

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

***Origanum onites* (KEKİK)'İN METANOL EKTRAKTİNİN İNSAN
LENFOSİT KROMOZAMLARI ÜZERİNE *İN-VİTRO* KLASTOJENİK
ETKİSİNİN VE HÜCRE BÖLÜNME İNDEKSİNE ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Şeyyal ARAS
YÜKSEK LİSANS TEZİ

Danışman
Doç. Dr. Süleyman GÜL

2010
KARS

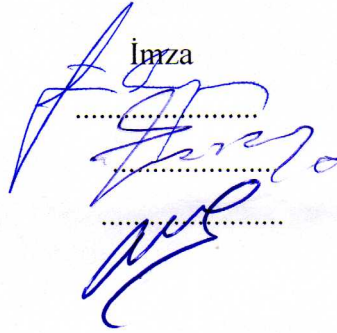
T.C. Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Şeyyal Aras'ın Doç.Dr. Süleyman Gül'ün danışmanlığında yüksek lisans tezi olarak hazırladığı "O.ONİTES (KEKİK) İN METANOL EKTRAKTİNİN İNSAN LENFOSİT KROMOZOMLARI ÜZERİNE İN-VİTRO KLOSTOJENİK ETKİSİNİN VE HÜCRE BÖLÜNME İNTEKİNE ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI" adlı bu çalışma, yapılan tez savunması sınavı sonunda jüri tarafından Lisansüstü Eğitim Yönetmeliği uyarınca değerlendirilerek oy.....birliği.....ile kabul edilmiştir.

30/06/2010

10

	Adı Soyadı
Başkan	: Doç. Dr. Süleyman Gül
Üye	: Doç. Dr. Hasan Oral
Üye	: Yrd.Doç. Dr. Hüseyin Gey

İmza



Bu tezin kabulü, Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulunun/....../2010 gün ve/..... sayılı kararı ile onaylanmıştır.

Prof. Dr. Abdullah Doğan
Enstitü Müdürü

ÖNSÖZ

Bu çalışma Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim dalında yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Çalışmada *Origanum onites* (kekik) in metanol ekstraktının insan lenfosit kromozomları üzerine in-vitro klastojenik etkilerinin ve hücre bölünme idexine etkileri incelenmiştir.

Bu çalışmanın tez konusu seçiminde ve yürütülmesinde, bana gerekli laboratuvar olanakları sunan, yol gösteren, bilgi ve yardımlarını benden esirgemeyen sayın hocam, Doç. Dr. Süleyman GÜL'e ve benden manevi desteğini esirgemeyen babam Atayıl ARAS'a teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	<u>Sayfa no</u>
ÖZET	iii
ABSTRACT	iv
ŞİMGELER VE KISALTMALAR	v
ÇİZELGELER LİSTESİ	vi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	vii
RESİMLERİN LİSTESİ	
1.GİRİŞ	1
2.GENEL BİLGİLER	4
2.1. Origanium onites	4
2.1.2 Origanium onites in yaygın kullanım alanları	5
2.2. Kromozomlar	
2.2.1. Kromozomların morfolojik özellikleri	6
2.2.2. Sentromer	7
2.2.3. Primer boğum	
8	
2.2.4. Sekonder boğum	8
2.2.5. Telomer	8
2.2.6. Satallit	8
2.3. Mutasyonlar	9
2.3.1.Gen mutasyonları	9
2.3.2.Kromozom mutasyonları	9
2.3.3.Genom mutasyonları	11
3. GEREÇ ve YÖNTEM	13
3.1. Gereçler	13
3.1.1.Demirbaş malzemeler	13
3.1.2. Sarf malzemeler	13
3.1.3. Kullanılan kimyasal maddelerin eriyiklerinin hazırlanması	14
3.2. Yöntem	16
3.2.1. Çalışma grubu	16
3.2.2. Kan örneklerinin alınması	16
3.2.3. Kültür tekniği	16
3.2.4.mikroskobik inceleme	18

4. BULGULAR	19
5.TARTIŞMA	25
6.KAYNAKLAR	
7.ÖZ GEÇMİŞ	47

ÖZET

Origanum genusu, Türkiye de halk arasında tedavi amaçlı olarak sıklıkla kullanılan bitkilerden birisidir. *Origanum* genusu Türkiye de 22 tür ve 32 taxa ile temsil edilmektedir ve bunların 21 türü endemiktir. *Origanum onites*, *Origanumların* Türkiye de en çok ticari olan türüdür. İnsan periferik kan lenfosit hücreleri 1,2,3,4 µg/ml konsantrasyonunda *O. onites*' in metanol ekstraktı ile 24 ve 48 saat etkileşime sokulmuştur. *O. onites*' in 1,2,3,4 µg/ml konsantrasyonları negatif kontrol ve pozitif kontrol olarak kullanılan Mitomisin-C ile karşılaştırıldığında 24 ve 48 saatte, kromozomal aberasyon sıklığında önemli derecede bir artış olmadığı gözlemlenmiştir. Mitomisin-C denemesi aberant hücrelerin sıklığında artışa neden olmuştur. Kromozom ve kromotid kırıkları, kardeş kromotid birleşimi ve kromotid değişimi bütün konsantrasyon denemelerinde saptanamamıştır. *O. onites* 1,2,3,4 µg/ml dozlarında hücre bölünme indeksini düşürmemiştir.

Anahtar kelimeler: Kekik, Mitomisin C (MMC), Lenfosit kültürü, Kromozom kırıkları, Mitotik indeks.

ABSTRACT

Ethnomedically the genus *Origanum* (=kekik) is one of the most commonly used herbal in Turkey. The genus *Origanum* L. is represented in Turkey by 22 species or 32 taxa, 21 being endemic. *Origanum onites* is the most widely traded *origanum* species in Turkey. Human peripheral blood lymphocyte cells were treated with 1,2,3,4 µg/ml concentrations of methanol extracts of *O. onites* for 24 and 48 h. A significant increase in chromosomal aberration frequency was not observed in all treatments of *O. onites* (1,2,3,4 µg/ml) at 24 and 48 h compared with the negative control and mitomycin C (MMC, 0.3 µg/ml), which was used as a positive control. The mitomycin treatment caused a significant increase in the frequency of aberrant cells. Chromatid and chromosome breaks, sister chromatid union and chromatid exchange were not observed in all treatment concentrations. *O. onites* at the dose at 1,2,3,4 µg/ml not reduced the cell division index

Key words: *Origanum onites*, *Mitomycin C (MMC)*, *Lymphocyte cultures*, *Chromosome aberrations*, *Mitotic index*

SİMGELER VE KISALTMALAR

Kısaltmalar

- BN : Binükleer, iki çekirdekli
CYT-B : Cytochalsin-B
DNA : Deoksiribonükleik asit
FISH : Flora İn situ hibridizasyon
ISH : İn situ hibridizasyon
NCBİ : Nükleer sitotoksik bölünme indeksi
MMC : Mitomisin C
MN : Mikronükleus
KKD : Kardeş kromozomlarda kromatid değişimi

ÇİZELGELER LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Tablo 2.1. <i>O.onites</i> in kullanım ve Yerel İsimler	5
Tablo 4.1. <i>O. onites</i> tarafından insan periferal lenfosit kromozomlarında ortaya çıkarılan yapısal ve sayısal bozukluklar	21

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

	<u>Sayfa no</u>
Şekil 2.2. Kromozomların yapısı,	7
Şekil 2.3. . Sentromerin yerine göre kromozom tipleri,	8

RESİMLERİN LİSTESİ

Sayfa no

Resim 4.1.a. Normal bir bayana ait kromozomlar	19
Resim 4.1.b. Normal bir bayana ait kromozomlar	20
Resim 4.2. Mitomisin-c nin insan kromozomlarına etkisi	22
Resim 4.3. 4 µg /ml'lik dozda kromozomlarda gözlenen belirgin kırıklar	23
Resim 4.4.O.onites in bazı dozlarında görülen poliploid yapılara örnek	24

1. GİRİŞ

Farklılıklar ve zenginliklerle dolu olan bitkiler dünyası, insanoğlunun her anlamda yaşamının bir parçası olmuştur, bitkilerden her yönüyle faydalanmayı bilen insanlık, bitkilerin tedavi edici yönünü de keşfetmiştir. Bitkilerin bu yönünün insanlık tarafından keşfi ile birlikte, bitkiler birçok ilaçta kullanımının yanı sıra; daha çok geleneksel doğal bitkileri kullanarak elde edilen ilaçlarla tedavi etmeyi amaçlayan alternatif (tamamlayıcı) tıp teriminin doğmasına kadar gitmiştir.

Bitkilerin tedavi amaçlı kullanılmaları oldukça eski tarihlere dayanır. Tüm Dünya ülkelerinde olduğu gibi ülkemizde de tıbbi açıdan önemli olan bitkiler yüzyıllardan beri halk arasında kullanılmıştır. Dünya Sağlık Örgütü (WHO)'nün 91 ülkenin farmokopelerinde (kodeks) ve tıbbi bitkileri üzerinde yapılmış olan bazı yayınlara dayanarak bir araştırma yapmıştır. Bu araştırmaya göre tedavi amaçlı kullanılan tıbbi bitkilerin toplam miktarının ortalama 20.000 civarında olduğunu saptanmıştır. Bunların ancak 500 kadarının tarımsal üretiminin yapıldığı kaydedilmiştir. Ayrıca değişik amaçla kullanılan bitkilerin çok azı farmokopelerde kayıtlıdır. Örneğin; Türk kodeksinde kayıtlı bulunan bitki sayısı 140 civarındadır. Halbuki; diğer ülkelerde olduğu gibi Türkiye de tıbbi amaçla tüketilen bitki sayısı oldukça fazladır. Hatta bazı yayınlarda bunun en az 500 civarında olduğu kaydedilmektedir [1].

Günümüzde reçeteye satılan ilaçların % 25'ini bitkiler ve bitkisel ilaç hammaddeleri, oluşturmaktadır. [2]. Son yıllarda artan hastalıklara karşı sentetik yapıda olan ilaçların yetersiz kalması ve yan etkilerinin tespit edilmesi doğal ürünlere yönelme zorunluluğunu daha da arttırmıştır. Bu amaçla birçok bitki mikrobiyolojik farmakolojik yönlerden hatta biyolojik savaşın gündemde olduğu son yıllarda bitki savunma mekanizması bakımından da çok yönlü olarak araştırılmaktadır. Bitkilerin mikroorganizmaları öldürücü ve insan sağlığı için önemli özellikleri 1926 yılından beri laboratuvarlarda araştırılmaya başlanmıştır [3].

Son yıllarda tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin antimikrobiyal etkileri üzerine pek çok araştırma ve çalışma yapılmıştır. [4].

Bilimsel alanda bitkiler üzerine yapılan çalışmalar insanların bitkilere olan güvenini daha çok artırmış, buna paralel olarak artan rağbetle birlikte kullanım alanları da gelişmiş ve yaygınlaşmıştır.

Ancak bazı şifalı olarak bilinen bitkilerin yan etkilere neden olduğu hususu göz ardı edilmektedir. Bu yan etkiler ciddi hasarlara neden olabilir hatta ölümlerle sonuçlanabilir. Örneğin; Qu ve ark. (1992), Çin’de kadınlarda rastlanan akciğer kanseriyle ilgili olarak yapmış oldukları çalışmalarda, akciğer kanserinin sigaradan başka nedenlerle ilgili olduğu ve özellikle pişme sırasında çıkan yağların hava yoluyla alınmasının kirliliğe yol açtığı üzerinde durmuşlardır. Çin küçük şalgamından pişme sırasında çıkan yağlar, yoğunlaştırılmış ve kısa süreli testlerde; Salmonella mutasyon testlerinde, SV50 ileri mutasyon denemelerinde ve kemik iliğinde KK (kardeş kromatid) değişimi ve mikronükleus oluşum denemelerinde kullanılmıştır. Bunun sonucunda genotoksik etkilerin olduğu gözlemlenmiştir. [5]. Bunun tersine Çin küçük şalgamından elde edilen yağ, bütil, hidroksanol veya hidrojenlendiği zaman mutajenik olmadığı, oksidasyon ürünlerinin mutajeniteye neden olduğu üzerinde durulmuştur. Sonuçta; Çin küçük şalgamından elde edilen uçucu yağların ve bunların yoğunlaştırılması ile elde edilen komponentlerin akciğer kanserine neden olduğu ileri sürülmüştür.

Başka bir çalışmada ise; Shields ve ark. (1995), Dünya genelinde Çinli kadınlarda akciğer kanserinin fazla olması nedeniyle rafine edilmemiş Çin küçük şalgamını, rafine edilmiş ABD küçük şalgamı, linolenik, linoleik ve erusik yağ asitlerinin eklenmesiyle Salmonella (*Salmonella typhimurium* TA98 ve TA104) mutasyon testlerinde denemişlerdir. Denemeler ve epidemiyolojik bulgular sonucunda, yüksek sıcaklıkta rafine edilmemiş Çin küçük şalgamının akciğer kanser riskini artırdığı ileri sürülmüştür. [6].Yine başka bir örnekte Chiang ve ark. (1997), yapmış oldukları epidemiyolojik çalışmalarla, pişerken açığa çıkan gazların kadınlarda akciğer kanserini artırdığını ileri sürmüşlerdir. Taiwan’da sık olarak kullanılan ticari yağların, mutajenik etkisini Salmonella/mikrozom testleriyle ortaya koymuşlardır. Yapılan çalışmada soya fasulyesi ve domuz yağları kullanılmıştır. Sonuç olarak pişme sırasında bu yağlara maruz kalan kadınlarda akciğer kanseri riskinin arttığı saptanmıştır [7,8].

Sebile AZIRAK 2007 yılında yaptığı doktora tez çalışmasında *Thymbra spicata* (zahter) 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 sitotik etki gösterdikleri sonucuna varmıştır. [8].

Antimikrobiyel etkili bitkisel uçucu yağların, gıda katkı maddesi olarak önerilmelerinden önce, olası zararlı biyolojik etkileri iyi araştırılmalıdır. Kekik bitkisinin antimikrobiyel etkinliği, çok sayıda araştırma ile ortaya konmuştur. Ancak bu önemli gıda katkıları için genotoksik bilgilere ilişkin kaynaklar yetersizdir (1,2,4).

Bu çalışmanın amacı oldukça yaygın kullanım alanı olan *Origanum onites* (kekik) in metanol ekstraktının insan lenfosit kromozomları üzerine in-vitro klastojenik etkilerinin ve hücre bölünme idexine etkilerinin araştırılmasıdır.

2.GENEL BİLGİLER

2.1.1 *Origanum onites* (Kekik) hakkında kısa bilgi:

Origanium cinsi dünyada 41 tür 52 takson, Türkiye’de ise; 23 tür 32 taksonla, temsil edilir. *Origanium* türleri ticari açıdan öneme arz eden bu nedenle, büyük miktarda ihraç edilen bir bitkidir. 2000 yılında yapılan dış ticaret istatistiklerine göre; doğada toplanarak ihraç edilen kekik miktarı yaklaşık 7000 ton civarındadır. [9].

O. onites Türkiye’de ticareti yapılan beş tür içinde en çok ihraç edilen türdür. Ülkemizde Ege ve Akdeniz bölgelerinde doğal olarak yetişir. Halk arasında “bilyalı kekik, taş kekik, paynir kekiği, İzmir kekiği “ gibi yöresel adlarla anılan *O. onites*, doğal floramızın bir ürünü olmasının yanında, kültür bitkisi olarak yetiştirilen tek ticari *origanium* türüdür. Oldukça yaygın kullanımı olan ve ekonomik açıdan önem arz eden bu bitki, halk arasında genellikle yemeklerde baharat olarak, kozmetikte, alkollü ve alkolsüz içeceklerde ve çeşitli şekillerde hastalıkların tedavisi için kullanılmaktadır. Toprak üstü kısımları midevi olarak, soğuk algınlığında, baş ağrısında kullanılmaktadır. Uçucu yağı ile yapılan çalışmalarda analjezik etkisi saptanmıştır. Yüksek miktar da fenol içermesinden dolayı antibakteriyal, antispazmodik ve antiseptik etkilerinin olduğu bilinir. [10-11].

2.1.1-*Origanium onites*’in yaygın kullanım alanları

- baharat olarak
- Tıp ve eczacılıkta
- süs bitkisi olarak
- gıdaların saklanması
- arı hastalık zararlarına karşı
- böcek öldürücü olarak
- yabancı ot mücadelesinde
- Nematotların kontrolünde kullanılmaktadır. [12].

Bitki Adı	Yerel İsimleri	Kullanılan Kısım ve Kullanılış Şekli	Kullanımı
<i>O. onites</i>	İzmir Kekığı	Herba-infüzyon	
	Bilyalı Kekik	Uçucu Yağ	Analjezik Antioksidan Antifungal
	Taş Kekığı	Yaprak –İnfüzyon, Gargara	Diş Eti Nevraljisi Baş Ağrısı
	Peynir Kekığı	Aromatik Su- dahilen,gargara	Mide ağrıları, Diş ağrıları

Tablo 2.1. *O.onites* in kullanım ve Yerel İsimler [13].

Kekik bitkisi, pek çok faktörün etkisi altında değişmekle birlikte, ortalama olarak % 1 ile % 7 arasında uçucu yağ içermektedir. Kekikteki uçucu yağın oranı bitkinin çeşidine, yetiştiği bölgeye, toplama mevsimine, olgunluk evresine (çiçeklenme başı ortası veya sonu), yağ çıkarmada kullanılan tekniğe ve süresine göre değişmektedir. Genellikle kekik uçucu yağı, 3 veya 4 saatlik sulu distilasyon (damıtma, imbiikten geçirme) sonrası elde edilir. Ülkemizde yetişmekte olan 18 kekik (*Origanum*) türünden sulu distilasyon yöntemiyle elde edilen 86 uçucu yağ örneğinde, miktarı % 3'ten fazla olan yaklaşık 28 ayrı ana bileşiğin olduğu saptanmıştır. Bunlardan en önemli olanları; karvakrol, p-simen, g-terpinen, linalool, karyofilen, timol, borneol, karyofilen, mirsen, 1:8 sineol, sabinen, kamfen, germakren, geraniol, bourbonen, spatulenol, bisabolen, osimen, metil karvakrol, linalil asetat, kadinol gibi etkil kimyasal bileşiklerdir. [14].

2.2 Kromozomlar

Tarih öncesi çağlardan beri bitki ve hayvanlar canlıların özelliklerinin kalıtsal olduğunun bilinci ile, ıslah edilmiştir. Bununla beraber, kalıtsal aktarımın mekanizmalarını anlamaya çalışan modern genetik bilimi ancak 19. yüzyıl ortalarında, Gregor Mendel'in çalışmasıyla başlamıştır. Gregor Mendel, kalıtımın fiziksel temelini bilemediyse de, bu özelliklerin ayrık (kesikli) bir tarzda aktarıldığını gözlemlemiştir; günümüzde bu kalıtım birimlerine “gen” adı verilmektedir. [15].

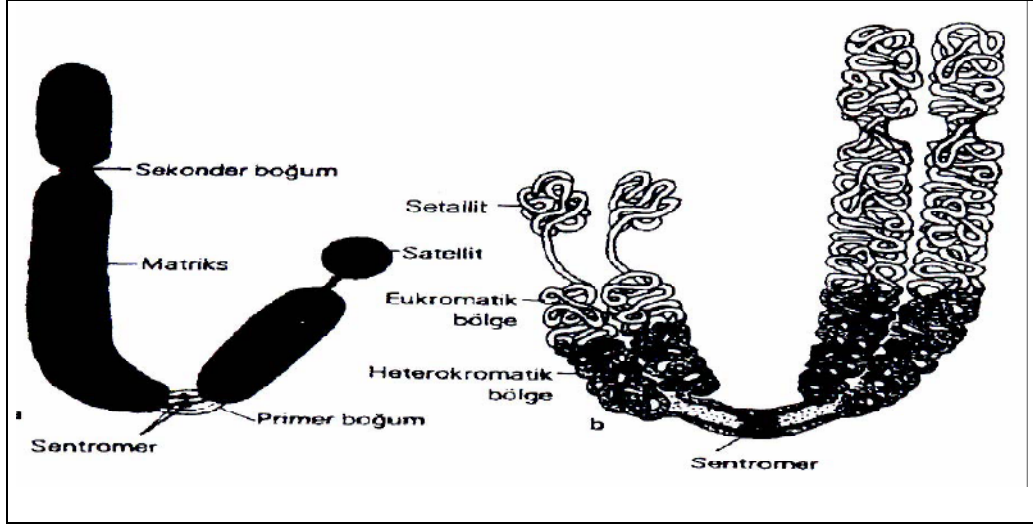
Genetik materyal dendiğinde ise; akla ilk olarak kromozomlar gelmektedir.

Sitogenetik, sitoloji (hücre bilimi) “Chromosome” adı verilen hücre organellerinin işlev ve morfolojilerini inceleyen ve genetik bilimlerinin birleşmesiyle ortaya çıkmıştır. Bu birleşme, özellikle Mendel ilkelerinin 20. yüzyılın başlarında yeniden keşfedilmesine ve kalıtımın kromozomal temelini anlaşılmaya sebep olmuştur. [16].

Kromozom spesifik boyanma özelliğinin olmasından dolayı Yunanca chromos (boya) ile soma (kütle) terimlerinin bir araya gelmesiyle oluşmuş ve ilk olarak da Waldayer tarafından kullanılmıştır. İnsan kromozomlarına ilişkin yapılan ilk çalışmalarda mayotik hücreler incelenmiş ve insan kromozom sayısının 48 olduğu saptanmıştır. 1956 yılında Tijo ve Levan insan fetusu akciğer fibroblastlarında yapmış oldukları çalışmalarında, insan kromozom sayısının 46 ve cinsiyet kuruluşunda xx (kadın) ve xy (erkek) biçiminde olduğunu kesin olarak belirlemişlerdir. İnsanda 46 kromozom bulunmakta ve bunların 44 tanesi otozomal ve geriye kalan iki tanesi de gonozomal kromozomlardır. [16].

2.2.1 Kromozomların morfolojik özellikleri

Kromozomların en iyi gözlemlendiği ve incelendiği evre, hücre bölünmesinin metafaz evresidir. Hücre bölünmesinin metafaz evresinde silindirik şekliyle görülen kromozomlar, en kısa ve en kalın hallerinde olurlar ve bu evrede tipik şekillerini gösterirler. Bu safhada görülen bir kromozomda genel olarak sentromer, primer boğum, sekonder boğum, telomer ve satellit kısımları kolaylıkla ayırt edilebilir (Şekil 2.2). [17-18].

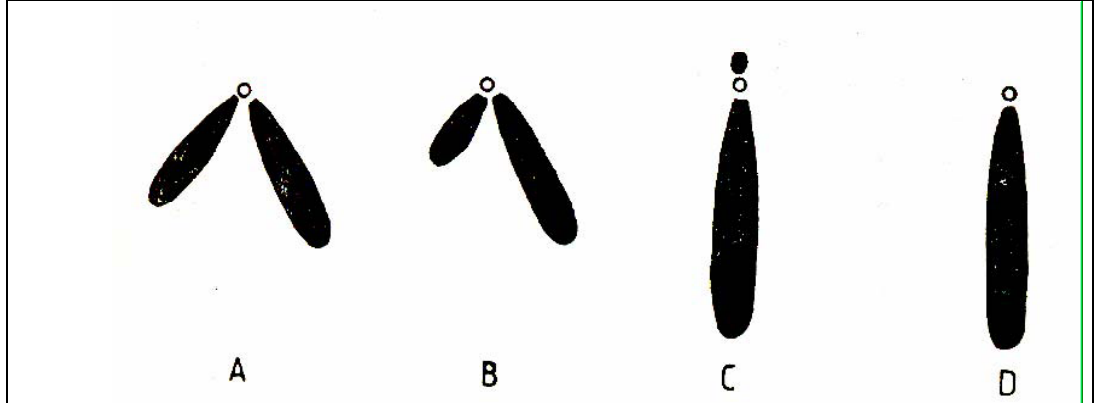


Şekil 2.2. Kromozomların yapısı, a) Dıştan görünüşü, b) İçten görünüşü [18].

Sentromer: Primer boğumda yer alan ve kinetokor adı verilen küçük bir granül içeren parlak açık bölgeye sentromer denilmektedir. Sentromerler kromozomların iğ ipliklerine bağlanmasında ve kutuplara çekilmesinde görev alırlar. Sentromeri bulunmayan kromozomlar ise; hücre bölünmesine katılamazlar ve yok olurlar [19].

Kromozomlar sentromerlerinin bulunduğu yere göre 4 farklı şekilde görünerek isimlendirilirler. (Şekil 2.3):

- a) Sentromeri ortada olan ve iki kolu da birbirine eşit uzunlukta olan kromozomlara **metasentrik** kromozomlar denir. Hücre bölünmesinin metafaz evresinde V harfi şekliyle görünürler.
- b) Sentromeri bir uca daha yakın olan ve bu nedenle de, her iki kolunun uzunluğu birbirine eşit olmayan kromozomlara **submetasentrik** kromozomlar denilmektedir. Hücre bölünmesinin metafaz evresinde L harfi şeklinde görünürler.
- c) Sentromeri bir uca oldukça yakın olan ve kollarından biri diğerinden çok küçük olan kromozomlara **akrosentrik** kromozomlar denilmektedir. .
- d) Sentromerleri uçta bulunan ve çubuksu bir yapı gösteren kromozomlara **telosentrik** kromozomlar denilir [17-21].



Şekil 2.3. Sentromerin yerine göre kromozom tipleri, a) Metasentrik, b) submetasentrik, c) Akrosentrik, d) Telosentrik [20].

Primer Boğum: Kromozomlarda sentromerin bulunduğu daralma bölgesine **primer boğum** (birinci boğum) denilmektedir. Primer boğum; kromozom kollarının açılması ile sekonder boğumlardan ayrılır [18-21].

Sekonder Boğum: Bazı kromozomlarda primer boğumun dışında ikinci bir boğum daha bulunmaktadır ki bu bölgeye de **sekonder boğum** adı verilir. Sekonder boğumlar, r-RNA'ların ve çekirdekçiklerin oluşumu ile ilgili bir durumdur. Bundan dolayı sekonder boğumlara **nukleoler** bölge adı da verilmektedir. Genellikle her hücrede sekonder boğum taşıyan en fazla iki kromozom bulunur. Bu kromozomlara da **nukleoler kromozomlar** adı verilmektedir. [22].

Telomer: Kromozom kollarının uc kısmına telomer adı verilir. Telomerlerin en önemli işlevi; diğer kromozomlar ile etkileştiğinde kromozom uçlarının bozulmadan kalmasını sağlamaktır. Çeşitli kimyasal maddeler, X-ışınları veya ultraviyole ışınlarının etkisiyle kromozomlarda kopmalar oluşur. Bu kopan parçalar koptukları yere veya başka bir kromozomun kopmuş kısmına yapışabilirler ancak hiçbir şekilde bir kromozomun telomer kısmına yapışamazlar. Bu durum telomerlerin bir polariteye (kutuplaşma) sahip oluşundan ve bu nedenle kopan parçaların kendisine yapışmasını engellemesinden kaynaklanmaktadır [17-21].

Satellit: Bazı kromozomlarda, bir uca yer alan ince bir filament ile kromozoma bağlanmış yuvarlak veya silindirik biçiminde bir yapı bulunmaktadır. Bu yapıya **satellit** adı verilir. Satellitin çapı kromozomun çapına eşittir. Satellit bulduran kromozomlara

SAT-kromozom adı verilmektedir Satallitin görevi belli olmamakla birlikte DNA'dan yapılmış olduğu ve 10 kadar baz çifti taşıdığı anlaşılmıştır [17-21].

2.3 Mutasyonlar

Kalıtsal materyalin miktarında, organizasyonunda veya içeriğinde meydana gelen bütün değişikliklere mutasyon adı verilir. Bir başka ifade ile mutasyon; kromozomlarda veya genlerde meydana gelen değişimler olarak da adlandırılabilir. [23-24].

Mutasyonlar genel olarak üç grupta toplanabilir:

- Gen mutasyonları,
- Kromozom mutasyonları
- Genom mutasyonları.

2.3.1 Gen Mutasyonları

DNA molekülünde gen düzeyinde ortaya çıkan değişikliklere gen mutasyonu denir. DNA'da gözlenen mutasyonlar genel olarak dört gruba ayrılır [24].

- Uzunluk mutasyonları:** Genetik materyalde artma veya eksilmeler sonucu meydana gelen mutasyon şeklidir.
- Nokta mutasyonları:** Bir gende tek bir nükleotidin değişmesi ile oluşan mutasyonlardır. Nokta mutasyonları DNA seviyesinde veya protein seviyesinde kodonlar üzerinde etkili olabilir.
- Tersine mutasyonlar:** Mutant fenotiplerden yabanıl fenotipleri oluşturan mutasyonlara geri mutasyonlar denir. Yabanıl tiplerden anormal fenotipleri (mutant) oluşturan mutasyonlara ileri mutasyon denilmektedir.
- Baskılayıcı mutasyonlar:** Bir gende ilk oluşan mutasyondan başka bir yerde ortaya çıkan ve ilk mutasyonun etkisini tersine çeviren ikinci mutasyona baskılayıcı mutasyon denir.

2.3.2 Kromozom Mutasyonları (Kromozom Yapı Değişiklikleri)

Kendiliğinden veya çevresel mutajenler nedeniyle meydana gelen kromozom mutasyonları; kromatid ve kromozom kırığı, fragment, disentrik kromozom, halka

kromozomu, kardeş kromatidlerin birleşmesi, translokasyon, inversiyon, izokromozom, homolog kromozomlar arasında kromatidler arası değişim ve endoreduplikasyon şeklinde gözlenmektedir [17-20-24].

a) Kromatid kırığı: Bir kromozomun iki kromatidinden sadece birinde kırılma olur ve anafazda kromatidlerin kutuplara çekilmesi sonucu hücrelerden biri defisiyensli kromozom bulundurur.

b) Kromozom kırığı: Bir kromozomun her iki kromatidinde aynı noktada kırılma olur ki bu durumda hücrelerin her ikisi de defisiyensli kromozom bulundurur.

c) Fragment: Kopmuş olan kromozom parçalarıdır. Metafaz plağında kopmuş olduğu kromozomdan ayrı yerlerde bulunurlar.

d) Disentrik kromozom: Kromozom kırığı meydana geldiği zaman, sentromer içeren parçanın kopuk uçlarının birleşmesi sonucu disentrik kromozomlar oluşurmaktadır.

e) Kardeş kromatidlerin birleşmesi: Kromozom kırıklarının olduğu durumlarda yaralı kardeş kromatidlerin kırık olan uçlarının birleşmesiyle oluşan yapılardır. Mitozun anafazında bu kromatidler zıt kutuplara çekilirken kromozom köprüsü oluştururlar.

f) Halka kromozomu: Bir kromozomun iki ucunda da meydana gelen kromozomal kopma sonucu oluşan yaralı uçların birleşmesiyle halka (Ring) denilen kromozomlar oluşur. Bu kromozomların kardeş kromatidlerinin zıt kutuplara çekilmesi sonucu her bir hücrede bir halka kromozomu bulunur.

g) Translokasyon: Kromozomal bir kopmada kopuk olan bir uca homolog olmayan kromozomlardan başka bir kopuk parçanın yapışmasıdır. Translokasyona neden olan kromozom parçası yer değişimleri, tek taraflı veya karşılıklı olabilir.

h) İversiyon: Bir kromozomun içinden kopan parçanın ters dönerek aynı yere yapışması ile oluşur. İversiyon sonucunda kromozomdaki genlerin diziliş sırasında değişme meydana gelir.

ı) İzokromozom: Primer boğumda oluşan kromozomal bir kopma sonucu, kardeş kromatidlerin birleşmesidir. Böylece her iki kolu da birbirinin aynısı olan kromozomlar meydana gelir.

i) Kromozomun kopup enine olarak ters dönmesi: Crossing-over'e benzeyen bir olaydır. Bu durum homolog olmayan parçalar arasında gerçekleşirse kromozomal yapıyı değiştirir.

j) Endoreduplikasyon: Bazı durumlarda bölünmeyen hücrelerin DNA'sı tekrar replike olur. Bunun sonucunda önceki kromozomun her bir kromatidinden iki kromatidli birer kromozom meydana gelir. Fakat bu kromozomlar birbirinden ayrılmayıp bir arada kalırlar. Metafaz plağında ise bunların iki kromozom ve dört kromatitten oluşmuş yapılar şeklinde görülmelerine endoreduplikasyon adı verilir.

2.3.3 Genom Mutasyonları (Kromozom Sayı Mutasyonları)

Genom mutasyonları; öploid ve anöploid olmak üzere ikiye ayrılır:

a) Öploid: Organizmada tek bir takım kromozom bulunması veya kromozomların hepsinin birden sayılarının tam katlar halinde yükselmesi durumuna verilen isimdir.

Canlılar içerisinde bazı bireylerin somatik hücrelerinde sadece bir takım (n) kromozomun bulunması durumuna monoploid, böyle bireylere de monoploid denir. Monoploidler genellikle döllenmemiş yumurtanın gelişmesiyle oluşurlar. Bir takımdaki kromozomların sayısının hepsinin birden, ikiden fazla kata yükselmesi ise poliploid olarak adlandırılmaktadır. Eğer poliploid, bireyin somatik hücrelerinde oluşursa endopoliploid adını alır. Bu olay endomitoz sonucu oluşur. Endomitoz ise farklılaşmış ve bölünme yeteneği kaybolmuş hücrelerde bazen çekirdek zarı kaybolmadığı halde genetik materyalin replike olmasıdır. Sonuçta $3n$, $4n$, $5n$ ve daha yüksek katsayılı kromozomlara sahip bireyler meydana gelir. Bu bireylere de triploid, tetraploid, pentaploid gibi isimler verilir [19-25].

b) Anöploid: Bir takımdaki kromozomlardan bir veya birkaçının sayısının değişmesine denir. Bu değişimler hipoploid ve hiperploid olmak üzere iki grupta incelenir:

Hipoploidi; genomdaki kromozom sayısının azalması durumuna denir. Bu azalma monosomi ve nullisomi olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşir. Monosomi diploid bir bireyde sadece bir kromozomun eksik olması durumudur ($2n-1$). Monosomik bir birey non-disjunction nedeniyle bir kromozomu eksik olan bir gametin normal bir gametle birleşmesi sonucu meydana gelir. Nullisomi ise canlıda, bir kromozomun homoloğuyla beraber eksik olmasından dolayı bir kromozom çeşidinin hiç bulunmamasıdır ($2n-2$). Nullisomik bireyler tesadüfen aynı çeşit kromozomunu kaybetmiş iki gametin birleşmesi ile oluşur [20-24].

Hiperploidi veya polisomi; bir takımdaki kromozomlardan birinin veya bir kaçının artmasıdır. Trisomi ve tetrasomi olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Trisomi diploid bir canlıda bir kromozomun fazla bulunmasıdır ($2n+1$). Eğer iki ayrı kromozom çeşidinden birer kromozom fazla bulunuyorsa buna çift trisomi denir ($2n+1+1$). Trisomik bireyler bir kromozom çeşidine ait iki homoloğu birden taşıyan bir anöloid gametle normal bir gametin birleşmesi sonucu meydana gelir. Tetrasomi ise bir canlıda, takımdaki kromozomlardan birinin 4 tane olmasıdır ($2n+2$). Tetrasomik bireyler, aynı iki trisomik gamet hücresinin birleşmesi sonucu oluşur [20-24].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3.1 Gereçler

3.1.1 Demirbaş malzemeler

Etüv (Elektro-mag M420 Bp)

Vorteks (Yellowline)

Mikroskop (Olympus model CHK)

Santrifüj (Elektro-mag)

Derin dondurucu

Buzdolabı

Otomatik pipet

Foto mikroskop (Olympus BH-2,Nikon Coolpix 8800)

Su banyosu

Hassas terazi

Hassas terazi

Tartım işlemlerinde 0,0001 gr hassasiyetindeki PRECİSA XB 220 A marka terazi kimyasalların tartılmasında kullanılmıştır.

Santrifüj

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

Mikroskop

Koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan OLYMPUS marka binoküler ışık mikroskopu preparat incelemeleri sırasında kullanılmıştır.

Etüv

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

3.1.2 Sarf malzemeler

Heparin

Giemsa (Merck, 5400512)

KH₂PO₄ (merck, 9021622)

Na₂HP0₄H₂O (Merck, K1 690176)

Glasiyal asetik asit (Merck, 247K18855556)

Metanol (Merck, 502K05275408)

Ksilol (Merck, 207K037553)
Entellan® (Merck, 640171987)
İmmersiyon yağı® (Merck, 09403569)
KCL (Merck, 340TA611835)
Alkol
Distile su
Tüplük
Çeşitli cam malzemeler
Konik tabanlı 10ml'lik steril kültür tüpü
Enjektör
Çeşitli ebatlarda puarlar
Pastör pipeti
21.Lam
22.Lamel

3.1.3 Kullanılan kimyasal maddelerin eriyiklerinin hazırlanması

Sorenson Fosfat Tampon Çözeltisi: KH_2PO_4 çözeltisinden 60 ml. ve Na_2HPO_4 çözeltisinden 30 ml. alınarak şaleye konulur ve üzerine 10 ml. giemsa boyası eklenmesi suretiyle %10 luk giemsa-sorenson fosfat tampon çözeltimiz hazırlanmış olur. Sorenson fosfat tampon çözeltisi çeşitli pH değerlerine ayarlanabilir, bu işlem için her iki çözeltinin değişik miktarları kullanılarak pH istenilen değere ayarlanır.

Çözelti 1:

KH_2PO_4 9.1 gr.
Bidistile su.....1000 ml.

Çözelti 2:

Na_2HPO_411.9 gr.
Bidistile su.....1000 ml.

pH 5,6 için: Çözelti 2 den 5 ml. ve çözelti 1 den 100 ml.
pH 6,0 için: Çözelti 2 den 12,3 ml. ve çözelti 1 den 100 ml.
pH 6,5 için: Çözelti 2 den 30 ml. ve çözelti 1 den 100 ml.
pH 6,8 için: Çözelti 2 den 50 ml. ve çözelti 1 den 100 ml.
pH 7,2 için: Çözelti 2 den 70 ml. ve çözelti 1 den 100 ml.

Mitomisin C (MMC) Eriyiğinin Hazırlanması: 2 mg mitomisin-C bulunan ortama 2 ml steril bidistile su ilave edilerek MMC eritilmiştir. Sonra bu eriyikten 4 ml'lik kültür ortamına ilave edilerek MMC ile hücreler 48 saat muamele edilmiştir.

Mitomisin C (MMC)(Sigma)

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan, Mitomisin C (MMC) mavi-menekşe renkte, kristal şeklinde ve suda çözünebilen bir maddedir. Suda çözünen (pH=6-9) eriyik, ışıktan korunduğu ve 5°C altındaki buzdolabında saklandığı zaman yedi gün özelliğini korumaktadır.

Mitomisin C 2 mg ve 10 mg'lık şişelerde toz şeklinde bulunur. MMC antinoplastik (urların büyümesini önleyen) ve geniş spektrumlu bir sitostatik (hücre bölünmesini durduran) ajandır [25].

Kromozom Medyumu: Dateks firmasının ürettiği (Cat. No.04-001-1B) Chromosome Medyum B, hücre kültürü için kullanılmıştır. Bu maddeden kültür tüplerine steril ortamda 4'er ml eklenerek kullanılmıştır.

Kolsişin: Kromozom preparatlarının hazırlanmasında mitotik zehir olarak Colchicine (Kolsişin) (Sigma) kullanılmıştır. Kolsişin eriyiği steril saf su içerisinde hazırlanmış ve kromozom medyumunun her ml'sinde 0.06 µg olacak şekilde (0.06 ug/ml) 5 ml'lik kromozom medyumuna ilave edilmiştir. Kolsişin'in bazı özellikleri aşağıdadır:

Kapalı formülü	: C ₂₂ H ₂₅ N ₀₆
Molekül ağırlığı	: 399.4
Etil asetat içeriği	: %3.4
Kloroform içeriği	: < %0.1
Sigma no	: C-9754

Hipotonik Eriyik: Hipotonik eriyik olarak % 0, 4'lük KCl (Merck) kullanılmıştır. Bidistile su içinde stok halinde hazırlanan eriyik ağzı kapalı cam bir kaptaki buzdolabında (+4 °C) saklanmıştır. Her preparasyondan yaklaşık 1 saat önce yeterli miktarda alınıp 37°C'deki inkübatörde ısıtılıp kullanılmıştır.

Fiksatif: Preparatların hazırlanmasında kullanılan fiksatif, 1 kısım glacial asetik asit' in 3 kısım metanol (1/3: glacial asetik asit/metil alkol) ile karıştırılmasıyla hazırlanmıştır. Fiksatif kullanılmadan iki saat önce hazırlanmış ve buzdolabında saklanmıştır. Her seferinde preparat yapım işleminden iki saat önce taze olarak hazırlanıp kullanılmıştır.

Giemsa: Giemsa boyası Merck firmasından (Cat. No. 9204) temin edilmiş olup, deneylerimizde Sorensen tamponu içinde hazırlanmış, %10'lik boya eriyiği kullanılmıştır.

3.2 Yöntem:

3.2.1 Çalışma Grubu

Sigara içmeyen, 23-24 yaşlarında sağlıklı, 3 erkek ve 3 bayan toplam 6 üniversite öğrencilerinden periferik kan örnekleri alınmıştır. Her deney bir kez tekrarlanmıştır.

3.2.2 Kan Örneklerinin Alınması

Kontrol kişilerden, 5 ml'lik steril ve 0.1-0.2 cc heparin içeren enjektörler kullanılarak periferik kan örnekleri alındı. Daha sonra kan örneklerinin bekletilmeden kültür ortamlarına ekimi yapıldı.

3.2.3 Kültür Tekniği

Sağlıklı ve sigara içmeyen yaşlan 18-22 olan kişiden alınan, heparinize edilmiş kan örnekleri kromozom medyumlarına (Biochrome) (5 ml) steril şartlarda 13-15 damla (0.4 ml) ekilmiştir. Hücre kültürü inkübatörde 37 °C'de 72 saat inkübe edilmiştir. Kekik (*Origanum onites*) güneş görmeyen toz almayan ortamda kurutulmuş, 100 gramı Sokslet cihazında Metanolle (MeOH) ekstrakte edilmiştir. Daha sonra ekstaktlar filtre edilmiş ve kullanılabileceği kadar +4 °C'de tutulmuştur.

İnsan kromozomları üzerine kekik özütünün etkisini incelemek için kültür süresinin bitimine 24 ve 48 saat kala son konsantrasyonu (1,2,3,4 µl/ml) kültür tüplerine ilave edilmiştir.

Pozitif kontrol amacıyla kullanılan MMC steril bidestile suda çözülmüştür. MMC'nin insan kromozomları üzerine etkisini incelemek için kültür bitimine 24 saat kala son konsantrasyonu 0.3 µg/ml MMC kültür tüplerine ilave edilmiştir. Negatif kontrol olarak ise distile su (%1) kullanılmıştır [26].

Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce (yani kültürün 70. saatinde) her tüpe hazırlanan Kolsişin eriyiğinden 35 µl (0.06 µg Kolsişin/ml) ilave edilmiş ve tüpler hafifçe sallanarak iyice karıştırılmıştır. Hücreler 2 saat süresince (37°C'de) Kolsişin ile ön muameleye tabi tutulmuştur.

Kültür süresi olan 72. saatin bitiminde kültür tüpleri, 1500 rpm'de 10 dk. santrifüj edilmiş, süpernatant atılmıştır. Dipte kalan ve hücreleri ihtiva eden 0.5-0.7 ml'lik sıvı iyice karıştırıldıktan sonra tüplere, etüvde 37 °C'de tutulan hipotonik eriyik ilave edilmiştir. Bu eriyiğin ilavesi damla damla ve karıştırılarak yapılmış olup hücre süspansiyonu pipetaj yapılarak homojen hale getirilmiştir. Her tüpe 7 ml hipotonik eriyik ilave edildikten sonra tüpler, ağzı kapatılarak inkübatöre konmuştur. Hücreler 30 dk. hipotonik eriyikte 37°C'de muamele edilmiştir. Sürenin sonunda tüpler 10 dk. 1500 rpm'de santrifüj edilmiş, süpernatant atılmıştır. Hipotonik çözelti ilavesi gibi yavaş yavaş ve karıştırarak her tüpe 5 ml olacak şekilde soğuk fiksatif ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 20 dk. fiksatif ile muamele edilen hücreler 1500 rpm 10 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra tüplere tekrar fiksatif ilave edilmiştir. Bu işlem 3 kere tekrarlanmıştır. 3. fiksatifle muamelenin sonunda tüpte kalan sıvı tamamen berraklaştığı görülmüştür. Her fiksatif ilavesinden sonra tüpler santrifüj edilerek üstteki sıvı atılmıştır. Son santrifüjden sonra dipte 0, 5 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant atıldıktan sonra yayma yapılmıştır.

Tüpün dibinde toplanan hücreler pasteur pipeti ile karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Pasteur pipetine 4-5 damla olacak şekilde bu hücre süspansiyonundan çekilmiştir. Özel olarak hazırlanmış düzeneğe tutturulan pasteur pipetinden daha önce temizlenmiş ve saf su içerisinde buzdolabında saklanan farklı alanlara 1'er damla olmak üzere hücre süspansiyonu damlatılarak (her lama 3-4 damla) hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerinde yayılması sağlanmıştır. Hücre süspansiyonunun lamlara damlatılması esnasında damlaların üst üste düşmemesine dikkat edilmiştir.

Bu şekilde hazırlanan preparatlar kurumak üzere 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

3.5 Mikroskopik İnceleme

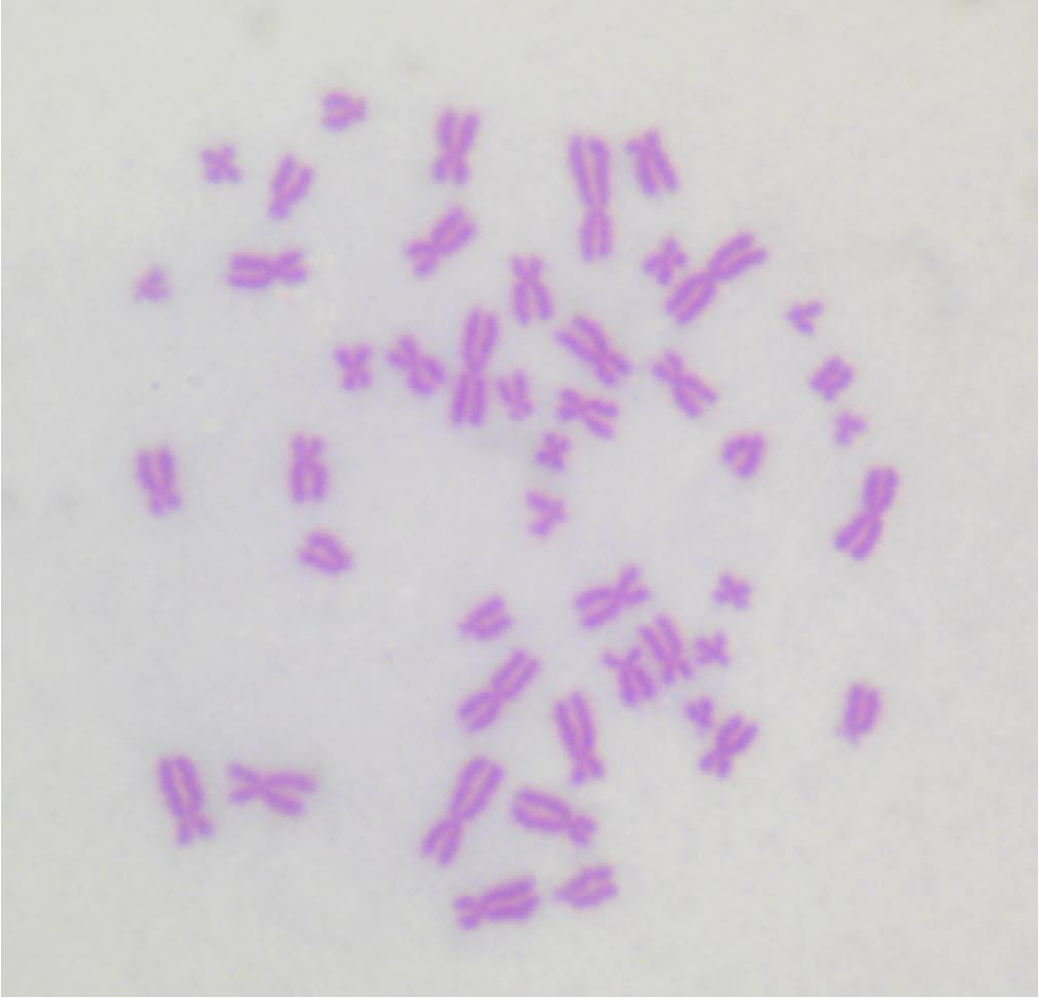
Hazırlanmış olan daimi preparatlar Olympus marka binoküler ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelenmiştir (10x100=1000 büyütmede).

Muamele edilmiş ve kontrol kültürlerde her bir kişiden hazırlanan, iyi dağılmış kromozomlara sahip preparatlardan, her bir doz için, 400 metafaz incelenerek kırık ve diğer anomaliler sayılmıştır. Bu hücreler içinde gözlediğimiz kromozom yapı anormallikleri kromozomlara göre ayrı ayrı kaydedilmiştir. İncelenen 100 hücre içerisinde kromozom kırığı, kromatid birleşmesi, kromozom değişimi ve poliplodi bulunan anormal hücrelerin sayısı saptanmış ve bundan da anormal hücre yüzdesi bulunmuştur [27].

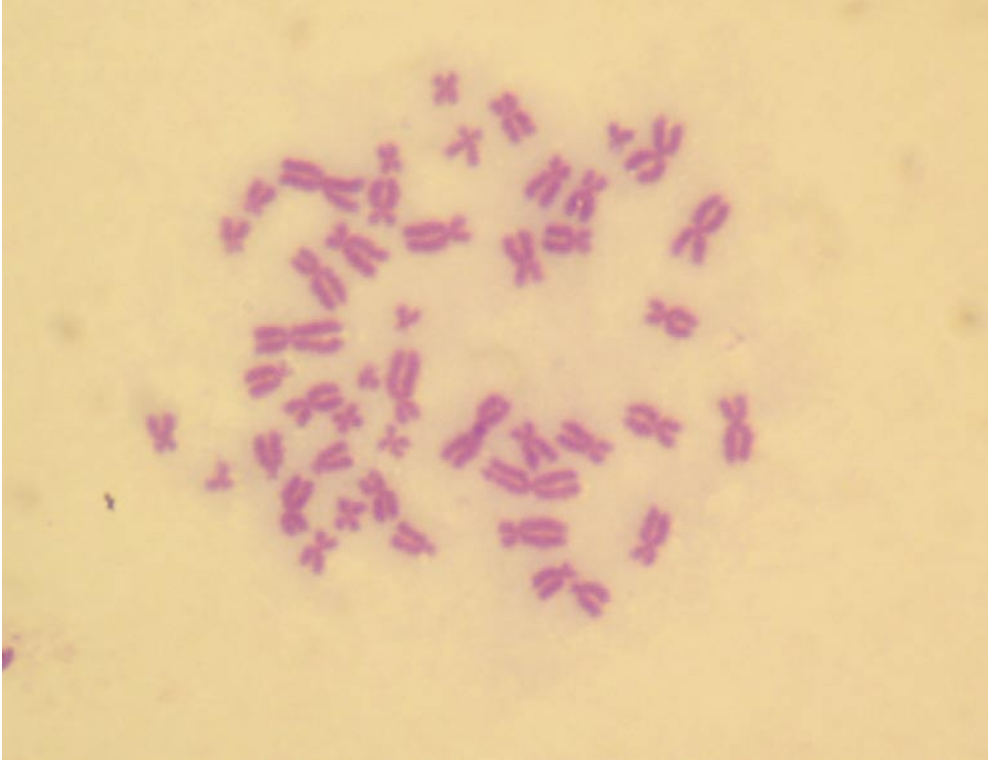
İstatistiksel analiz “GraphPad InStat version 3.05 for Windows 95 (GraphPad Software, San Diego California USA)” programıyla yapılmıştır.

4. BULGULAR

Normal insan kromozomları sağlıklı ve sigara, alkol kullanmayan üniversite öğrencilerinden tam kan olarak vena'dan alınmıştır. Şekil 1'de normal bireye ait laboratuvarımızda elde edilmiş metafazlar görülmektedir.



Resim 4.1. a. Normal bir bayana ait kromozomlar.



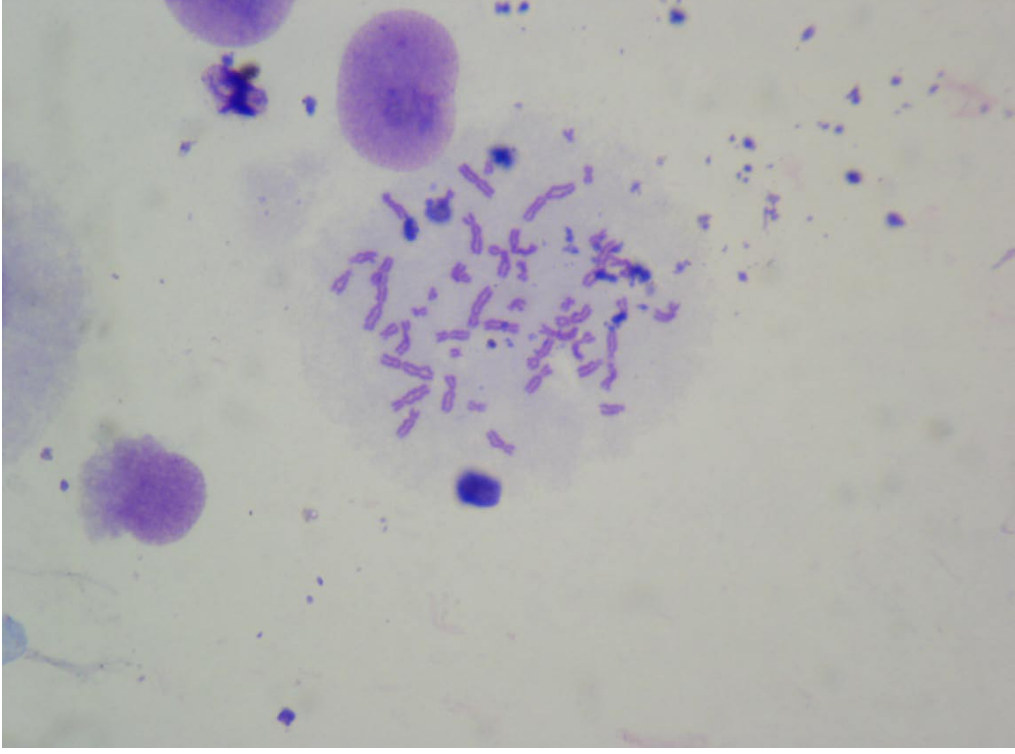
Resim 4.1.b. Normal bir bayana ait kromozomlar.

Tablo 4.1. *O. onites* tarafından insan periferal lenfosit kromozomlarında ortaya çıkarılan yapısal ve sayısal bozukluklar

Test maddesi	Uygulama		Yapısal bozukluklar				Sayısal bozukluklar
	Period (h)	Doz ($\mu\text{g/ml}$)	ctb	csb	cu	cse	p
NC	24	1	1	0	0	0	0
MMC	24	0.3	19	2	3	7	1
<i>O. onites</i>		1	1	0	1	0	0
		2	0	0	1	0	0
		2	1	1	0	0	0
		3	1	0	0	1	1
NC	48	2.5	0	0	0	0	1
MMC	48	0.3	24	3	2	5	2
<i>O. onites</i>	48	1	2	1	0	0	0
		1	2	0	1	0	0
		2	1	1	0		1
		2	1	0	1	0	0

ctb: kromatid kırığı, csb: kromozom kırığı, cse: kromozom değişimi, cu: kromatid birleşimi, NC: negative kontrol (%1 distile su), MMC: (0.3 $\mu\text{g/ml}$ mitomycine-C (24, 48 saat), p: poliploidi, ^{ns}: kontrolle karşılaştırıldığında önemsiz (*Fisher's Exact Test*).

Kromozomlar öncelikle pozitif kontrol olarak kullanılan mitomycine-c' ile etkileşime bırakılmıştır (0.3 $\mu\text{g/ml}$). Mitomycine in kromozomlarda kromozom kırıkları, kromatid kırıkları, poliploidi kromatid birleşimi gibi hasarlara neden olduğu gözlenmiştir (Şekil 4.2).

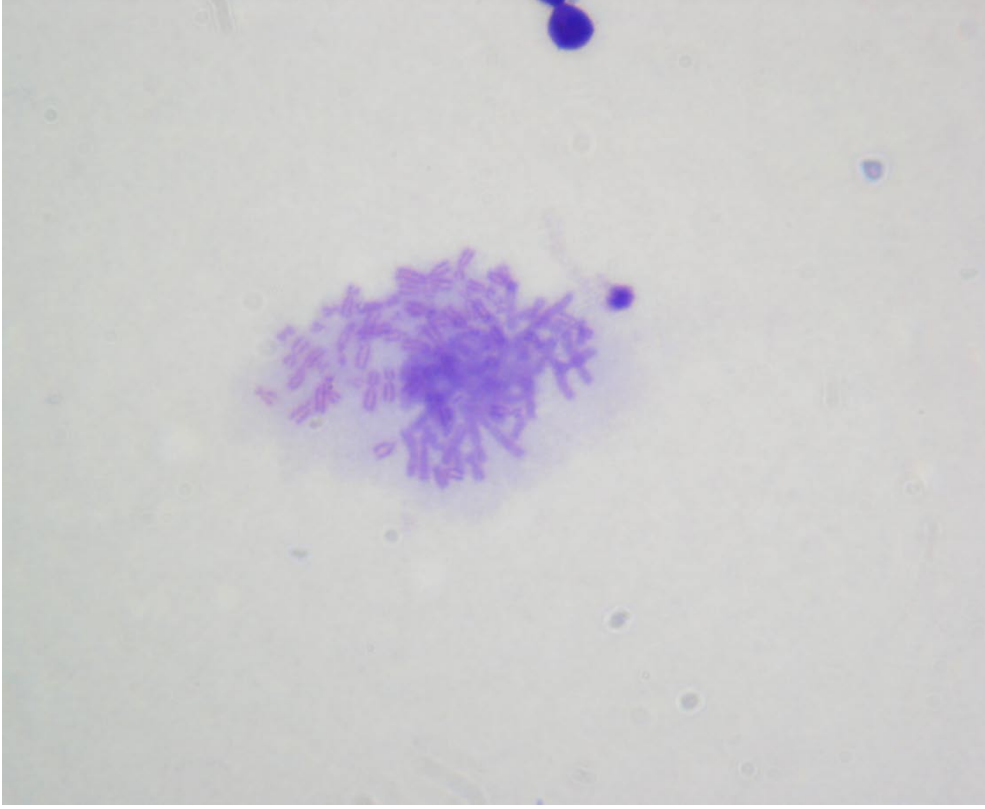


Şekil 4.2. Mitomisin-c'nin insan kromozomlarına etkisi.

5 µg'lik dozda besiyerinde üremenin tamamen durduğu ve metafaz sayısının çok az olduğu gözlenmiştir. Yapılan denemeler sonrası 24 saat etkileştirme süresinin uygun olduğu daha fazla sürenin mitoz bölünmeyi engellediği saptanmıştır.



Şekil 4.3. 4 $\mu\text{g/ml}$ 'lik dozda kromozomlarda gözlenen belirgin kırıklar.Kromatid birleşmeleri.



Şekil 4.4. *O. onites*' in bazı (3 µg /ml) dozlarında görülen poliploid yapılara bir örnek.

Tablo 1 de de görüleceği gibi bitki ekstraktı besiyerindeki kromozomlara belirgin bir etki yapmamıştır. Poliploidi görülme sıklığı pozitif kontrol ve negatif kontrolle karşılaştırıldığında normal sınırlar içerisindedir. Mitotik index göz önüne alındığında konrollere oranla normaldir.

5.TARTIŞMA

Kars bölgesi, Türkiye'nin kuzey doğusunda yer almaktadır. Bölgede sanayi tesislerinin az oluşu gibi etkenler nedeniyle doğal flora büyük oranda bozulmamıştır. Bu nedenle söz konusu bölgenin bitki varlığı açısından oldukça zengin olduğu gözlenmektedir. Botanik alanında yapılan çalışmalar, bölgenin endemik bitki türü bakımından da oldukça zengin olduğunu göstermektedir. Bitki türleri sınıflandırıldığında 21 familyaya ait 73 adet Kars bölgesine endemik tür olduğu görülmektedir. Yapılmış çalışmalar incelendiğinde özellikle iki familyanın aktif madde içeriği yönünden zengin türleri kapsamakta olup bunlar *Asteraceae* and *Fabaceae* familyalarıdır. Bölgemizde bu iki familyaya ait 32 endemik tür bulunmaktadır. Benzer türlerle dünyanın değişik yerlerinde yapılan çalışmalarda, bu türlerin özellikle antimikrobiyal, antioksidan, antimutajenik, mutajenik ve antiparazitik özellikleri ile ön plana çıktıkları görülmektedir. Ancak, bitkilerin yetiştiği coğrafya ve iklim şartlarına göre bio aktif özelliklerinin derecelerinde değişiklik olduğu bilinmektedir. Bunun yanısıra farklı bio aktif maddeler ihtiva ettikleri de sıklıkla gözlenmektedir. Ülkemizde bu türler ile gerekli çalışmalar yapılmamış olup, bu bitkilerin potansiyelleri ve elde edilebilecek ürünler hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır.

Bitki özütlerinin hücreler üzerine çok büyük etkiler yapabildiğini Kolsişin ve Fitohemaglutinin örneklerinden ayrıntılı olarak biliyoruz. İncelenmesi amaçlanan kekik bitkisinin olası genotoksik, anojenik (hücre bölünme mekanizmasını etkileyen ajan) ve klastojenik (kromozomları etkileyen ajan) etkilerinin ortaya konulması önemlidir.

Bu etkilerin açığa çıkarılmasının;

- 1- Besin güvenirligi açısından,
- 2- Literatüre katkı açısından,
- 3- İleride yapılacak antimutajenik çalışmalara direk kaynak olması açısından,
- 4- Yapılacak diğer çalışmalara kaynak olması açısından,
- 5- İlaç sanayisine katkı yönünden, önemlidir.

Bitki ekstraktlarının kromozomlar üzerine yaptığı etki üzerine pek çok araştırma vardır [28-38]. Bitki uçucu yağları kompleks hidrokarbonların bir karışımıdır ve genellikle terpenlerden oluşur. Bitki uçucu yağları koku ve aroma oluşturma kapasitelerine göre sınıflandırılabilir. Bitki uçucu yağları, besin ve içecek katkısı olarak, kozmetik olarak, sabun ve deterjanlara koku olarak, böcek ve sinek öldürücülere katkı olarak kullanılabilir. Pek çok ülkede bitki uçucu yağlarının kullanımı kontrol altına alınmıştır. Bu uçucu yağların akut ve kronik toksisitesi hakkında fazla bilgi bulunmamaktadır. Ülkemizde yapılan çalışmalar genellikle antimikrobial etkileri üzerinedir. Oysa bitki özütlerinin kansorejenik, teratojenik ve mutajenik etkileri bildirilmiştir. Klasik kromozom elde edilme yöntemlerinde bile bitkisel materyal sıklıkla kullanılmaktadır. Kolsişin kar çiçeğinden (*Colchicum*) elde edilir ve iğ ipliklerini kırarak kromozomların kutuplara çekilmesini önler. Kolsişin sayesinde kromozomlar metafaz evresinde yakalanır ve incelenir. Yine insan kromozomu incelemelerinde insan kanı kullanılır. Normalde insan kan hücreleri dolaşımında bölünmez ve bölünmeyen hücrelerde kromozom incelemesi yapılamaz. *Fitohemagglutinin* fasulyeden (*Phaseolus vulgaris*) elde edilir ve bölünmeyen kan hücrelerini bir nevi kanserleştirerek bölünmeye zorlar. Bu örneklerden de görüleceği üzere bitki özütleri oldukça etkili hücre bölünme düzenleyicisi olabilirler. Çalışmak istediğimiz bitki et ve et ürünlerinde yaygın olarak kullanılmaktadır ve anti mikrobiyal etkisinin olduğu bildirilmiştir.

Kekik, ballıbabagiller (Lamiaceae) familyasından *Thymus*, *Thymbra*, *Origanum*, *Coridothymus*, *Satureja*, cinslerinin genel adı olan, kendine özgü kokusu ile tanınan çimenlik, tarla, orman kıyılarında ve çayırarda görülen bitki türlerinin ortak adı. Kekik bitkisinden yaprak çiçek durumlarının su buharı distilasyonu yöntemi ile %2-%8 oranında yakıcı lezzetli aromatik kokulu uçucu yağ elde edilir. Bu uçucucu yağdan monoterpen fenollerden karvakrol ve timol bulunmaktadır. Kekikin yapraklarında uçucu yağ bulunmasından dolayı, bitkiden kaynatılarak çay yapılması durumunda etkinliğini kaybeder

Özellikle son on yılda bitkisel ilaçlara olan ilgi ve talebin aşırı derecede artması, bitkilerin doğrudan ilaç olarak kullanımının ve bitkilerden ilaç geliştirme çalışmalarının hızlanmasını sağlamıştır. Tüm dünyada bitkiler üzerinde klinik amaçlı ve salgın hastalıkların kontrolü yönünde çalışmalar sürdürülmekte, çeşitli enzim sistemleri kullanılarak, bitkilerden biyoaktif maddelerin elde edilebilmesi için ileri düzeyde çalışmalar yapılmaktadır. Uluslararası büyük ilaç şirketlerinin hemen hepsinin, büyük ya da küçük, bir bitkisel ürün araştırma bölümü bulunmaktadır. İlaç, kozmetik, parfümeri, gıda, veteriner hekimlik ve tarım alanlarında bitkisel kaynaklı ürünlerle alınan patent sayısı giderek artmaktadır. Bitkisel ilaçlara ve bitkilerden elde edilen hammaddelere ilginin arttığı günümüzde, özellikle bazı bitkiler kullanım alanları, miktarları ve insanlar tarafından yararlı etkilerinin onaylanması açısından diğer bitkilere oranla daha fazla öneme sahiptirler. Bu maddelerin kalıtsal materyale etkilerinin açığa çıkarılması oldukça önemlidir. Klasik kromozom elde edilme yöntemlerinde bile bitkisel materyal sıklıkla kullanılmaktadır. Kolsişin kar çiçeğinden (*Colchicum*) elde edilir ve iğ ipliklerini kırarak kromozomların kutuplara çekilmesini önler. Kolsişin sayesinde kromozomlar metafaz evresinde yakalanır ve incelenir. Yine insan kromozomu incelemelerinde insan kanı kullanılır. Normalde insan kan hücreleri dolaşımında bölünmez ve bölünmeyen hücrelerde kromozom incelemesi yapılamaz.

Fitohemaglutinin fasulyeden (*Phaseolus vulgaris*) elde edilir ve bölünmeyen kan hücrelerini bir anlamda kanserleştirerek bölünmeye zorlar. İncelenecek bitki türlerinin olası mutajenik ve diğer özelliklerinin ortaya çıkarılması oldukça önemlidir.

Bunun yanısıra farklı biyoaktif maddeler ihtiva ettikleri de sıklıkla gözlenmektedir. Ülkemizde bu türler ile gerekli çalışmalar yapılmamış olup, bu bitkilerin potansiyelleri ve elde edilebilecek ürünler hakkında yeterli bilgi bulunmamaktadır [29-31].

Bugün dünyada kullanılan bitki sayısı Dünya Sağlık Örgütüne (WHO) göre 20.000 civarındadır. Bunlardan 4000 drog yaygın bir şekilde kullanılırken yaklaşık % 10'unun ticareti yapılmaktadır. Özellikle son on yılda bitkisel ilaçlara olan ilgi ve talebin aşırı derecede artması, bitkilerin doğrudan ilaç olarak kullanımının ve bitkilerden ilaç geliştirme çalışmalarının hızlanmasını sağlamıştır. Son yıllarda tüm dünyada bitkiler üzerinde klinik amaçlı ve salgın hastalıkların kontrolü yönünde çalışmalar sürdürülmekte, çeşitli enzim sistemleri kullanılarak, bitkilerden biyoaktif maddelerin bulunması için ileri düzeyde çalışmalar yapılmaktadır. Uluslararası büyük ilaç şirketlerinin hemen hepsinin, büyük ya da küçük, bir bitkisel ürün araştırma bölümü bulunmaktadır. Bazı bitki ve baharat uçucu yağlarının biyolojik aktiviteleri üzerindeki araştırmalar sonucunda bu baharatlardan bazılarının insektisidal, antibakteriyel ve antimikotik, antiviral, antiseptik, spazmolitik, antioksidant ve antikarsinojenik, antiplazmoidal, antitoksijenik gibi ilginç aktiviteler gösterdikleri görülmüştür. İlaç, kozmetik, parfümeri, gıda, veteriner hekimlik ve tarım alanlarında bitkisel kaynaklı ürünlerle alınan patent sayısı giderek artmaktadır. Bitkisel ilaçlara ve bitkilerden elde edilen hammaddelere ilginin arttığı günümüzde, özellikle bazı bitkiler kullanım alanları, miktarları ve insanlar tarafından yararlı etkilerinin onaylanması açısından diğer bitkilere oranla daha fazla öneme sahiptirler.

Qari [32] *Origanum majorana*'nın antimutajenik potansiyeli *Vicia faba* kök meristematik hücrelerinde incelenmiştir. *Vicia faba*'nın kök uç hücreleri 6 saat 250 ve 350 µg/ml sodyum azit ile muamele edilmiş ve sodyum azitle muameleden sonra *Origanum majorana* 50,100 ve 200 µg /ml 20 saat verilmiştir. Uçlar kolşisinle muamele edildikten sonra ezilmiş ve hücreler kromozom anormallikleri ve mitotik indeksi incelenmiştir. *Origanum majorana* kontrolle karşılaştırıldığında *Vicia faba*'nın kök uç hücrelerinde önemli bir etki göstermemiştir. Sodyum asit tek başına artan konsantrasyonları ile kromozom anormalliklerini önemli derecede indüklemektedir. Anormalliklerin bir kısmı kök ucu hücreleri *Origanum majorana* ile ön muameleye tabi tutulduğunda önemli derecede azalmaktadır. Bu çalışma *Vicia faba* kök meristematik hücrelerinde sodyum azit'in indüklendiği kromozomal anormalliklere karşı *Origanum majorana*'nın antimutajenik potansiyele sahip olduğunu gözler önüne sermektedir. Ayrıca *O. majora* ile muamele edilen tüm gruplarda mitotik indeks yüzdesinin azalması düşük oranda gerçekleşmiştir. *Origanum majora*'nın antimutajenik potansiyeli *Vicia faba* kök meristematik hücrelerinde 50 µg /ml konsantrasyonunda etkilidir.

Mezzoug ve arkadaşları [33] yaptıkları çalışmada, *Origanum compactum* uçucu yağının kimyasal bileşimini gaz kromatografisi-kütle spektrofotometresi ile belirlemiş ve mutajenik, antimutajenik aktiviteleri *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile incelemişlerdir. Uçucu yağın antimutajenik etkisini belirlemek için mutajen metil metansulfonat (MMS) kadar mutajen üretan (URE) üzerine olan etkileri test edilmiştir. *O. compactum* uçucu yağı URE'nin indüklediği mutajeniteye karşı güçlü bir inhibitör etki göstermiştir. Bununla birlikte

MMS'in indüklediği mutajeniteye karşı zayıf inhibitör etki elde edilmiştir. Elde ettikleri sonuçlarda belirlenen antimutajenitenin metabolik aktivasyon üzerinde inhibitör etki göstermesi aracılığıyla olabileceğini düşündürmektedir. Uçucu yağın baskılayıcı etkiden sorumlu bileşenlerini belirlemek için fraksiyonlarına ayrılmıştır. Elde edilen sonuçlar, *O. compactum* uçucu yağının bileşenleri arasında sinerjistik bir antimutajenite etkisinin olmadığını ve carvacrolun en etkili yağ bileşeni olduğunu öne sürmüşlerdir.

Gálvez ve arkadaşları [34] yaptıkları çalışmada kanserin tedavisi için geleneksel ilaç olarak kullanılan yedi *Plantago* türünün metanolik ekstraktlarını üç insan kanser hücresine karşı sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Flavonoidler insan kanser hücrelerinin poliferasyonuna karşı güçlü bir inhibe edici etki gösterebildiklerinden, birçok *Plantago* türünde önemli flavonoid olarak bilinen luteolin-7-*O*- β -glukosid belirlenmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre *Plantago* türlerinin kültür içinde test edilen hücreler karşı belirli ölçüde sitotoksik etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Velasco-Lezama ve arkadaşları [35] yaptıkları çalışmada, *Plantago major*'un havalı parçalarından (yaprak ve tohumlar) su, metanol, kloroform ve hekzan ekstraktları kemik iliği CD1 ve dalak , *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis* ve *Candida albicans* kültür ortamları içine ve metanol ekstraktlarında HTC-15, OVCAR, UISO ve KB kültür ortamları içine eklenmiştir. sulu ekstrakt *B.subtilis*, hekzan ekstraktı *E.coli*'nin üremesini inhibe etmiştir. Metanol ve kloroform ekstraktları *B.subtilis* ve *E.coli* gelişimlerini zayıf oranda inhibe etmiştir. Elde ettikleri sonuçlara göre ilk kez *Plantago major*'un in vitro olarak önemli hematopoiteik aktivitesi olduğunu göstermiştir.

Déciga-Campos ve arkadaşları [36] yaptıkları çalışmada bu çalışmada Meksikaya ait bazı bitkilerin tıbbi kullanımları ve ticari önemleri güvenlik parametrelerinin belirlenmesi için incelenmiştir. Farelerdeki akut toksite çalışmalarında Lorke prosedürüne göre *Exostema caribaeum*, *Hippocratea excelsa*, *Ligusticum porteri* ve *Poliomintha longiflora* LD50 1.085 ve 2 mg / kg değerleri arasında çok fazla toksik olduğu belirlenmiştir. *Artemia salina*'daki letalite testinde *Brickellia veronicaefolia*, *Arracacia toluensis*, *Poliomintha longiflora* ve *Piper sanctum* krustesea larvasının mortalitesini 37-227 g/mL oranında LC50 ile önemli etki göstermiştir.

Lazutka ve arkadaşları [28] yaptıkları çalışmada *Anethum graveolens L.* yaprak ve tohumları, *Mentha piperita L.* bitkisi ve *Pinus sylvestris L.* iğnelerinden ekstrakte edilen uçucu yağların genotoksik özellikleri kromozom abresyonu (CA) ve kardeş kromatid değişim testleri kullanılarak in vitro insan lenfosit hücrelerinde ve *Drosophila melanogaster* somatik mutasyon ve in vivo rekombinasyon testi (SMART) kullanılarak incelemişlerdir.

Aruna, K. ve arkadaşları [37] Hindistanda halk arasında yaygın olarak kullanılan bazı bitkileri kanser hücre hatlarına karşı kullanmışlar ve kimyon bitkisinin kanser hücrelerini durdurduğunu saptamışlardır.

Beetstra ve arkadaşları [38], genelde bitkilerin yapraklarında bulunduğu için bu ismi almış ve bir B vitamin türü olan folik asit eksikliğinin, DNA'ya urasilin girmesini sağladığını ve dolayısıyla DNA'nın hipometilasyonuna neden olduğunu, sonuçta kromozomların yapı bozukluğuna ve kromozomların anafazda yanlış ayrılmasına sebep

olduğunu saptamışlardır. İyonize radyasyonla oluşan kromozomal düzensizlik oranını, folik asit eksikliğinin artırdığını belirlemişlerdir. Kromozom 21'in anöpoidisine apoptoz ve nekroz olayının artmasına neden olan folik asit yetersizliğinin hücreler üzerine temel mekanizmalara karışabildiği belirgin olarak gösterilmiştir.

Bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılacak olan Mitomisin C (MMC) mavimenekeşe renkte, kristal şeklinde ve suda çözünebilen bir maddedir. Suda çözünen (pH=6-9) eriyik, ışıktan korunduğu ve 5°C altındaki buzdolabında saklandığı zaman yedi gün özelliğini korumaktadır. Mitomisin C 2mg ve 10mg'lık şişelerde toz şeklinde bulunur. MMC antineoplastik (urların büyümesini önleyen) ve geniş spektrumlu bir sitostatik (hücre bölünmesini durduran) ajandır. Mitomisin C (MMC), antineoplastik ilaçlar grubuna girmektedir. Bu grupta cyclophosphamide, daunamycin, mitomycin C, streptozotocin ve uracil mustard bulunmaktadır. Mitomisin C (MMC) çeşitli kanserlerin tedavisinde kullanılan alkilleyici bir ajandır. Bu etkilerine karşın yukarıda bahsedilen pek çok çalışmada Mitomisin-C pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Buradan, bazı maddelerin kromozomların yapısını bozduğu halde bazı kanser tiplerinide önleyebileceği sonucu çıkarılabilir. Bahsi geçen konunun aydınlatılması üzerine literatürde herhangi bir bilgiye erişilememiştir.

İn-vivo kromozom hatası testi, türler arasında ve dokular arasında değişiklik göstermekle birlikte, özellikle in vivo metabolizma, farmakinetik ve DNA eşleme işlemi ile ilgili faktörlerin önem kazandığı mutajenik riski tayin etmek için uygulanır. Ayrıca, bir in vitro test yardımıyla belirlenmiş mutajenik bir etkinin daha fazla araştırılması içinde kullanışlıdır. Ancak, ulaşamayacağı test maddesinin veya bir reaktif bir

metabolitenin hedef (kullanılacak) dokuya uzanamayacağı hususunda delil varsa, bu testi kullanmak doğru değildir. Böyle bir teste kullanılacak doku, kolaylıkla izole edilebilen ve işleme tabi tutulabilen ve hızlı hücre döngüsüne sahip hücrelerden oluşması gerekir. Bu metot hayvanların uygun bir yol ve süre ile test maddesine maruz bırakılmasına ve bu sürenin sonunda öldürülerek hücrelerinin kromozomal hasar yönünden incelenmesi prensibine dayanır. Ancak, öldürmeden önce hayvanlar metafazda durdurma maddesi (örneğin; kolşisin ve kolsemid) ile muamele edilirler. Daha sonra kromozom preparasyonları yapılır, boyanır ve kromozom hatası olup olmadığını belirlemek amacıyla metafaz hücreleri analiz edilir .

İn-vitro kromozom hatası testinde ise, İn-vivo'da olduğu gibi, kültürü yapılan hücrelerde yapısal kromozom hatalarına sebep olan etkeni tespit etmek amacıyla yapılır. Bu testin prensibi, hücre kültürlerinin metabolik aktivasyonlu ya da aktivasyonsuz test maddesine maruz bırakılmasına, önceden belirlenen aralıklarda metafazda durdurulmasıdır. İn-vitro kromozom hatası testinde, oluşturulmuş hücre hatları, hücre soyları veya primer hücre kültürlerini kullanılabilir. Kullanılacak hücreler; kültürde büyütülebilirliği, karyotip kararlılığı, kromozom sayısı, kromozom farklılığı ve kromozom hatalarının kendiliğinden olan frekansı gibi özellikler dikkate alınarak seçilir.

Sonuç olarak, insanların günlük yaşantılarında sıklıkla karşılaştıkları kekik (*O. onites*) bitkisinin insan kromozomları üzerine genotoksik etkisi kromozom aberasyonu , poliploidi ve mitotik index yönünden çalışılmış ve bu bitkinin anılan kriterler bakımından insan hücrelerine belirgin bir etkisinin olmadığı kanaatine varılmıştır.

6.KAYNAKLAR

1. Baytop, T., 1984. *Türkiye Bitkileri İle Tedavi*, İÜ Yayınları, 3255 Ecz. Fak.No: 40.
2. **Farnsworth, N.R.** 1988. Screening plants for new medicines: E.O. Wilson, ed., *Biological diversity*. Washington, DC, National Academy Press,.
3. Vanderbank, H., 1949, Ergebnisse der Chemotherapie der Tuberculose, *Pharmazie*, 4: 198-207.
- 4- Dığrak, M., İlçim, A., Alma, H., Şen, S., Antimikrobiyal activites of the extracts of various plants (Valex, mimosa bark, gallnut powders, Salvia sp. And Phlomis) *Tr. J. of Biology*, 23: 241-248 (1999).
- 5- Qu, YH., Xu,GX., Zhou, JZ., Chen, TD., Zhu, LF., Shields, PG., Wang, HW., and Gao, YT., Genotoxicity of heated cooking oil vapors. *Mutat.Res.*, Dec; 298(2):105-11 (1992).
- 6- Shields, PG., Xu, GX., Blot, WJ., Fraumeni, JF. JR., Trivers, E.,Pellizzari, ED., QU, YH., Gao, YT., and Harris, CC., Mutagens from heated Chinese and U.S. cooking oils. *J. Natl. Cancer Inst.*, 87(11):836-41 (1995).
- 7- Chiang, TA., Wu, PF., Wang, LF., Lee, H., Lee, CH., and Ko, YC., Mutagenicity and polycyclic aromatic hydrocarbon content of fumes from heated cooking oils produced in Taiwan. *Mutat. Res.*, 381(2):157-61 (1997).
- 8- Sebile AZIRAK, Thymol ve carvacrol'un *in vivo* genotoksik etkilerinin araştırılması. Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora tezi, Adana 2007.
- 9- Davis P.H., Flora of Turkey and East Aegean Islands, Vol.7, Edinburgh Üniversitesi Pres, Edinburgh, s.297-313 (1982) kaynak 2-Başer, DİE, Devlet İstatistik Enstitüsü ihracat Ruloları (2000).

- 10- www.ağaçlar.Net/forum/showthread.php?t=1172 (2010).
- 11- Başer, K. H. C., Özek, T., Kürkcüoğlu, M. and Tümen, G., Essential oil of *Origanum vulgare* subsp. *hirtum* of Turkish origin. *Journal of Essential Oil Research*, 6(1): 31-36 (1994).
12. http://www.bahce.biz/organik/tibbi_organik.htm (2010).
- 13- The Turkish *Origanum* Species, K.H.C.Başer. In: *Oregano, The Genera Origanum and Lippia*, Ed.: S.E.Kintzios, Taylor and Francis, London, pp. 109-126 (2002).
- 14- <http://www.herba.com.tr/tr/mucizekekik.asp> (2010)
- 15- Weiling F (1991). "Historical study: Johann Gregor Mendel 1822–1884". *American Journal of Medical Genetics* 40 (1): 1–25; discussion 26.
- 16- <http://www.aof.anadolu.edu.tr/kitap/EHSM/1218/unite10.pdf> (2010)
- 17-Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E. 1995. *Sitogenetik*. Ç.Ü. Fen Fakültesi, Adana, 182 s.
- 18-Demirsoy, A. 1991. *Yaşamın Temel Kuralları*. Meteksan Matbaacılık ve Teknik Sanayi Tic. Ltd. Şti., Ankara, 560 s.
- 19- Suludere, Z., 1995. *Hücre Biyolojisi*. A.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, Ankara, 458 s.
- 20-Temizkan, G., 1994. *Genetik (Temel Genetik)*. İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 276 s.
- 21-Akman, Y. 1998. *Bitki Biyolojisine Giriş*, Botanik. Palme Yayıncılık, Ankara, 220 s.
- 22-Karol, S., 1998. *Hücre Biyolojisi*. A.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, Ankara, 451 s.

23-Temizkan, G., 1999. Genetik (Moleküler Genetik) İ.Ü Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 399 s

24-Solak, M. 2000. Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Yayın No:5, Afyon.

25-Budak Diler, S., “Ethil metansulfonat (EMS) ve Mitomisin C (MMC)’ye insan kromozomlarının hassasiyeti”,Doktora Tezi,**Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı**, Adana, (2006).

26-Rencüzoğulları, E. and Topaktaş, M., The Relationship between Quantities of Bromodeoxyuridine and Human Peripheral Blood with Determination of the Best Differential Staining of Sister Chromatids Using Chromosome Medium-B. Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi, 5(3),19-24 (1991).

27- Rencüzoğulları, E. and Topaktaş, M., 1991., Chromosomal Aberrations in Cultured Human Lymphocytes Treated with the Mixtures of Carbosulfan, EthylCarbamate and Ethyl Methanesulfonate. Cytologia, 65: 83-92 (2000).

28-Lazutka JR, Mierauskiene J, Slapsyte G, Dedonyte V. Genotoxicity of dill (*Anethum graveolens* L.), peppermint (*Mentha x piperita* L.) and pine (*Pinus sylvestris* L.) essential oils in human lymphocytes and *Drosophila melanogaster*. Food and Chemical Toxicology 39(5):485-492 (2001).

29-Aydin S., Öztürk Y., Beis R. and Baser K.H.C. Investigation of *Origanum onites*, *Sideritis congesta* and *Satureja cuneifolia* essential oils for analgesic activity. Phytother. Res.10: 342–344 (1996).

30-Azcan N., Kara M., Asilbekova D.T., Özek T. and Baser K.H.C. Lipids and essential oil of *Origanum onites* L. Khim. Prir. Soedin. 2: 106–109. Didry N., Dubreuil L. and

Pinkas M. (1994) Activity of thymol, carvacrol, cinnamaldehyde and eugenol on oral bacteria. *Pharm. Acta Helv.* 69(1): 25–28 (2000).

31-Zeytinoglu M., Aydin S., Öztürk Y. and Baser K.H.C. Inhibitory effects of carvacrol on DMBA induced pulmonary tumorigenesis in rats. *Acta Pharm. Turcica.* 40(2): 93–98 (1998).

32-Sameer H. Qari “*In vitro* evaluation of the anti-mutagenic effect of *Origanum majorana* extract on the meristemetic root cells of *Vicia faba* *JTUSCI* 1: 6-11 (2008)

33-N. Mezzoug, A. Elhadri, A. Dallouh, S. Amkiss, N.S. Skali, J. Abrini, A. Zhiri, D. Baudoux, B. Diallo, M. El Jaziri, M. Idaomar” Investigation of the mutagenic and antimutagenic effects of *Origanum compactum* essential oil and some of its constituents *Mutation Research* 629 100–110 (2007)

34-Marina Gálvez, Carmen Martín-Cordero, Miguel López-Lázaro, Felipe Cortés, Maria Jesús Ayuso, “Cytotoxic effect of *Plantago* spp. on cancer cell lines.” *Journal of Ethnopharmacology* 88 125–130 (2003)

35-R. Velasco-Lezama, R. Tapia-Aguilar, R. Rom´an-Ramos , E. Vega-Avila, Ma. S. P´erez Guti´errez.” Effect of *Plantago major* on cell proliferation in vitro Effect of *Plantago major* on cell proliferation in vitro” *Journal of Ethnopharmacology* 103 36–42 (2006)

36-Myrna Déciga-Campos, Isabel Rivero-Cruz, Myriam Arriaga-Alba, Gabriela Castañeda-Corral, Guadalupe E. Angeles-López, Andrés Navarrete , Rachel Matab” Acute toxicity and mutagenic activity of Mexican plants used in traditional medicine. *Journal of Ethnopharmacology* 110 334–342 (2007)

37-Aruna, K., and V. M. Sivaramakrishnan. Anticarcinogenic effects of some indian plant-products. *Food and Chemical Toxicology* 30 953-956 (1992).

38-Beetstra, S., Thomas, P., Salisbury, C., Turner, J., Fenech.M. Folic acid deficiency increases chromosomal instability, chromosome 21 aneuploidy and sensitivity to radiation-induced micronuclei. *Mutation Research* 578 317–326 (2005).

7. ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı : Seyyal ARAS

Doğum Yeri : Kars

Doğum Tarihi : 25.12.1981

Medeni Hali : Bekar

Yabancı Dili : İngilizce

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Kars Cumhuriyet Lisesi 1999

Lisans : Sivas Cumhuriyet Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesi Antropoloji
Bölümü-2005

Yüksek Lisans: Kafkas Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü–2010