induced hypersensitivity to peppermint oil”, Contact Derm., s03, 304-308, (1977).
- [10] Williams, GM., “Methods for evaluating chemical genotoxicity”, Ann. Rev. Pharmacol. Toxicol., s29, 189-211, (1989).
- [11] F.M. Lewis et al. “Contact sensitivity to food additives can cause oral and perioral symptoms” Contact Derm., s33, 429- 430, (1995).
- [12] C.A. Morton et al. “Contact sensitivity to menthol and peppermint in patients with intra-oral symptoms”, Contact Derm., s32, 281-284, (1995).
- [13] M. Shah et al. “Contact allergy in patients with oral symptoms: A study of 47 patients” Am. J. Contact Derm., s07, 146-151, (1996).

- [14] Güley, M., Vural, N., “Toksikoloji Laboratuvar Kitabı”, ISBN: 975-482-289-1, Ankara Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 1975.
- [15] Kramer, P.J., “Genetic Toxicology”, J Pharm Pharmacol; s50, 395-405, (1998).
- [16] B. Jena et al. “Genotoxicity Testing, a Regulatory Requirement For drug Discovery and Development Impact of ICH Guidelines” Indian J. of Pharmacol., s34, 86-99, (2002).
- [17] C.D. Klaassen et al. “Casarett and Doull's Toxicology: The Basic Science of Poisons”, (6th ed.), New York, McGraw-Hill, (2001).
- [18] G. Uluçam vd. 2008. “Synthesis, Characterization of Some Transition Metal Complexes of a New Heptadentate N5S2 Schiff Base Ligand and the Effects of These Metal Complexes on U2OS Cells Cytotoxicity and DNA Cleavage Activity”, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, Sayı:183, 2237 – 2247.
- [19] Savage, J.R.K., “An introduction to chromosomal aberrations”, Atlas of Genet. Cytogenet. In Oncol. Haematol., 1999.
- [20] Tüylü, B.A., “Bazı ilaç öncül maddelerinin mutajenik etkilerinin bakteriyal ve hücre kültürü testleriyle araştırılması”, Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir, 2001.
- [21] G. Iliakis et al, “Mechanisms of DNA double strand break repair and chromosome aberration formation”, Cytogenet. Genome Res., s104, 14, (2004).
- [22] Çelik, A., Ateş, N.A., “The frequency of sister chromatid exchanges in cultured human lymphocyte treated with metronidazole in vitro”, Drug and Chemical toxicology, s29, 85 -94, (2006).
- [23] H. Norppa et al, “What Do Human Micronuclei Contain?”, Mutagenesis vol., s18, 221–233, (2003).
- [24] Tüzün, H., “Türkiye’de Tıbbi Bitkilerin Yetiştirme İmkanları ve Faydaları”, VI. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, 16-19 Mayıs 1986, Ankara.
- [25] Kıvanç, M., Akgül, A., 1988. “Escherchia coli’nin Değişik Sıcaklıklarda Çoğalması Üzerine Farklı Dozlardaki Karabaş Kekiğin (*Thymbra spicata* L.)

- Engelleyici Etkisi”, Doğa Türk Tarım ve Ormancılık Dergisi, Sayı:12.3, 248-252.
- [26] Tansı, S., “Karabaş Kekik (*Thymbra spicata* L.)’de Drog Verimi İle Ekolojik, Ontogenetik Ve Morfogenetik Varyabilitenin Araştırılması”, Doktora Tezi, Çukurova Üni., Fen Bilimleri Ens., Tarla Bitkileri Ana Bilim Dalı, 1991.
- [27] Baytop, A., “Farmasötik Botanik”, İstanbul Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Dilek Matbaası Yayınları, 3158, İstanbul, 1983.
- [28] Pamuk, A., “Şifalı Bitkiler Ansiklopedisi”, Pamuk Yayıncılık ve Matbaacılık, İstanbul, 1998.
- [29] Başaran, A., Başaran, N., Güneş, V. H., Solak, M., “Tıbbi biyoloji ve Genetik”, ISBN: 975-492-609-3, Açıköğretim Fakültesi Yayınları, No:481, 1997.
- [30] Klug, W.S., Cummings, M.R., Spencer, C.A., “Genetik Kavramlar” ISBN:978-605-5829-26-1 Palme Yayıncılık, Ankara, 2011.
- [31] Demirsoy, A., “Kalıtım ve Evrim”, ISBN.975-7746-01-0, Hacettepe Üniv. Fen Fak. Biyoloji Bölümü Zooloji Anabilim Dalı, , Ankara, 2005.
- [32] Akman, Y.,” Bitki Biyolojisine Giriş”, Palme Yayıncılık, Ankara, 1998.
- [33] Yakar, N.,” Sitoloji”, İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 1987.
- [34] Bozcuk, A. N., ” Genetik” Palme Yayıncılık, Ankara,2000.
- [35] Connor, J. M., Ferguson-Smith, M. A., “ Essential Medical Genetics”, Blackwell Scientific Publication, 1993. 4th ed.
- [36] Çavaş, T., “Endüstriyel Atıkların Genotoksik Etkilerinin Mikronukleus Testi ve Agnor Analiz Teknikleri Kullanılarak İn-situ ve Laboratuar Koşulları Altında Araştırılması”, Doktora Tezi, Mersin Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Mersin, 2004.
- [37] Vural, N., “Toksikoloji” , ISBN : 975 - 48 2 - 289- 1, Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara, 2005.
- [38] Young, R.R., “ Genetic toxicology: web resources”, Toxicology, s173, s103-s121, (2002).
- [39] Choy, W.N.,“Genetic toxicology and cancer risk assessment”, Marcel Dekker, INC., s390, New York, (2001).

- [40] Zeiger, E., “History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, view environmental and molecular mutagenesis”, s44, s363- s371, (2004).
- [41] Üstün, F., “Albendazol'ün Olası Genotoksisitesi Üzerine Askorbik Asitin Etkisi”, Doktora Tezi, İstanbul Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- [42] N. Beynek vd, “Synthesis, Characterization of Some Transition Metal Complexes of a New Heptadentate N5S2 Schiff Base Ligand and the Effects of These Metal Complexes on U2OS Cells Cytotoxicity and DNA Cleavage Activity”, Phosphorus, Sulfur, and Silicon and the Related Elements, s183, s2237 - s2247, (2008).
- [43] A.V. Eliana et al, “Genotoxicity of *Brosimum gaudichaudii* measured by the salmonella/microsome assay and chromosomal aberrations in CHO cells”, J. Ethnopharm, s81, s257-s264, (2002).
- [44] S.S. Murugan et al, “Antimutagenic effect of broccoli flower head by the ames salmonella reverse mutation assay”, Phytother. Res., s21(6), s545 -s547, (2007).
- [45] Russell, P.J., “Chromosomal mutations”, in: B. Cummings (Ed.), Genetics, Pearson Education Inc, San Francisco, s595–s621, (2002).
- [46] Pai, C.A., “Foundation of genetics: A science for society”, Kefford Pres, Singapur., 1985.
- [47] Russel, P. J., “Genetics”, The Benjamin- Cummings publishing company, Inc., Canada, USA, 1998.
- [48] Sezgin, İ., “Klinik Genetik”, Cumhuriyet Üniversitesi Yayınları No: 70, ISBN.975-7631-42-6, Sivas, 1998.
- [49] Erensayın, C., “Genetik”, Nobel Yayın Dağıtım Yayın No: 157, ISBN.975-591-135-9, Ankara, 2000.
- [50] Rooney, D.E., Czepulkowski, B.H., “Human Cytogenetics”, Second Edition, Oxford University Press, (1992).
- [51] Gardner, R. J. M. K., Sutherland, G. R., “Chromosome Abnormalities and Genetic Counseling”, Oxford University Press, 1996.
- [52] Başaran, N., “Tıbbi Genetik”, 7. Baskı, Güneş ve Nobel Tıp Kitabevi, (1999).

- [53] Deviren, A., "Genel genetik ", İ.Ü. Rektörlük Yayın No:4344, Cerrahpaşa Tıp Fak. Yayın No: 243, ISBN.975-404-656-5, İstanbul, 2002.
- [54] Temizkan, G. O., 1994, "Genetik", İstanbul Üniversitesi Yayınları, sayı: 3805, 229.
- [55] Bedir, A., 2004, "DNA Hasarı Analizinde μ -FADU ve COMET Yöntemlerinin Karşılaştırılması", Türk Klinik Biyokimya Dergisi, Sayı:2(3), 97-103.
- [56] Cunny, H., Hodgson, E., "A Textbook of Modern Toxicology", John Wiley & Sons, Inc., USA, 2004.
- [57] Tanker, M., Tanker, N., "Farmakognozi", Cilt II, Reman Matbaası, İstanbul, 1976.
- [58] Ceylan, A., 1987. "Tıbbi Bitkiler II (Uçucu Yağ İçerenler)", Ege Üniversitesi Yay., Sayı: 481, 188.
- [59] Kutlular, Ö., " Bazı Adaçayı ve Kekik Türlerinin Uçucu Yağlarının Süper Isıtılmış Su ile Ekstraksiyonları ve GC-MS ile Karakterizasyonları", Yüksek Lisans Tezi, Pamukkale Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- [60] Akgül, A., 1993. "Baharat Bilimi ve Teknolojisi" Gıda Teknolojisi Derneği Yayınları, Sayı:15, 101-104.
- [61] Hill, A.F., "Economic Botany: A Textbook of Useful Plants Products", 2nd Ed., Mc Graw Hill Book Company, New York, 1952.
- [62] K.H.C. Başer vd, 2012, "Türkiye'de yetiştirilen bazı okaliptüs (eucalyptus) türlerinin uçucu yağ verim ve bileşimlerinin ve üretim teknolojilerinin belirlenmesi" Orman Bakanlığı Yayın No:084, Bülten No: 7, Orman Bakanlığı Doğu Akdeniz Ormancılık Araştırma Enstitüsü, 16.
- [63] Kılıç, A., 2008, "Uçucu Yağ Elde Etme Yöntemleri", Bartın Orman Fakültesi Dergisi, Cilt:10 Sayı:13, 2.
- [64] Rasooli, I., and Mırmostafa, S.A., "Bacterial Susceptibility to and Chemical Composition of Essential Oils from *Tymus kotschyanus* and *Tymus persicus*. Journal of Agricultural and Food Chemistry", s51, s2200-s2205, (2003).
- [65] Altundağ, Ş., Aslım, B., 2005, "Kekiğin Bazı Bitki Patojeni Bakteriler Üzerine Antimikrobiyal Etkisi", Orlab On-Line Mikrobiyoloji Dergisi, www.mikrobiyoloji.org/pdf/702050702.pdf, Cilt:03 Sayı:07, 11.

- [66] Aydın, S., “Türkiye de satılan kekik türleri ve suları üzerine genotoksik araştırmalar”, Bilim Uzmanlığı Tezi, Hacettepe üniversitesi , Ankara, 2003.
- [67] Gürsoy, O.V., Gürsoy, U.K., 2004, “ Anadolu da ve dişeti ile ilgili hastalıkların tedavisinde halk arasında yaygın olarak kullanılan bitkiler, kullanım şekilleri ve bitkisel özellikleri”, Cumhuriyet Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Dergisi, Sayı:7(1), 64-67.
- [68] Zeybek, N., Zeybek, V., “Kapalı Tohumlu Bitkiler Sistematığı”, Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, 2. Baskı, İzmir, 1994.
- [69] Arslan, N., “Kimyon Ziraatı”, Konferans, Konya, Mart 1984.
- [70] Peter, K.V., “Hanbook of herbs and spices”, ISBN: 0 8493-1217-5, Published in North and South America by CRC Press, USA, 2000.
- [71] H, Mohammadpour et al, “Chemical Composition and Antifungal Activity of Cuminum cyminum L. Essential Oil From Alborz Mountain Against Aspergillus species”, Jundishapur J Nat Pharm Prod., s7(2), s50-s55, 2012.
- [72] Ceylaner, B. G., “şizofrenili Olgularda Kardeş Kromatid Değişimlerinin (Sister Chromatid Exchange-SCE) Araştırılması”, Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Vol. Doktora Tezi, Cumhuriyet Üniversitesi, Sivas, 1997.
- [73] <http://www.solventsatisi.com/index.asp?PageID=32> (24.11.2013)
- [74] M.H. Frick et al, “Helsinki Heart Study: Primary-Prevention Trial with Gemfibrozil in Middle-Aged Men with Dyslipidemia” J. Med., s 317, s 1237-s1245, 1987.
- [75] S. Gül vd. “Chemical composition, and in vitro cytotoxic, genotoxic effects of essential oil from *Urtica dioica* L.”, J. B. Environ. Contam. Tox., s88(5), 666-671, (2012).
- [76] S. Gül vd. “Cytotoxic and genotoxic effects of sodium hypochlorite on human peripheral lymphocytes in vitro”, J. Cytotechnology, s59(2), 113-119, (2009).
- [77] C, Paz-Y-Mino et al “Cytogenetic monitoring in a population occupationally exposed to pesticides in ecuador”, J. Environ. Health Perspective. s110, 1077-1080, (2002).
- [78] M. Çelik vd. “Effects of *Thymus kotschyanus* var. *Glabrescens* Boiss. extract on mitomycin-C induced chromosomal aberrations and sister chromatid exchanges in human lymphocytes”, Cytotechnology, s51: s99-s104, (2006).M.

- Ishidate et al, "Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan", *Food and Chemical Toxicology*, s22, s 623–s636, (1984).
- [79] Y. H. Siddique et al, "Antigenotoxic role of *Centella asiatica* L. extract against cyproterone acetate induced genotoxic damage in cultured human lymphocytes", *Toxicology in vitro*, s22, s10-s17, (2008).
- [80] S. Çelikler vd, "Evaluation of anti-oxidative, genotoxic and antigenotoxic potency of *Codium tomentosum* Stackhouse ethanolic extract in human lymphocytes in vitro", *Food and Chemical Toxicolog* , s47, s796-s801, (2009).
- [81] S. Çelikler vd, "In vitro Antigenotoxicity of *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyceae) Extract against Induction of Chromosome Aberration, Sister Chromatid Exchange and Micronuclei by Mutagenic Agent MMC¹", *Biomedical and Environmental Sciences*, s21, s492-s498, (2008).
- [82] M. Ishidate et al, "Primary mutagenicity screening of food additives currently used in Japan", *Food and Chemical Toxicology*, s22, s623-s636, (1984).
- [83] Aras, Ş., "Origanum Onites (kekik)'in Metanol Ekstraktının İnsan Lenfosit Kromozamları Üzerine İn-Vitro Klastojenik Etkisinin ve Hücre Bölünme İndexine Etkilerinin Araştırılması" Yüksek Lisans Tezi, Kafkas Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [84] Şarer, E., "Uçucu Yağların Biyolojik Etkileri ve Tedavide Kullanımları", 9. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı, Bildiriler Kitapçığı, Eskişehir, 1991.
- [85] Leal-Cardoso, J.H., Fonteles, M.C., "Pharmacological Effects of Essential Oils of Plants of the Northeast of Brazil", *An Acad. Bras. Cienc.*, s71(2), s 207-s213, (1999).
- [86] R. J. Albertini et al, "IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety", *Mutat. Res.*, s463, s72-s111, (2000).
- [87] S. A. Jordan et al, "Assessment of herbal medicinal products: Challenges, and opportunities to increase the knowledge base for safety assessment", *Toxicology and Applied Pharmacology*, s243, s198-s216, (2010).
- [88] D. H. Phillips et al, "³²P-post-labelling analysis of DNA adducts formed in the livers of animals treated with safrole, estragole and naturally-occurring

- alkenylbenzenes. II. Newborn male B6C3F1 mice”, *Carcinogenesis*, s5(12), s1623-s8, (1984).
- [89] Yıldız, A. M., “Endemik Bir Tür Olan *Stachys petrokosmos* Bitki Ekstraktının Metabolik Aktivatör Varlığında ve Yokluğunda İnsan Lenfositlerinde Genotoksik ve Anti-genotoksik Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [90] J. R. Lazutka et al, “Genotoxicity of Dill (*Anethum graveolens* L.), Peppermint (*Mentha piperita* L.) and Pine (*Pinus sylvestris* L.) Essential Oils in Human Lymphocytes and *Drosophila melanogaster*”, *Food Chemical Toxicology*, s39, s485-s92, (2001).
- [91] Kopar, N., “*Salvia fruticosa* Bitki Ekstraktının Metabolik Aktivatör Varlığında ve Yokluğunda İnsan Lenfositlerinde Genotoksik ve Anti-genotoksik Etkisi”, Yüksek Lisans Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2010.
- [92] B. Gadano et al, “Argentine folk medicine: Genotoxic effects of *Chenopodiaceae* family”, *Journal of Ethnopharmacology*, s103(2), s246-s251, (2006).
- [93] A. Kayraldız vd, “The genotoxic and antigenotoxic effects of *Aloe vera* leaf extract in vivo and in vitro”, *Turk J. Biol.*, s34, s235-s246, (2010).
- [94] E. İpek vd, “Effects of carvacrol on sister chromatid exchanges in human lymphocyte cultures”, *Cytotechnology*, s43(13), s145-s148, (2003).
- [95] Azırak, S., “Thymol ve Carvacrol’un İn Vivo Genotoksik Etkilerinin Araştırılması” Doktora Tezi, Çukurova Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, 2007.
- [96] H. J. Dorman et al, “Antioxidant properties of aqueous extracts from selected *lamiaceae* species grown in Turkey”, *J. Agric. Food. Chem.*, s52(4), 762-770, (2004).
- [97] Stamatii et al, “Toxicity of selected plant volatiles in microbial and mammalian short-term assays”, *Food Chem Toxicol.*, s37(8), 813-23, (1999).
- [98] Azizan, A., and Blevins, R.D., “Mutagenicity and antimutagenicity testing of six chemicals associated with the pungent properties of specific spices as revealed by the Ames Salmonella/microsomal assay” *Arch. Environ. Contam. Toxicol.*, s28(2), 248-58, (1995).

- [99] S. Aydın vd, "The effects of thyme volatiles on the induction of DNA damage by the heterocyclic amine IQ and mitomycin C", *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, s581(1-2), 43-53, (2005).
- [100] B.A. Al-Bataina et al, "Element analysis and biological studies on ten oriental spices using XRF and Ames test", *J. Trace Elem, Med. Biol.*, s17(2), 85-90, (2003).

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Yağmur YILDIZ

Doğum Yeri : SAMSUN

Doğum Tarihi : 29.10.1988

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Samsun Namık Kemal Lisesi - 2005

Lisans : Kafkas Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü - 2012

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji AD.(Moleküler Biyoloji) - 2014