

**BAZI BİTKİSEL DOĞAL BİLEŞİKLERİN OLASI
GENOTOKSİK/ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN
İN VİTRO VE İN VİVO GENOTOKSİTE TEST
YÖNTEMLERİ İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Özgür VATAN



T.C.
ULUDAĞ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**BAZI BİTKİSEL DOĞAL BİLEŞİKLERİN OLASI
GENOTOKSİK/ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN İN VİTRO VE İN VİVO
GENOTOKSİTE TEST YÖNTEMLERİ İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK
ARAŞTIRILMASI**

Özgür VATAN

Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU
(Danışman)

DOKTORA TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Bursa – 2012
Her Hakkı Saklıdır

TEZ ONAYI

Özgür VATAN tarafından hazırlanan ‘Bazı Bitkisel Doğal Bileşiklerin Olası Genotoksik/Antigenotoksik Etkilerinin İn vitro ve İn Vivo Genotoksite Test Yöntemleri İle Karşılaştırmalı Olarak Araştırılması’ adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından oy birliği ile Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı’nda **DOKTORA TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU

Başkan : Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU
Uludağ Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Anabilim Dalı
İmza

Üye : Prof. Dr. Berrin TUNCA
Uludağ Ü. Tıp Fakültesi,
Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı
İmza

Üye : Prof. Dr. Feray KÖÇKAR
Balıkesir Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Anabilim Dalı
İmza

Üye : Doç. Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ
Uludağ Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Anabilim Dalı
İmza

Üye : Doç. Dr. Tolga ÇAVAŞ
Uludağ Ü. Fen-Edebiyat Fakültesi,
Biyoloji Anabilim Dalı
İmza

Yukarıdaki sonucu onaylarım

Prof. Dr. Kadri ARSLAN
Enstitü Müdürü
. .2012

U.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada:

- tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

21 .12. 2012

Özgür VATAN

ÖZET

Doktora Tezi

BAZI BİTKİSEL DOĞAL BİLEŞİKLERİN OLASI GENOTOKSİK/ANTİGENOTOKSİK ETKİLERİNİN İN VİTRO VE İN VİVO GENOTOKSİTE TEST YÖNTEMLERİ İLE KARŞILAŞTIRMALI OLARAK ARAŞTIRILMASI

Özgür VATAN

Uludağ Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU

Günümüzde, insanlar bilerek veya bilmeyerek pek çok genotoksik ajanın DNA üzerindeki zararlı etkisi ile karşı karşıyadır. Söz konusu genotoksik ajanların etkisi insanlarda kanserleşmeye kadar varabilen dramatik süreçlerin başlangıç noktasını oluşturabilir. Bu nedenle, çeşitli genotoksik ajanların etkilerini indirgeyebilecek, antigenotoksik ajanların tanımlanabilmesine yönelik araştırmalar gün geçtikçe artmaktadır. Bu çalışma da Tyrosol (TYR) ve Karnosik asitin (KAR) olası genotoksik ve antigenotoksik etkileri çeşitli *in vivo* ve *in vitro* genotoksite test yöntemleri kullanılarak araştırılmıştır.

Antigenotoksik etkinin belirlenebilmesi için genotoksik etkisi bilinen Mitomisin C (MMC) ve Siklofosfamid (SKF) (*in vitro* da 4 Hidroperoksisiklofosfamid *SKF) kullanılmıştır. TYR'nin genotoksik / antigenotoksik etkileri *in vivo* MN, CA ve Komet yöntemleri ile fare kemik iliği hücreleri kullanılarak araştırılmıştır. TYR ve KAR'ın genotoksik / antigenotoksik etkileri *in vitro* MN, CA, SCE ve Komet yöntemleri ile insan periferik kan lenfositleri kullanılarak araştırılmıştır. TYR için *in vivo* da intra peritoneal (İP) enjeksiyon yapılarak doz grupları oluşturulmuştur. TYR için *in vivo* da oluşturulan deney grupları, Kontrol, Etil alkol (EtOH), 50, 100, 200 mg/kg TYR, MMC, MMC + 50, 100, 200 mg/kg TYR, SKF, SKF + 50, 100, 200 mg/kg TYR, şeklindedir. *İn vitro* deney grupları ise; Kontrol, EtOH, 0,5, 1, 2 µg/mL TYR ve KAR, MMC, MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL TYR ve KAR, *SKF, *SKF + 0,5 ; 1; 2 µg/mL TYR ve KAR şeklindedir.

Genel olarak, TYR için hem *in vivo* hem de *in vitro* dozlarımızın herhangi bir genotoksik etkisi görülmemiştir. Bununla birlikte TYR'nin *in vivo* da MMC ve SKF tarafından indüklenen DNA hasarını indirgediği belirlenmiştir. *İn vitro* deneylerde de hem TYR hem de KAR için kullanılan dozlarımızın genotoksik etkisi görülmemiştir. Bununla birlikte hem TYR hem de KAR'ın MMC ve *SKF tarafından indüklenen DNA hasarını indirgedikleri belirlenmiştir. Sonuç olarak hem TYR hem de KAR'ın MMC ve SKF(*SKF)'nin genotoksik etkilerine karşın, güçlü bir antigenotoksik etki gösterdiği ortaya konulmuştur.

Anahtar Kelimeler: Tyrosol, Karnosik asit, genotoksite, antigenotoksite, *İn vivo*, *İn vitro*, MN, CA, SCE, Komet.

2012, xiii + 227 sayfa

ABSTRACT

PhD Thesis

COMPARATIVE INVESTIGATION OF SOME NATURAL HERBAL
COMPOUNDS OF POSSIBLE GENOTOXIC / ANTIGENOTOXIC EFFECTS BY IN
VITRO AND IN VIVO GENOTOXICITY TESTS

Özgür VATAN

Uludag University

Graduate School of Natural and Applied Sciences

Department of Biology

Supervisor: Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU

Nowadays, people knowingly or unknowingly, are faced with harmful effects of many genotoxic agents on the DNA. Genotoxic effect of these agents can be the starting point for the dramatic processes that can lead to cancer. For this reason, there are increasing researches about identification of new anti genotoxic agents having antigenotoxic effect against various genotoxic agents. In this study, we investigated the possible genotoxic and anti genotoxic effects of Tyrosol (TYR) and Carnosic acid (CAR) by various genotoxicity tests.

In order to determine of an antigenotoxic effect of TYR and KAR, the Mitomycin C (MMC) and Cyclophosphamide (CP) (4 hydroperoxycyclophosphamide *CP in *in vitro*) were used which are known as genotoxic agents. Genotoxic / anti genotoxic effects of TYR were investigated with *in vivo* MN, CA and Comet methods by using mouse bone marrow cells. Also, genotoxic / antigenotoxic effect of TYR and KAR were investigated with *in vitro* MN, CA, SCE and Comet methods by using human peripheral blood lymphocytes. Dose groups were formed with intraperitoneal (ip) injection for *in vivo* assay for TYR group. *In vivo* experimental groups for TYR, included; Control, ethyl alcohol (EtOH), 50, 100, 200 mg / kg TYR, MMC, MMC + 50 mg / kg TYR, MMC + 100 mg / kg TYR, MMC + 200 mg / kg TYR, CP, CP + 50 mg/kg TYR, CP + 100 mg/kg TYR, CP + 200 mg/kg TYR groups. *In vitro* experimental groups included; Control, Ethyl alcohol (EtOH), 0,5, 1 and 2 µg/mL TYR, 0,5, 1 and 2 µg/mL CAR, MMC, MMC + 0,5, 1, 2 µg/mL TYR and MMC + 0,5, 1, 2 µg/mL CAR, *CP, *CP + 0,5, 1, 2 µg/mL TYR and *CP + 0,5, 1, 2 µg/mL CAR groups.

In generally, any genotoxic effect has not determined for TYR in *in vitro* and *in vivo*. Also, any genotoxic effects of CAR were not determined in *in vitro*. In additionally, it was observed that CAR and TYR have strong antigenotoxic effect against genotoxic effect of MMC and CP (*CP) *in vitro* and *in vivo*

Key words: Tyrosol, Carnosic asid, Genotoxicity, Antigenotoxicity, *in vivo*, *in vitro*, MN, CA, SCE, Comet.

2012, xiii + 227 pages

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın her aşamasında yardım, öneri ve desteğini esirgemeyen danışman Hocam, Prof. Dr. Rahmi BİLALOĞLU'na,

Tez deneylerimde, deneyimlerimden ve yardımlarımdan faydalandığım Doç.Dr. Nilüfer ÇİNKİLİÇ'a

Deney aşamalarında yardımlarını esirgemeyen arkadaşım, Arş. Gör. Dilek YILMAZ'a

Bütün bu zahmetli süreçte her türlü desteğini benden esirgemeyen sevgili eşime ve varlığı ile motivasyonumu arttıran sevgili kızıma,

Sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışma, "U.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Komisyon Başkanlığı" tarafından UAP (F) 2010/27 nolu Bilimsel Araştırma projesi olarak desteklenmiştir.

Bu çalışma "U.Ü. Hayvan Deneyleri Yerel Etik Kurulu" nun 2009-10/03 nolu izni ile gerçekleştirilmiştir.

Özgür VATAN
21.12. 2012

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	ix
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. KURAMSAL TEMELLER.....	5
2.1. DNA Hasarları.....	5
2.2. DNA Hasar Ajanları	14
2.2.1. Mitomisin C.....	14
2.2.2. Siklofosfamid.....	16
2.3. DNA Hasarı Belirleme Yöntemleri.....	18
2.3.1. Mikronükleus Yöntemi.....	18
2.3.2. Kromozom Aberasyonları Yöntemi.....	24
2.3.3. Kardeş Kromatid Değişimi Yöntemi.....	27
2.3.4. Komet Yöntemi.....	29
2.4. Antioksidanlar.....	31
2.4.1. Tyrosol.....	32
2.4.2. Karnosik asit.....	38
3. MATERYAL ve YÖNTEM	49
3.1. Kullanılan Cihazlar, Kimyasallar ve Çözeltiler.....	49
3.2. <i>In vivo</i> Deneyler	52
3.2.1. Deneylerde Kullanılan Hayvanlar.....	52
3.2.2. <i>In vivo</i> Doz Denemeleri.....	52
3.2.3. <i>In vivo</i> Deney Grupları.....	52
3.2.4. <i>In vivo</i> MN Testi.....	53
3.2.5. <i>In vivo</i> CA Testi.....	54
3.2.6. <i>In vivo</i> Komet Testi	55
3.3. <i>In vitro</i> Deneyler	56
3.3.1. <i>In vitro</i> Deneylerde Kullanılan Donörler	56
3.3.2. <i>In vitro</i> Doz Denemeleri	56
3.3.3. <i>In vitro</i> Deney Grupları.....	57
3.3.4. <i>In vitro</i> MN Testi.....	58
3.3.5. <i>In vitro</i> CA Testi.....	59
3.3.6. <i>In vitro</i> SCE Testi.....	60
3.3.7. <i>In vitro</i> Komet Testi.....	61
3.4. Karşılaştırmalar.....	62
4. BULGULAR.....	64
4.1. <i>In vivo</i> Deneylerin Bulguları	64
4.1.1. <i>In vivo</i> doz Denemeleri Bulguları.....	64
4.1.2. <i>In vivo</i> MN testi Bulguları	66
4.1.3. <i>In vivo</i> CA testi Bulguları	73
4.1.4. <i>In vivo</i> Komet testi Bulguları	87

4.2. <i>İn vitro</i> Deneylerin Bulguları.....	99
4.2.1. <i>İn vitro</i> Doz denemelerinin Bulguları.....	99
4.2.2. TYR uygulamaları için <i>in vitro</i> MN testi Bulguları.....	101
4.2.3. KAR uygulamaları için <i>in vitro</i> MN testi Bulguları.....	108
4.2.4. TYR uygulamaları için <i>in vitro</i> CA testi Bulguları.....	115
4.2.5. KAR uygulamaları için <i>in vitro</i> CA testi Bulguları.....	130
4.2.6. TYR uygulamaları için <i>in vitro</i> SCE testi Bulguları.....	145
4.2.7. KAR uygulamaları için <i>in vitro</i> SCE testi Bulguları.....	156
4.2.8. TYR uygulamaları için <i>in vitro</i> komet testi Bulguları.....	167
4.2.9. KAR uygulamaları için <i>in vitro</i> komet testi Bulguları.....	176
4.3. Karşılaştırma Bulguları.....	185
4.3.1. <i>İn vivo</i> - <i>in vitro</i> TYR karşılaştırma bulguları.....	185
4.3.2. <i>İn vitro</i> TYR ve <i>in vitro</i> KAR karşılaştırma bulguları.....	187
5. TARTIŞMA VE SONUÇ.....	190
KAYNAKLAR.....	206
ÖZGEÇMİŞ.....	224

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler	Açıklama
μL	Mikrolitre
μm	Mikrometre
Br	Brom
H	Hidrojen
KCl	Potasyum Klorür
kg	Kilogram
KH_2PO_4	Potasyum Dihidrojen Fosfat
l	Litre
mg	Miligram
mL	Mililitre
Na_2HPO_4	Disodyum Hidrojen Fosfat
NaCl	Sodyum Klorür
NaOH	Sodyum Hidroksit
O	Oksijen
$^{\circ}\text{C}$	Derece Santigrad
V	Volt
mA	Miliamper
Kısaltmalar	Açıklama
*SKF	4 Hidroperoksisiklofosfamid
8- oxo-dG	8 – Oksijen deoksiguanozin
BNH	Bir Nükleuslu Hücre
BrDU	5 Brom Deoksi Uridin

CA	Chromosome Aberrations (Kromozom Aberasyonları)
CAS	Chemical Abstracts Service
DMSO	Dimetil Sülfoksit
DNA	Deoksiribo Nükleik Asit
DNH	Dört Nükleuslu Hücre
EDTA	Etilen Diamin Tetra Asetikası
EtOH	Etanol
FDA	Food and Drug Administration; Amerika Gıda ve ilaç dairesi
G	Gap
HBSS	Hanks Balanced Salt Solution
ICH	The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; Uluslararası, Beşeri ilaçların ruhsatlandırılmasında, uyumlu teknik gereksinimler konferansı.
İNH	İki Nükleuslu Hücre
KAR	Karnosik Asit
LMA	Low Melting Agarose (Düşük Erime noktalı Agaroz)
Mİ	Mitotik İndeks
MMC	Mitomisin C
MN	MicroNuclei (Mikro Nükleus)
NCE	Normokromatik Eritrosit
NDI	Nuclear Division Index (Nükleus Bölünme İndeksi)
OTM	Olive Tail Moment
P	Pulverize
PBS	Phosphate Buffered Saline (Tuzlu Fosfat Tamponu)
PCE	Polikromatik Eritrosit

PCR	Polimeraz Chain Reaction (Polimeraz Zincir Reaksiyonu)
Rİ	Replikatif İndeks
RNA	Ribo Nükleik Asit
ROS	Reactive Oxygen Species (Reaktif Oksijen Türleri)
rpm	Revolutions per minute (Dakikadaki Devir)
SCE	Sister Chromatid Exchange (Kardeş Kromatid Değişimi)
SKF	Siklofosfamid
SMART	Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi
SSC	Saline Sodium Citrat (Tuzlu Sodyum Sitrat)
TA	Toplam Aberasyon
TYR	Tyrosol
UV	Ultraviolet
ÜNH	Üç Nükleuslu Hücre
IARC	International Agency for Research on Cancer; Uluslararası Kanser araştırmaları Ajansı

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2.1.	Genotoksik ajanların DNA üzerindeki direkt ve dolaylı etkileri ve sonuçları.....	6
Şekil 2.2.	İyonize Radyasyon'un hücresel hasar etkileri.....	7
Şekil 2.3.	Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri ve DNA üzerine etkileri.....	8
Şekil 2.4.	Serbest radikaller aracılığı ile DNA hasar	10
Şekil 2.5.	Guanin'in hidroksil radikali ile reaksiyonu sonrası oluşabilecek olası modifiye bazlar	11
Şekil 2.6.	Modifiye bazların noktsyon oluşumundaki rolü	12
Şekil 2.7.	DNA'da serbest radikaller aracılığı ile oluşturulabilinen şeker hasarlarına örnekler	13
Şekil 2.8.	Serbest radikaller aracılığı ile Siklopurin deoksiguanozin oluşumuna örnek.....	14
Şekil 2.9.	MMC'nin kimyasal yapısı.....	15
Şekil 2.10.	MMC'nin Redoks siklusu	16
Şekil 2.11.	SKF'nin kimyasal yapısı.....	17
Şekil 2.12.	Siklofosfamid'in oksidatif DNA hasarı oluşturma mekanizması	17
Şekil 2.13.	Mikronukleus formasyonun temel mekanizması.....	19
Şekil 2.14.	MN oluşum mekanizmalarında mikrotübüllerin rolü.....	20
Şekil 2.15.	MN oluşumunda Tubülinlerin rolü.....	20
Şekil 2.16.	MN oluşumunda kinetektorların rolü.....	21
Şekil 2.17.	MN oluşumunda geç replikasyonun rolü.....	21
Şekil 2.18.	MN oluşumunda NPB (Nükleoplazmik Köprü) lerin rolü.....	22
Şekil 2.19.	MN oluşumunda BFB (Kırık-Kaynaşma-Köprü) lerin rolü.....	23
Şekil 2.20.	CA oluşum mekanizması örnekleri	26
Şekil 2.21.	SCE Oluşum Mekanizması.....	29
Şekil 2.22.	Komet Yöntemi.....	30
Şekil 2.23.	Antioksidan, serbest radikal etkileşimi.....	32
Şekil 2.24.	Tyrosol'un Kimyasal yapısı	32
Şekil 2.25.	Karnosik asit'in Kimyasal yapısı.....	38
Şekil 4.1.	<i>İn vivo</i> Doz denemeleri 1000 PCE başına düşen MN frekanslar.....	65
Şekil 4.2.	<i>İn vivo</i> Doz denemeleri PCE / NCE değerleri.....	66
Şekil 4.3.	<i>İn vivo</i> MN testi sonunda hazırlanan preperatlardan örnek mikroskopik görüntü.....	69
Şekil 4.4.	<i>İn vivo</i> MN testi 1000 PCE deki MN frekansları.....	71
Şekil 4.5.	<i>İn vivo</i> MN testi PCE / NCE oranları	71
Şekil 4.6.	<i>İn vivo</i> da MMC tarafından indüklenen MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	72
Şekil 4.7.	<i>İn vivo</i> da SKF tarafından indüklenen MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	72
Şekil 4.8.	<i>İn vivo</i> CA testi sonunda hazırlanan preperatlardan örnek mikroskopik görüntü.....	75
Şekil 4.9.	<i>İn vivo</i> CA deneyi sonucunda elde edilen ortalama Toplam aberasyon değerleri	81

Şekil 4.10.	<i>İn vivo</i> CA deneyi sonucunda elde edilen ortalama, Gap ve pulverizasyon hariç toplam aberasyon değerleri.....	82
Şekil 4.11.	<i>İn vivo</i> da MMC tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	83
Şekil 4.12.	<i>İn vivo</i> da SKF tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	83
Şekil 4.13.	<i>İn vivo</i> da MMC tarafından indüklenen TA- (G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	84
Şekil 4.14.	<i>İn vivo</i> da SKF tarafından indüklenen TA- (G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	84
Şekil 4.15.	<i>İn vivo</i> CA deneyi sonucunda elde edilen % Mitotik İndeks değerleri.....	87
Şekil 4.16.	<i>İn vivo</i> komet testi sonunda hazırlanan preparatlardan örnek mikroskopik görüntü.....	88
Şekil 4.17.	<i>İn vivo</i> Komet testi Kuyruk Uzunluğu verileri.....	90
Şekil 4.18.	<i>İn vivo</i> da MMC tarafından indüklenen K.U. frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	91
Şekil 4.19.	<i>İn vivo</i> da SKF tarafından indüklenen K.U. frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	92
Şekil 4.20.	<i>İn vivo</i> komet testi Kuyruk % DNA içeriği verileri.....	94
Şekil 4.21.	<i>İn vivo</i> da MMC tarafından indüklenen K. %DNA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	95
Şekil 4.22.	<i>İn vivo</i> da SKF tarafından indüklenen K. %DNA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	95
Şekil 4.23.	<i>İn vivo</i> komet testi OTM verileri.....	97
Şekil 4.24.	<i>İn vivo</i> da MMC tarafından indüklenen OTM frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	98
Şekil 4.25.	<i>İn vivo</i> da SKF tarafından indüklenen OTM frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	98
Şekil 4.26.	<i>In vitro</i> doz denemeleri MN bulguları.....	100
Şekil 4.27.	<i>In vitro</i> doz denemeleri NDI bulguları.....	101
Şekil 4.28.	TYR için <i>in vitro</i> MN testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği.....	104
Şekil 4.29.	TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> MN deneyinde 1000 İNH 'de ki MN frekans değerleri.....	106
Şekil 4.30.	TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> MN deneyinde NDI değerleri.....	106
Şekil 4.31.	<i>İn vitro</i> da MMC tarafından indüklenen 1000 İNH'de MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	107
Şekil 4.32.	<i>İn vitro</i> da *SKF tarafından indüklenen 1000 İNH'de MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	107
Şekil 4.33.	KAR için <i>in vitro</i> MN testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği.....	111
Şekil 4.34.	KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> MN deneyinde 1000 İNH 'de ki MN frekans değerleri.....	113
Şekil 4.35.	KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> MN deneyinde NDI değerleri.....	113
Şekil 4.36.	MMC tarafından indüklenen 1000 İNH'de MN frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi.....	114

Şekil 4.37.	*SKF tarafından indüklenen 1000 İNH'de MN frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi.....	114
Şekil 4.38.	TYR için <i>in vitro</i> CA testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği	118
Şekil 4.39.	TYR için <i>in vitro</i> CA Deneylelerinden elde edilen ortalama TA değerleri	124
Şekil 4.40.	TYR için <i>in vitro</i> CA Deneylelerinden elde edilen ortalama TA-(G+P) değerleri.	125
Şekil 4.41.	MMC tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi	126
Şekil 4.42.	*SKF tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi	126
Şekil 4.43.	MMC tarafından indüklenen T –(G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi	127
Şekil 4.44.	*SKF tarafından indüklenen TA – (G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi	127
Şekil 4.45.	TYR için <i>in vitro</i> CA Deneylelerinden elde edilen ortalama %Mİ değerleri.....	130
Şekil 4.46.	KAR için <i>in vitro</i> CA testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği	133
Şekil 4.47.	KAR için <i>in vitro</i> CA Deneylelerinden elde edilen ortalama TA değerleri	139
Şekil 4.48.	KAR için <i>in vitro</i> CA Deneylelerinden elde edilen ortalama TA – (G+P) değerleri.....	140
Şekil 4.49.	MMC tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi	141
Şekil 4.50.	*SKF tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi.....	141
Şekil 4.51.	MMC tarafından indüklenen TA – (G+P) frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi.....	142
Şekil 4.52.	*SKF tarafından indüklenen TA – (G+P) frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi.....	142
Şekil 4.53.	KAR için <i>in vitro</i> CA Deneylelerinden elde edilen ortalama %Mİ değerleri	145
Şekil 4.54.	TYR için <i>in vitro</i> SCE testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği	149
Şekil 4.55.	TYR için <i>in vitro</i> SCE deneylelerinde Hücre başına düşen ortalama SCE frekansları	151
Şekil 4.56.	TYR için <i>in vitro</i> SCE deneylelerinde Kromozom başına düşen ortalama SCE frekansları.....	151
Şekil 4.57.	MMC tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi	152
Şekil 4.58.	*SKF tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi.....	153
Şekil 4.59.	MMC tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi	153
Şekil 4.60.	*SKF tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi	154

Şekil 4.61.	TYR <i>in vitro</i> SCE uygulamalarının ortalama Rİ değerleri	156
Şekil 4.62.	KAR için <i>in vitro</i> SCE testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği	160
Şekil 4.63.	KAR için <i>in vitro</i> SCE deneylerinde Hücre başına düşen ortalama SCE frekansları	162
Şekil 4.64.	KAR için <i>in vitro</i> SCE deneylerinde Kromozom başına düşen ortalama SCE frekansları.....	162
Şekil 4.65.	MMC tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi	163
Şekil 4.66.	*SKF tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi	164
Şekil 4.67.	MMC tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi	164
Şekil 4.68.	*SKF tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi.....	165
Şekil 4.69.	KAR <i>in vitro</i> SCE uygulamalarının ortalama Rİ değerleri	166
Şekil 4.70.	<i>İn vitro</i> TYR uygulamaları için hazırlanan komet preparatlarından elde edilen mikroskopik görüntü örneği	168
Şekil 4.71.	TYR için <i>in vitro</i> komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk Uzunluğu (µm) değerleri	170
Şekil 4.72.	<i>İn vitro</i> 'da *SKF tarafından indüklenen K.U. frekansına artan TYR dozunun etkisi	171
Şekil 4.73.	TYR için <i>in vitro</i> komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk % DNA değerleri	172
Şekil 4.74.	<i>İn vitro</i> 'da *SKF tarafından indüklenen K.% DNA frekansına artan TYR dozunun etkisi	173
Şekil 4.75.	TYR için <i>in vitro</i> komet testinde elde edilen ortalama OTM değerleri	175
Şekil 4.76.	<i>İn vitro</i> 'da *SKF tarafından indüklenen OTM frekansına artan TYR dozunun etkisi.	175
Şekil 4.77.	<i>in vitro</i> KAR uygulamaları için hazırlanan komet preparatlarından elde edilen mikroskopik görüntü örneği	177
Şekil 4.78.	KAR için <i>İn vitro</i> komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk Uzunluğu (µm) değerleri	179
Şekil 4.79.	<i>İn vitro</i> 'da *SKF tarafından indüklenen K.U. frekansına artan KAR dozunun etkisi.....	180
Şekil 4.80.	KAR için <i>in vitro</i> komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk % DNA değerleri	181
Şekil 4.81.	KAR için <i>in vitro</i> 'da *SKF tarafından indüklenen K.% DNA frekansına artan KAR dozunun etkisi	182
Şekil 4.82.	KAR için <i>in vitro</i> komet testinde elde edilen ortalama OTM değerleri	184
Şekil 4.83.	<i>İn vitro</i> 'da *SKF tarafından indüklenen OTM frekansına artan KAR dozunun etkisi	184

ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa
Çizelge 4.1. <i>İn vivo</i> Doz denemeleri MN sonuçları.....	65
Çizelge 4.2. <i>İn vivo</i> MN testi sonuçları	70
Çizelge 4.3. <i>İn vivo</i> CA testi bulgularının sonuçları	76
Çizelge 4.4. <i>İn vivo</i> CA testi bulgularının ortalamaları.....	81
Çizelge 4.5. <i>İn vivo</i> CA testinde elde edilen % Mİ değerleri.....	86
Çizelge 4.6. <i>İn vivo</i> komet testinde elde edilen ortalama değerler	89
Çizelge 4.7. <i>İn vitro</i> doz denemeleri bulguları	100
Çizelge 4.8. TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> MN testi sonuçlarının ortalamaları...	105
Çizelge 4.9. KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> MN testi sonuçlarının ortalamaları.	112
Çizelge 4.10. TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> CA testinin bulguları.....	119
Çizelge 4.11. TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> CA testi ortalamaları.....	124
Çizelge 4.12. TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> CA testi % Mİ değerleri.....	129
Çizelge 4.13. KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> CA testi bulguları.....	134
Çizelge 4.14. KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> CA testi ortalamaları	139
Çizelge 4.15. KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> CA testi % Mİ değerleri	144
Çizelge 4.16. TYR uygulamaların <i>in vitro</i> SCE testi bulguları.....	150
Çizelge 4.17. TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> SCE testi ortalama Rİ değerleri.....	155
Çizelge 4.18. KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> SCE testi bulguları.....	161
Çizelge 4.19. KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> SCE testi ortalama Rİ değerleri.....	166
Çizelge 4.20. TYR uygulamalarının <i>in vitro</i> komet testi bulguları.....	167
Çizelge 4.21. KAR uygulamalarının <i>in vitro</i> komet testi bulguları.....	176
Çizelge 4.22. <i>İn vivo</i> , <i>İn vitro</i> TYR uygulamalarının % indirgeme değerleri üzerinden karşılaştırmaları.....	186
Çizelge 4.23. <i>İn vitro</i> TYR <i>in vitro</i> KAR uygulamalarının % indirgeme değerleri üzerinden karşılaştırmaları	189

1. GİRİŞ

Genetik materyalimiz olan DNA bir çok eksojen ya da endojen kaynaklı ajanın sürekli olarak tehdidi altındadır. Bilerek ya da bilmeyerek maruz kaldığımız kimyasal veya fiziksel etmenleri eksojen kaynaklı ajanlar olarak sayabiliriz. Endojen kaynaklı ajanlar olarak ise metabolik faaliyetlerimiz sonrasında oluşan ve DNA gibi hücrede pek çok makromoleküle zarar verebilen Reaktif Oksijen Türleri (Reactive Oxygen Species: ROS) sayılabilir (Evans ve Cooke 2004, Evans ve ark. 2004).

Kalıtım materyalindeki hasarlar onarılmadan kalırsa normalden sapma olarak ta değerlendirilebilen mutasyonlar meydana gelir. Mutajen- hedef etkileşimi sonucu farklı tiplerde DNA hasarları (DNA adduct, alkalik hassas bölgeler, zincir kırıkları) oluşabilir ve mutasyonlar bir nükleotid değişiminden (gen mutasyonu) yapısal (kromozom mutasyonu) veya sayısal kromozom değişimine (genom mutasyonu) kadar değişik düzeylerde olmaktadır. Sonuç olarak Genetik materyalimizde oluşan hasarlar çok çeşitli olabilmektedir. Bunlar nokta mutasyonlardan, kromozomlarda kırıklara kadar değişen geniş bir yelpaze içerisinde değerlendirilebilir (Bertram, 2000, Burrus ve Waldor, 2004. Aminetzach ve ark. 2005. Sawyer ve ark., 2007). Meydana gelen bir DNA hasarı birçok proteinin koordineli çalıştığı çeşitli onarım mekanizmaları tarafından tamir edilir. Bu nedenle DNA hasarına karşı pek çok moleküler mekanizma gelişmiştir. DNA'da oluşan hasarların çok büyük çoğunluğu onarım sistemleri aracılığı ile onarılmaktadır (Hoeijmakers 2001, Lord ve ark. 2006). DNA'da oluşan hasarlar onarılarak uzaklaştırılabildiği gibi, hasar içeren hücreler organizmadan apoptozis ile de uzaklaştırılabilir (Decordier ve ark. 2002). Her iki yolla da uzaklaştırılmayan hasarlar kalıcı kalıtsal değişiklikler ve/veya kanserleşme gibi istenmeyen durumlara neden olabilmektedir (Bonassi ve ark. 2011). Günümüzde pek çok mutajen ajanın aynı zamanda kanserojen olduğunu da gösteren pek çok kanıt bulunmaktadır (Stich ve Dunn, 1986, Kaderlik ve ark. 1992, Cross ve Sinha 2004, Editorial 2005, Bonassi ve ark. 2011).

DNA'da oluşan hasarların belirlenebilmesi için günümüzde farklı teknikler kullanılmaktadır. Bu tekniklerin bir kısmı özellikle nokta mutasyonlarını belirlemeye

yönelik Polimeraz zincir reaksiyonu temelli (Polymerase Chain Reaction, PCR) yöntemlerdir. Bunların dışında DNA’da oluşacak hasarların belirlenmesine yönelik farklı yöntemler de bulunmaktadır. Bu yöntemler günümüzde çeşitli ajanların DNA üzerindeki hasar oluşturma potansiyellerinin, yani genotoksik etkilerinin belirlenmesinde sıklıkla kullanılan testlerdir. Bunların başlıcaları; Mikronükleus (Micronuclei, MN), Kromozom Aberasyonu (Chromosome aberration, CA), Kardeş Kromatid Değişimi (Sister Chromatid Exchange, SCE) ve Komet (Single Cell Gel Electrophoresis SCGE) testleridir (OECD 1986, 1997a,b,c,d, Tice ve ark. 2000, Bonassi ve ark. 2001) .

DNA da oluşan hasarların dramatik sonuçlarından biri de kanser ve mutasyonlarla ilişkili diğer hastalıklardır. Kanser ve mutasyonlarla ilişkili diğer hastalıklardan korunmak için, DNA da hasar oluşturacak, potansiyel mutajenlere maruz kalmaktan kaçınmak kuşkusuz ki çok önemli bir korunma yöntemidir. Ancak günümüzde kimyasal engelleme (Chemoprevention) olarak bilinen ve uygun farmakolojik ajanlar veya diyetel faktörler tarafından sağlanan çeşitli bileşikler ile organizmaların savunma mekanizmalarını güçlendirme stratejisi de oldukça önemli görülmektedir. Kimyasal engelleme stratejisi risk faktörlerinden kaçınmanın yanında koruyucu faktörlerin de önemini vurgulayan bir stratejidir (Editorial 2005, Taner 2007).

Birçok mutajen ve kanserojen, çeşitli oksijen radikalleri oluşturmak suretiyle DNA üzerine etki eder (Marnett ve Plataras 2001). Bundan dolayı serbest radikalleri etkisiz hale getiren antioksidan maddeler veya serbest radikal süpürücü etkiye sahip diyetel bileşikler çoğu zaman antimutajenik ve/veya antikanserojenik olarak adlandırılır (Wang ve ark., 1989). Temel olarak düşük konsantrasyonlarda substratlarının oksitlenmesini engelleyen veya geciktiren bileşikler antioksidan olarak tanımlanır (Nordberg ve Arner 2001).

İnsanlar sahip oldukları detoksifikasyon sistemleri ve antioksidan savunma sistemleri sayesinde maruz kaldıkları ajanların olumsuz etkilerine karşı koymaktadırlar. Bu noktada vücudumuzda bulunan doğal antioksidan savunma mekanizması oldukça önemlidir. Ancak yaş ilerledikçe doğal antioksidan üretimi giderek yavaşlamaktadır

(Madrigal-Bujaidar ve ark. 1998, Mallins ve ark. 2001, Taner 2007). Bu nedenle günümüzde pek çok insan dışarıdan antioksidan takviyesi almaktadır. Özellikle DNA ile etkileşerek gen ve kromozom mutasyonları oluşturan genotoksik kanserojenler ile baş edebilmek için antioksidanların varlığı çok önemlidir. Bu nedenle özellikle kimyasal engelleme stratejisi çerçevesinde genotoksik ajanların hasar etkilerini en aza indirebilmek adına etkili antijenotoksik maddelerin tanımlanması ve insanlarda kullanımının arttırılması, kanser ve mutasyonlarla ilişkili diğer hastalıklardan korunmada çok önemli bir basamak olarak görülmektedir (Ferguson 1994, Madrigal-Bujaidar ve ark. 1998, Garcia ve ark. 2006, Taner 2007).

Bu strateji doğrultusunda, günümüzde bilerek ya da bilmeyerek maruz kalınan çeşitli fiziksel veya kimyasal ajanların DNA'mızda meydana getirebileceği hasarları (genotoksik etkileri) minimum düzeyde tutabilmek için, koruyucu etkiye sahip olduğu düşünülen farklı maddeler (antijenotoksik)'in etkileri araştırılmaktadır. Özellikle doğal bitkisel bileşikler bu anlamda gün geçtikçe artan bir popüleriteye sahiptirler (Editorial 2005).

Bu çalışmada tüm bunlara paralel olarak, özellikle zeytinyağı ve beyaz şarabın önemli fenolik antioksidanlarından olan Tyrosol (TYR; Tيروسول) 'ün (Miró-Casas ve ark. 2001, De Stefano ve ark. 2010) olası genotoksik ve antijenotoksik etkileri araştırıldı. TYR'nin bu etkilerinin araştırılması için *in vivo* olarak Swiss albino balb/c türü farelerde, MN, CA ve Komet testleri kullanıldı. *In vitro* olarak ta insan periferik kan lenfosit kültürlerinde MN, CA, SCE ve Komet yöntemleri kullanıldı. TYR'nin olası antijenotoksik etkilerinin belirlenebilmesi için hem *in vivo* hem de *in vitro* da TYR'nin farklı dozları, genotoksik etkili oldukları bilinen ajanlar olan Mitomisin C (MMC), Siklofosfamid (SKF) veya 4 hidroperoksisiklofosfamid (*SKF, *in vitro* da) ile kombinlenerek kullanıldı.

Benzer şekilde, Rosmarinus officinalis (biberiye) bitkisinin önemli aktif, antioksidan bileşiklerinden olan Karnosik asit'in (KAR) (Aruoma ve ark. 1992, Frankel ve ark. 1996, al-Sereiti ve ark. 1999, Moran ve ark. 2005, Costa ve ark. 2007, Anderson ve ark. 2008, Ngo ve ark. 2011) olası genotoksik etkileri insan periferik kan lenfosit

kültürlerinde *in vitro* MN, CA, SCE ve Komet yöntemleri kullanılarak araştırıldı. Karnosik asit'in olası antigenotoksik etkileri ise *in vitro* da MMC ve *SKF ile farklı Karnosik asit dozları kombinlenerek araştırıldı.

Yapılan literatür taramasında gerek Tyrosol'ün gerekse Karnosik asitin, olası genotoksik etkilerinin ve / veya MMC ve SKF(*SKF)'nin genotoksik etkilerine karşı olası antigenotoksik etkilerinin CA, MN, SCE ve Komet testlerinin kullanılarak *in vivo* ve/ veya insan lenfosit kültürleri ile *in vitro* olarak araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır.

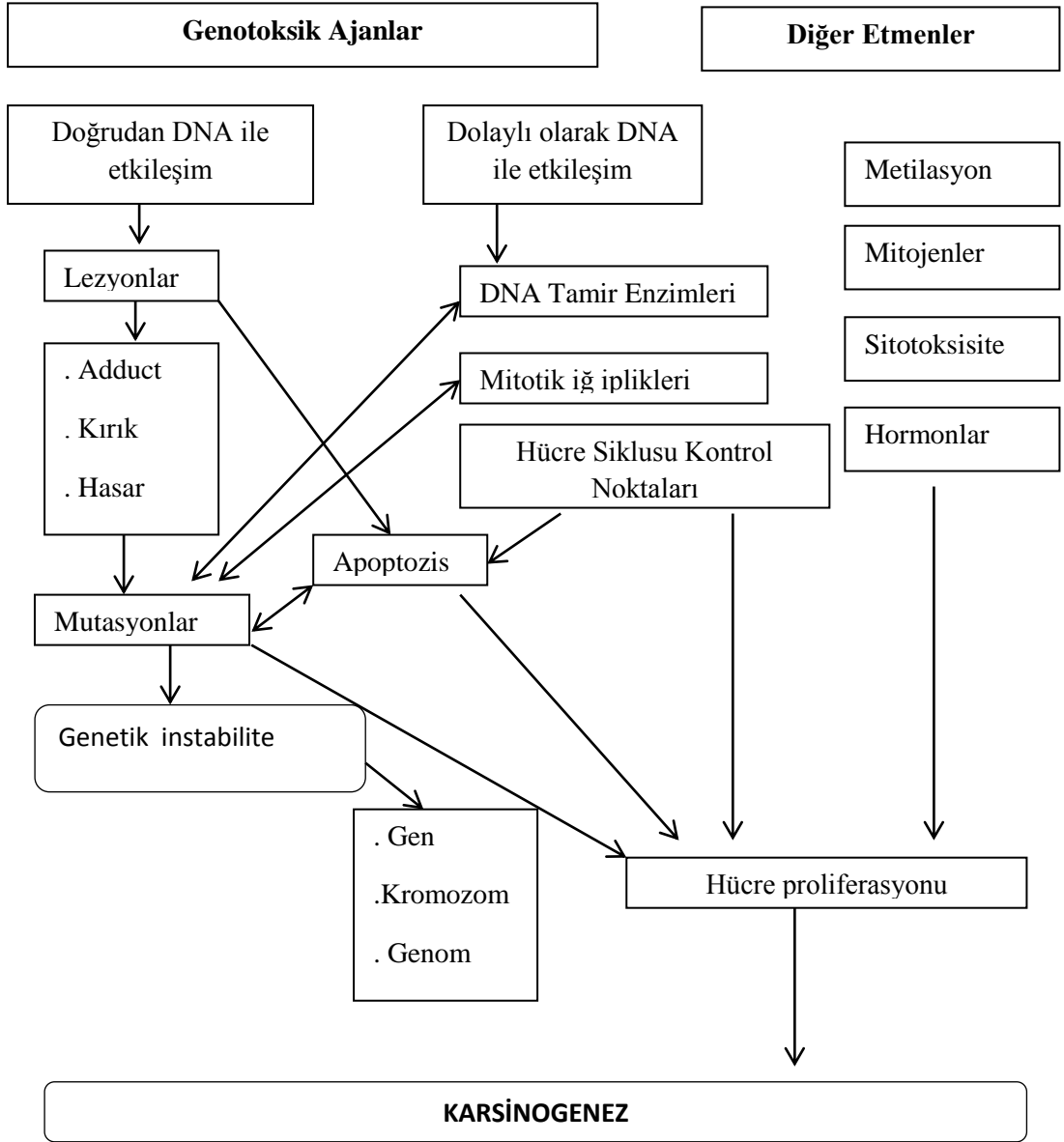
Gerçekleştirilen bu çalışmada Hem Tyrosol'ün hem de Karnosik asidin tek başlarına herhangi bir genotoksik etkisinin bulunup bulunmadığının belirlenmesinin hedeflenmesinin yanında, asıl olarak MMC ve SKF (veya *SKF) ile indüklenmiş DNA hasarları üzerinde bir indirgeyici etkilerinin olup olmadığının belirlenmesi hedeflenmiştir. Bu bağlamda özellikle olası antigenotoksik etkinin belirlenebilmesinin, kimyasal engelleme stratejisi çerçevesinde önerilen, antigenotoksik maddelerin tanımlanması basamağına önemli katkıda bulunacağı düşünülmüştür. Bu durumda TYR ve KAR'ın, MMC ve SKF'nin DNA üzerindeki hasar etkilerine karşı veya bu ajanlara benzer yolları kullanarak DNA hasarı oluşturabilen farklı etmenlerin hasar etkilerine karşı koruyucu preparatlar olarak kullanılabilmesi konusunda olumlu veriler elde edilebileceği düşünülmüştür.

2. KURAMSAL TEMELLER

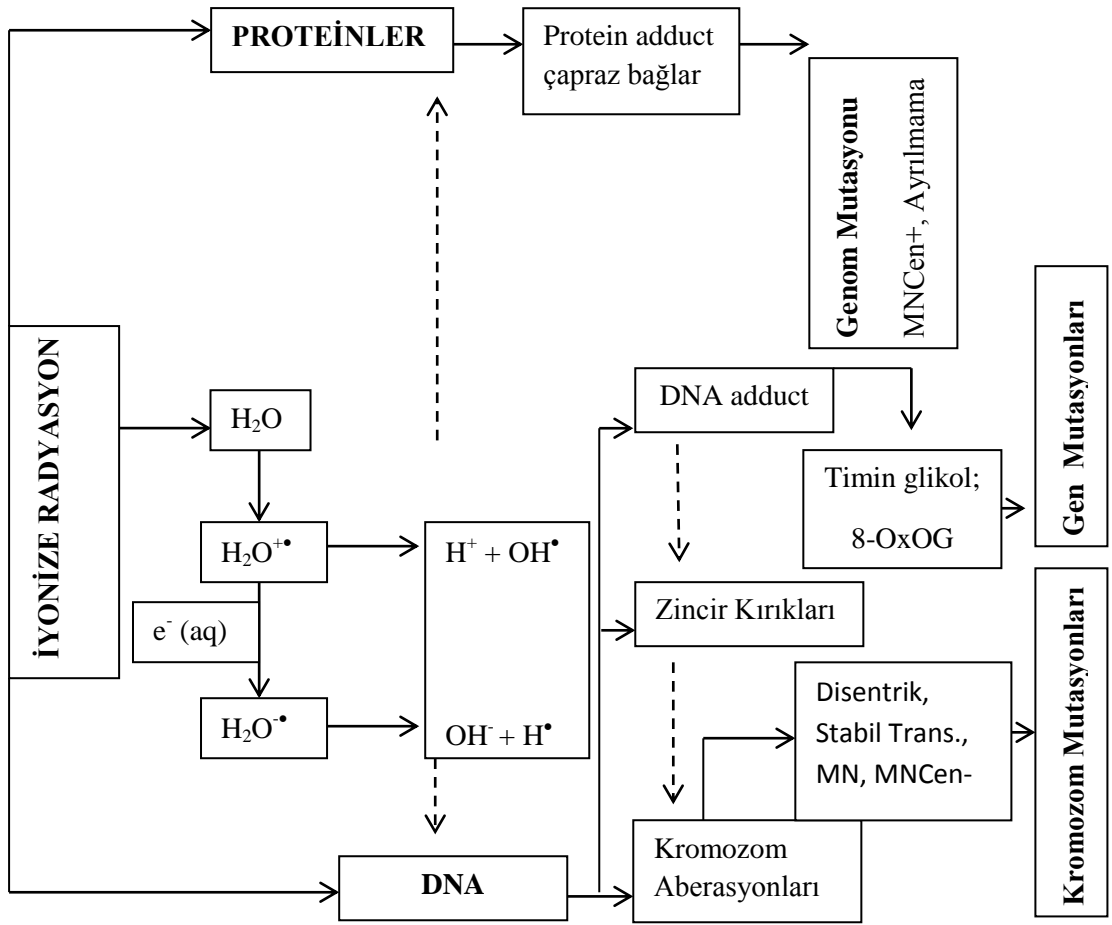
2.1. DNA Hasarları

Kalıtım materyalimiz olan DNA, pek çok etmenin tehdidi altındadır. Bu tehdit unsurları aerobik canlıların vazgeçilmezi olan Oksijen'den, günlük yaşantılarımızda maruz kaldığımız fiziksel ve kimyasal ajanlara kadar değişen etmenlerdir. DNA da değişikliğe neden olan etmen olarak tanımlanabilen potansiyel bir mutajenin genotoksik etkisi onun hücrenel hedefine bağlıdır (Elhajouji ve ark. 1995, 1997, Kirsch-Volders ve ark. 2000). Bazı kimyasalların mutajenik etki göstermeden önce metabolize olmaları gerekmektedir. Mutajenler doğrudan DNA'ya hedeflenerek ve/veya dolaylı olarak genom bütünlüğü için gerekli proteinlere bağlanarak genomik değişikliklere neden olabilirler (Şekil 2.1) (Kirsch-Volders ve ark. 2003, Mateuca ve ark. 2006). Şekil 2.1 de de görüldüğü üzere mutajen hedef etkileşimleri sonucunda değişik tipte DNA hasarları oluşabilmektedir.

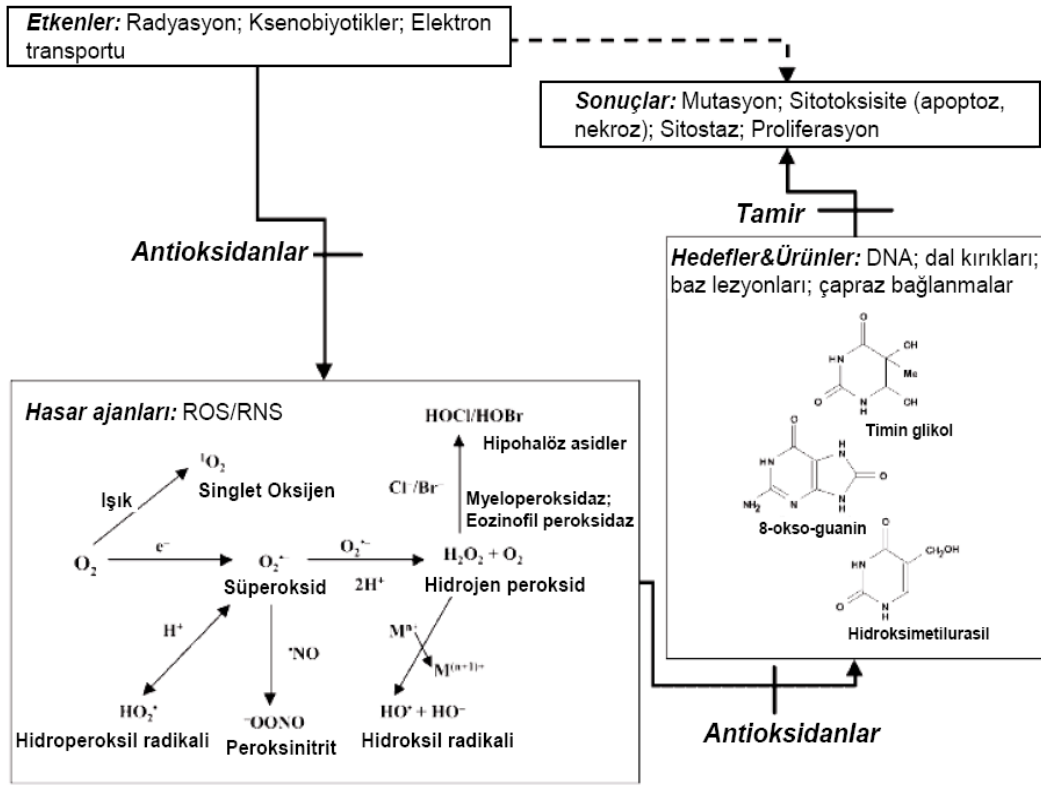
Örneğin mutajenik etkisi bilinen, iyonize radyasyon doğrudan DNA'yı hedefleyebilir. Sonuç olarak DNA da tek ve çift zincir kırılmalarında artış gözlenir. İyonize radyasyonun DNA üzerindeki dolaylı etkisi ise bir su molekülü ile etkileşmesinden sonra meydana gelir, böylece oluşan serbest radikaller proteinlere ve DNA'ya atak yaparak zarar verirler (Mateuca, ve ark., 2006). Radyasyonun bu etkileri Şekil 2. 2' de özetlenmiştir. Radyasyon dışındaki pek çok etmen de doğrudan veya dolaylı olarak serbest radikallerin oluşumuna neden olabilmektedir. Serbest radikallerin içinde en önemli olanları reaktif oksijen, reaktif nitrojen türleri ve hidroksil radikalleridir (Evans, ve ark., 2004). Bunların oluşumu ve DNA üzerine etkileri Şekil 2. 3'te özetlenmiştir.



Şekil 2.1. Genotoksik ajanların DNA üzerindeki direkt ve dolaylı etkileri ve sonuçları (Kirsch-Volders ve ark. 2003, Mateuca ve ark. 2006).



Şekil 2.2. İyonize Radyasyon'un hücresel hasar etkileri (Mateuca ve ark. 2006).



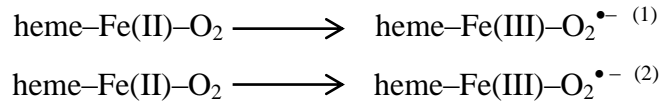
Şekil 2.3. Reaktif Oksijen ve Nitrojen Türleri ve DNA üzerine etkileri (Burçak ve Andican 2004, Evans ve Cooke 2004)

Aerob hücreler normal metabolik süreçleri boyunca da reaktif oksijen türleri (Reactive Oxygen Species: ROS) ve serbest radikaller üretirler. Oluşan bu ürünler bir antioksidan savunma sistemi tarafından nötralize edilerek zararsız hale dönüştürülürler. Ancak prooksidan ve antioksidan sistemler arasındaki bu denge zaman zaman prooksidanlar lehine bozulabilir bu durumda oluşan ürünler çeşitli hücrel kompartmanlara zarar verecek hale dönüşürler. Bu genel durum oksidatif stres olarak isimlendirilir (McCord 1993, Halliwell 1994).

Aerob bir hücrede başlıca oksidatif stres kaynakları olarak; Aktif Fagositler, Heme Proteinleri, Mitokondrial Elektron transport zinciri, İskemik – Reperfüzyon, İlaçların redoks tepkimeleri, İyonize radyasyon, Endojen kaynaklardan doğrudan radikal alımı sayılabilir (Evans ve ark. 2004, Dizdaroğlu 2011).

Aktif fagositler mikroorganizmaları etkisiz hale getirmek için NADPH öncüllü bir yolak ile serbest radikaller kulanabilirler. Bu radikallerin fazlalığı organizmada oksidatif strese neden olabilmektedir (Hinder 1991, Dizdaroglu 2011).

Heme proteinlerinden Serbest radikallerin oluşmasında ya elektronun Fe II ile O₂ arasında delokalize olması ⁽¹⁾ ya da Met hemoglobinin O₂ ile bağ yapamaması ⁽²⁾ rol oynar (Becker ve Roessler 1995, Dizdaroglu 2011).



O₂ nin H₂O ya indirgendiği elektron transport zincirindeki e⁻ sızıntıları özellikle O₂ nin O₂^{•-} radikaline dönüşmesine neden olmaktadır. Mitokondride kullanılan O₂ nin %1-3 ünün bu yol ile O₂^{•-} radikaline dönüşmektedir (Dizdaroglu 2011).

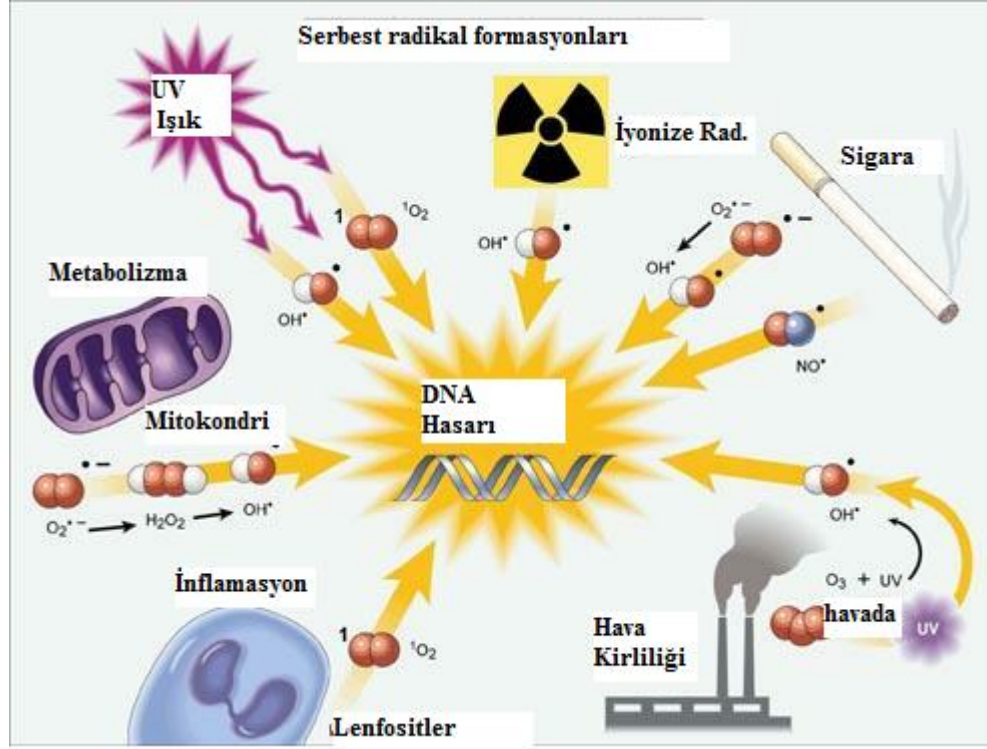
İskemik – Reperfüzyonda, hasar gören dokuların onarımı ve / veya oksijensiz kalan dokuların yeniden oksijenlenmesi Hipoksantin, Ksantin ve Ürik asit üzerinden serbest radikaller oluşmasına sebep olur (Zimmerman ve Granger 1994).

İnsanlar tarafından kullanılan çeşitli ilaçlar da, metabolize edilirken serbest radikallerin oluşumuna sebep olabilirler (Murata ve ark. 2004, Wang ve ark. 2010).

İyonize radyasyonun radikal oluşturma potansiyeli Şekil 2.2’ de özetlenmiştir.

İnsanlar eksojen kaynaklardan da doğrudan serbest radikal alabilmektedir. Bu duruma en iyi örnek sigaradır. Bir nefes sigarada 1014-16 serbest radikal bulunmaktadır (Church ve Pryor 1985, Dizdaroglu 2011).

Sonuç olarak, günlük yaşantımızda karşılaşılabileceğimiz çeşitli kaynaklar özellikle serbest radikal oluşumuna neden olabilmektedir ve bu serbest radikaller aracılığı ile DNA larımıza hasar verebilmektedirler. Söz konusu durum Şekil 2.4’te özetlenerek şematize edilmiştir.



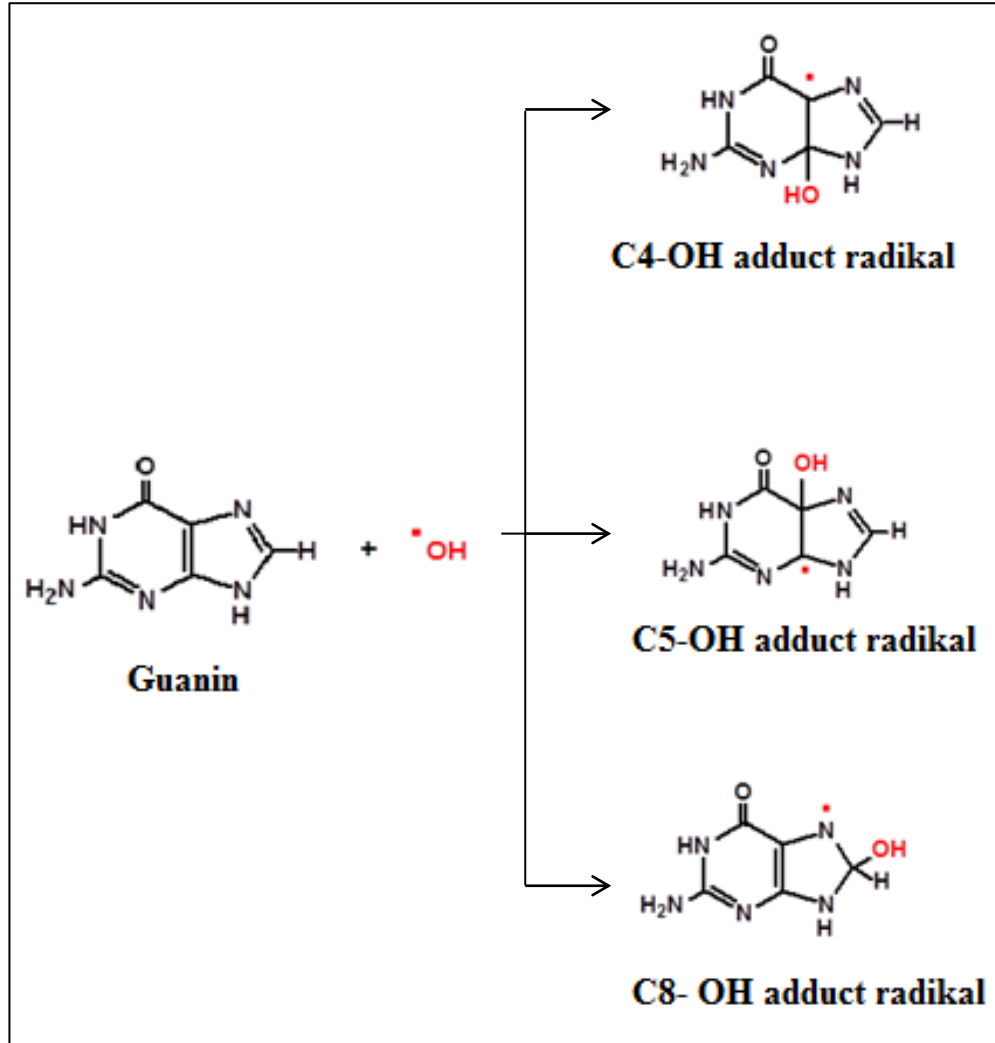
Şekil 2.4. Serbest radikaller aracılığı ile DNA hasarı (Thomson 2012).

Yukarı da açıklandığı üzere oluşan serbest radikaller DNA üzerinde yüksek hasar oluşturma kapasitesine sahiptirler. Serbest radikallerin DNA ile reaksiyonları 4 temel, serbest radikal reaksiyonu olan Katılma, Elektron alma, Proton alma ve Peroksil radikali oluşturma şeklindeki reaksiyonlar ile gerçekleşir. Söz konusu reaksiyonlar aracılığı ile serbest radikaller DNA da 4 temel hasar oluştururlar, bunlar; (Evans ve Cooke 2004, Evans ve ark. 2004, Dizdaroğlu 2011)

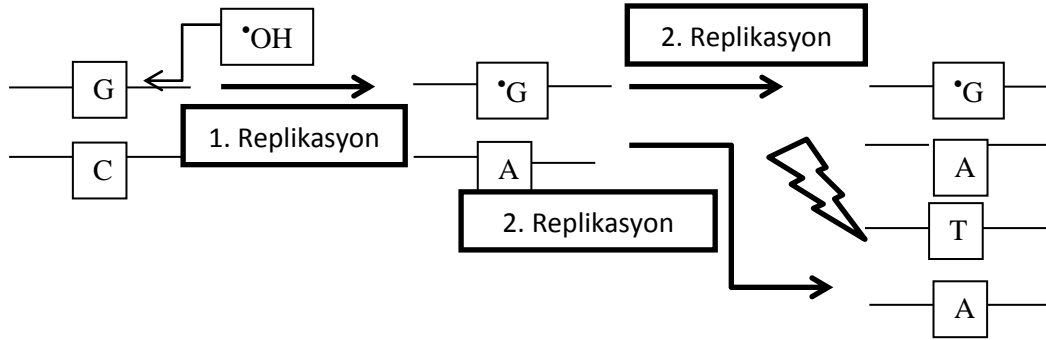
- 1) DNA Baz Hasarları
- 2) DNA Şeker Hasarları
- 3) 8,5'-siklopürin-2'-deoksinükleozid
- 4) DNA Protein Çapraz Bağları'dır.

DNA Baz Hasarlarında serbest radikallerin DNA bazları ile reaksiyona girmeleri sonucunda modifiye bazlar oluşur (8-hidroksiguanin vb) (Şekil 2.5). Oluşan bu modifiye bazlar DNA replikasyonu sırasında farklı nükleotid ile eşleşerek nokta mutasyonların temelini oluştururlar (örneğin 8-hidroksiguanin oluşumu ile GC baz çifti

TA baz çiftine döner. Şekil 2.6) . (Evans ve Cooke 2004, Evans ve ark. 2004, Kanvah ve ark. 2010).



Şekil 2.5. Guanin'in hidroksil radikali ile reaksiyonu sonrası oluşabilecek olası, modifiye bazlar (Evans ve ark. 2004, Dizdaroğlu 2011).

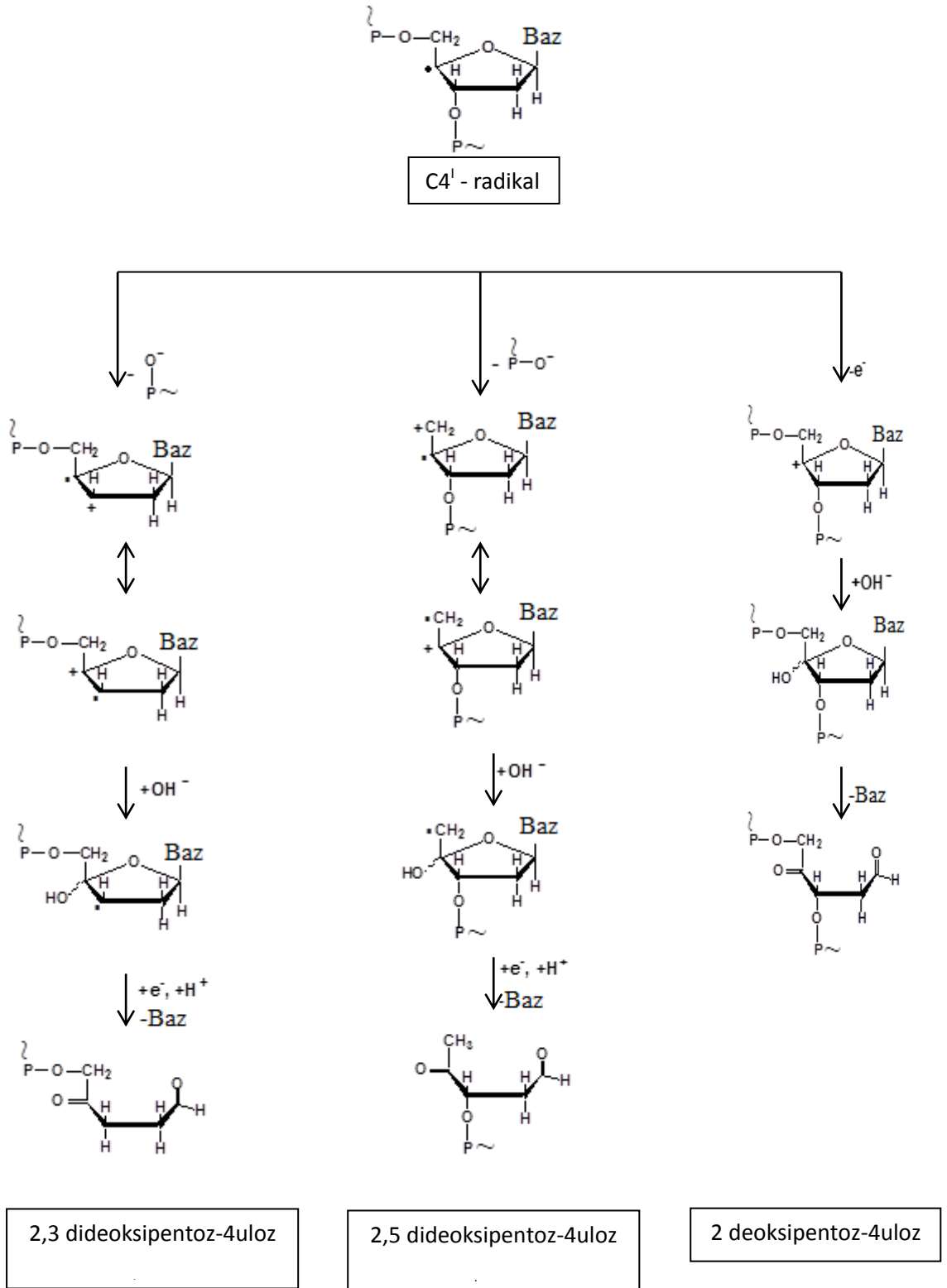


Şekil 2.6. Modifiye bazların nokta mutasyon oluşumundaki rolü. 8 hidroksi deoksiguanozid (8 oxo dG) oluşumu ardından iki replikasyon sonra GC baz çifti, TA baz çiftine dönüşür. •G; 8 oxo dG.

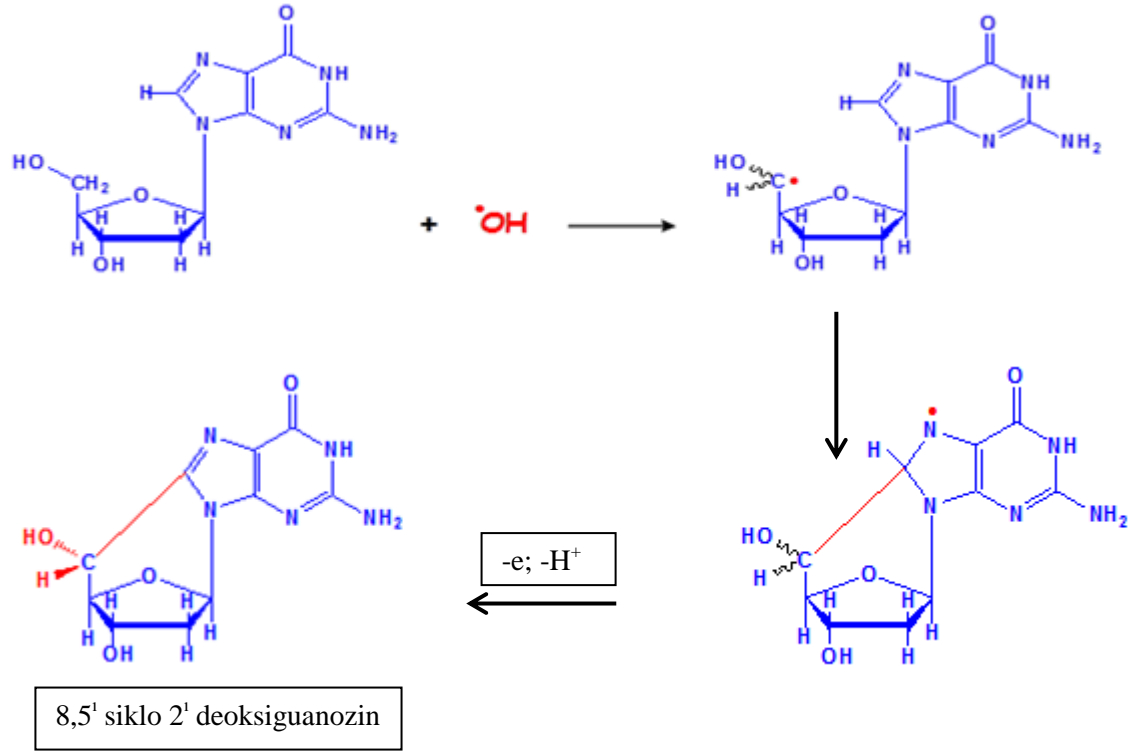
DNA şeker hasarlarının oluşumunda serbest radikallerin, DNA da şeker fosfat iskeletine saldırımları söz konusudur. Bu durum şeker fosfat iskeletinin bütünlüğünü bozduğu için DNA zincir kırıkları ile sonuçlanır (Clarkson ve Thompson 2000, Evans ve Cooke 2004, Evans ve ark. 2004). Şekil 2.7’de bu duruma örnekler verilmiştir.

Oksidatif stres sonucu oluşan serbest radikaller DNA da özellikle adenin ve guanin nükleotidlerinde azotlu organik baz ile deoksiriboz şekeri arasında bağ oluşumuna neden olabilmektedir. Bunun sonucunda 8,5'-siklopürin-2'-deoksinükleozid’ler oluşmaktadır. Şekil 2.8’de 8,5’ siklo 2’ deoksiguanozin oluşumu özetlenmiştir. Bu halkasal oluşum da DNA da kırıklara neden olabilmektedir (Byung 1994, Evans ve Cooke 2004, Evans ve ark. 2004, Dizdaroğlu 2011).

Oksidatif stres sonucu baz hasarları ile oluşan radikal hale gelmiş DNA, komşu proteinlerin aromatik amino asitleri ile bağ yapabilmektedir. Bunun tam tersi de mümkündür, yani oksidatif stres sonucunda radikal hale gelmiş bir protein DNA ile bağ yapabilmektedir. Bunların dışında hem DNA nın hem de proteinin radikal olduğu reaksiyonlar da bulunmaktadır. Bu DNA protein bağlanmaları da DNA da kırıklara yol açabilmektedir (Ahmad 1995, Abuja ve Albertini 2001, Evans ve Cooke 2004, Evans ve ark. 2004, Dizdaroğlu 2011).



Şekil 2.7. DNA da, serbest radikaller aracılığı ile oluşturulabilen şeker hasarlarına örnekler (Evans ve ark. 2004, Dizdaroğlu 2011).



Şekil 2.8. Serbest radikaller aracılığı ile Siklopurin deoksiguanozin oluşumuna örnek. 8,5' siklo 2' deoksiguanozin oluşum reaksiyonları özetlenmiştir (Evans ve ark. 2004, Dizdaroğlu 2011).

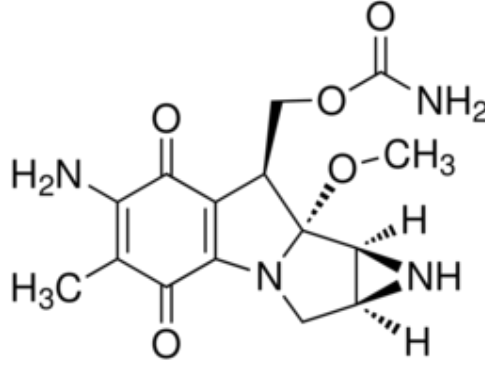
2.2. DNA Hasar Ajanları

Yukarıda özetlendiği üzere günlük yaşantımızda karşı karşıya olduğumuz pek çok fiziksel veya kimyasal ajan DNA larımızda çeşitli yollar ile hasar oluşturma potansiyeline sahiptir. Burada çalışmamızda kullanılan iki farklı DNA hasar ajanının özellikleri özetlenecektir.

2.2.1. Mitomisin C (MMC)

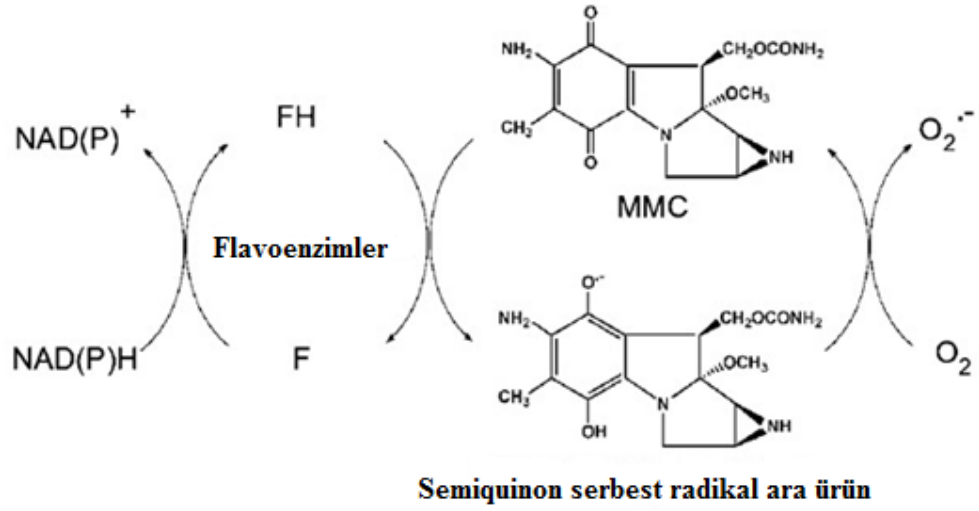
Yun-He ve ark. (1994)'a göre MMC, ilk olarak Iyer ve Szybalski (1964) ve Tomasz ve ark. (1974) tarafından, *Streptomyces caespitosus* bakterisinden elde edilebilen, DNA çapraz bağlayıcı ve alkilleyici özellikleri olduğu belirtilen, doğal bir antibiyotik ve antitümoral bileşiktir.

CAS numarası 50-07-7 dir. Kimyasal formülü $C_{15}H_{18}N_4O_5$ 'tir. Kimyasal yapısı Şekil 2.9'da gösterilmiştir. Moleküler ağırlığı 334,33 g/mol'dür. MMC, DNA da çeşitli yollar ile hasar oluşturarak hücre ölümüne yol açmaktadır.



Şekil 2.9. MMC'nin kimyasal yapısı (Anonim 2012a).

MMC, temelde çapraz bağlayıcı ve alkilleyici ajan olarak DNA üzerine hasar etkisini göstermektedir. Ancak bu hasar etkileri sırasında özellikle serbest radikaller oluşturarak ta başka bir yolak ile DNA üzerinde hasar oluşturma potansiyeli de bulunmaktadır. MMC'nin bioaktivasyonu NADPH- sitokrom P450 redüktaz, Mitokondrial NADH-dehidrogenaz, fagosit NADPH-oksidad, Ksantin oksidad gibi pek çok enzimin aktivitesini etkilemektedir. Yukarıda söz konusu edilen pek çok enzimin de etkili olabileceği redoks siklusları ile MMC elektron redüksiyon reaksiyonlarında serbest radikal, semiquinon ara ürünü oluşabilir. (Pristos ve Satorelli 1986, Durse ve ark. 1989, Bligh ve ark. 1990, Afanas'ev ve ark. 1990, Joseph ve ark. 1996, Clarke ve ark. 1997, Krokina ve ark. 2000). Bu nedenle bir antikanser antibiyotik olan MMC, kuvvetli prooksidan aktivitesi ile DNA hasar etkisi bulunan quinonlara benzer etki göstermektedir (Krokina ve ark. 2000). MMC'nin redoks siklusunda, Serbest radikal ara ürünü dışında, H₂O₂, Hidroksil radikali, süperoksit anyonu gibi farklı, serbest radikallerin oluşumu da gerçekleşmektedir (Komiya ve ark. 1982, Butler ve ark. 1988, Baumann ve ark. 2001, Wang ve ark. 2010). Şekil 2.10'da MMC'nin redoks siklusuna örnek görülmektedir

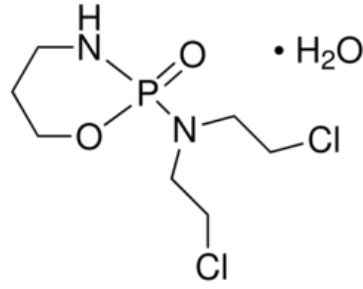


Şekil 2.10. MMC'nin Redoks siklusu (Wang ve ark. 2010).

Sonuç olarak MMC, DNA çapraz bağlayıcı özelliği, alkilleyici özelliği ile DNA'da hasar yaratmasının yanında oksidatif stres koşullarının oluşumuna da neden olarak DNA hasarına neden olmaktadır.

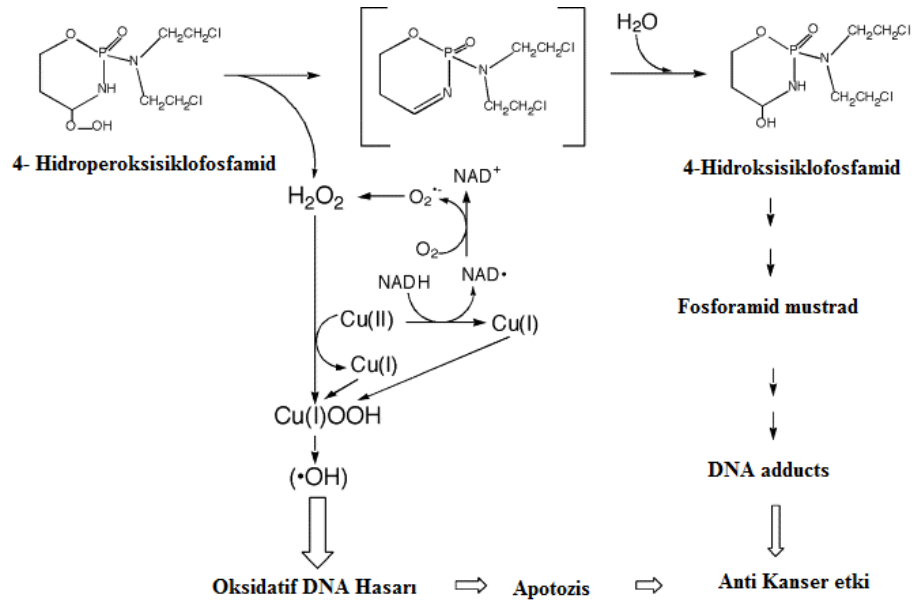
2.2.2. Siklofosfamid (SKF)

Siklofosfamid temelde alkilleyici ajan olarak bilinen bir anti kanser ilaçtır. Siklofosfamid, alkilleyici etkisiyle, DNA da yanlış baz eşleşmelerine, DNA/DNA veya DNA/protein çapraz bağlarına neden olarak nükleik asit fonksiyonlarını ve DNA sentezini inhibe ederek etki göstermektedir (Zhang ve ark. 2005). Çalışmamızda monohidrat formu kullanılan siklofosfamid monohidrat'ın (SKF) CAS numarası 6055-19-2 moleküler ağırlığı 279,10 g/mol'dür. Kimyasal formülü $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P \cdot H_2O$ isim sinonimi 2-[Bis(2-chloroethyl)amino]tetrahydro-2H-1,3,2-oxazaphosphorine 2-oxide, Cytosan şeklindedir. Kimyasal yapısı şekil 2,11'de görülmektedir.



Şekil 2.11. SKF'nin kimyasal yapısı (Anonim 2012b).

Siklofosfamid'in DNA üzerindeki temel hasar mekanizması alkilleyici ajan olarak çalışmasından kaynaklanmaktadır. Özellikle lösemi ve benzeri malignansilerde anti kanser ajan olarak kullanılan siklofosfamid'in, sitokrom p450 enziminin görev aldığı redoks döngüsü sırasında oluşan 4-hidroperoksisiklofosfamid yolağı üzrinden oksidatif stres kökenli DNA hasarına sebep verdiği de belirlenmiştir (Chabner ve ark. 2001, 2006). Söz konusu hasar mekanizması Şekil 2.12'de gösterilmiştir (Murata ve ark. 2004).



Şekil 2.12. Siklofosfamid'in oksidatif DNA hasarı oluşturma mekanizması (Murata ve ark. 2004).

Sonuç olarak SKF alkilleyici ajan olarak DNA da hasar yaratırken, dolaylı olarak oksidatif stres yolları ile de DNA da hasar oluşturma potansiyeline sahiptir.

2.3. DNA Hasarı Belirleme Yöntemleri

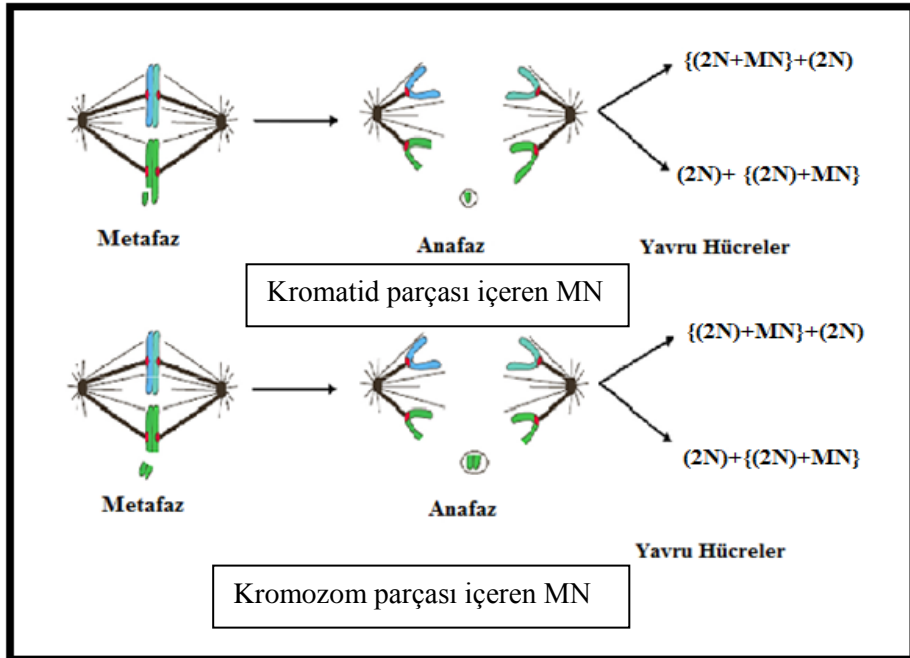
DNA'da oluşan hasarların belirlenmesinde farklı yöntemler ve beliteçler kullanılmaktadır. Özellikle nokta mutasyon seviyesindeki çeşitli hasarlar PCR temelli moleküler yöntemler kullanılarak belirlenebilmektedir. Bunların dışında özellikle, temelinde DNA kırıkları olan hasalar için kullanılan farklı yöntemler bulunmaktadır. Bu yöntemler OECD (The Organisation for Economic Co-operation and Development: Ekonomik İşbirliği ve Kalkınma Örgütü)'nin Kimyasallar için test rehberinde yer alan genetik toksikoloji yöntemleridir. Bunların çalışmada kullanılanları; Mikronükleus (MN: Micronuclei), Kromozom Aberasyonları (CA: Chromosome Aberrations), Kardeş Kromatid Değişimi (SCE: Sister Chromatid Exchange) (OECD 1986, 1997a,b,c,d) ve OECD'nin Kimyasallar için test rehberinde yer alması da FDA (Food and Drug Administration; Amerika Gıda ve ilaç dairesi) (FDA 2012) raporlarında genotoksite testi olarak önerilen ve sıklıkla kullanılan bir yöntem olan Komet yöntemleridir

2.3.1. Mikronükleus (MN) yöntemi

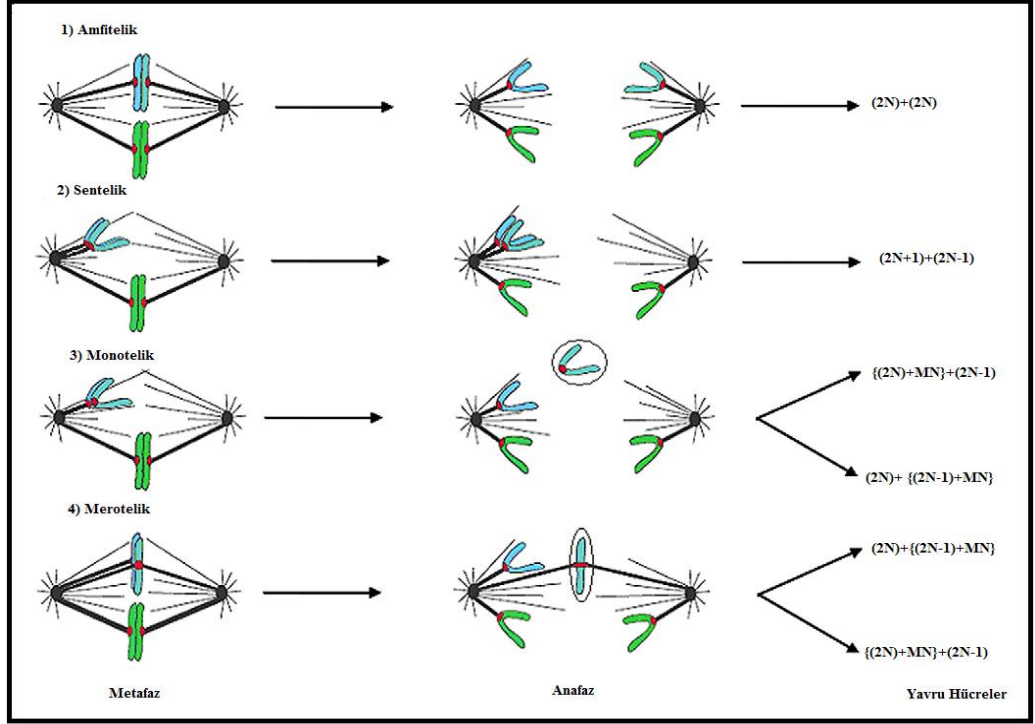
Mikronükleuslar; anafazdan sonra telofazda yeni oluşan yavru hücre nükleusuna katılmayan, küçük, extranükleer parçalardır. Bölünen hücrede asentrik kromozom ya da kromatid parçalarından veya tam kromozom ya da kromatidlerden oluşabilirler (Fenech ve Morley 1985, Mateuca ve ark. 2006). Mikronükleusları oluşturan kromozomal parçalar, direkt çift zincir DNA kırıklarından oluşabilecekleri gibi hücre replikasyonundan sonra SSBs'nın (tek zincir kırıkları) DSBs'lere (çift zincir kırıkları) dönüşmesi sonucunda oluşabilirler. Bununla birlikte iki kromozom kırığının yanlış onarılması asimetrik kromozom rearanjmanı ile bir disentrik ve bir asentrik parçanın üretilmesine neden olur (Mateuca ve ark. 2006). Genelde disentrik kromozomun sentromerleri hücrenin karşı kutuplarına çekilir, böylece anafazda kardeş nükleuslar arasında nükleoplasmik köprü (NPB) oluşur ve gecikmiş olan asentrik fragman bir mikronükleus (MN) oluşturur (Thomas ve ark 2003, Fenech 2005). Bunların dışında Mikronükleuslar tam kromozomlar da içerebilir, bu kromozomların MN oluşturma sebepleri olarak ise; kromozom ayrılma mekanizmasındaki veya hücre siklusu kontrol genlerindeki defektler, mitotik iğ ipliklerinin veya kinetokorun ya da diğer mitotik

araçların hasarlı olması, kromozomların yapısal olarak hasarlı olması ya da sentromerik DNA'nın hipometilasyonu gibi nedenler sayılabilir (Albertini ve ark. 2000; Fenech ve ark. 2005). Mikronükleuslar, kırılma- birleşme- köprü (BFB) siklusları sayesinde oluşan gen amplifikasyonlarınca da oluşabilir. Amplifiye DNA nükleusun dış kenarında spesifik bölgelerde lokalize olur ve hücre döngüsünün S fazı boyunca nükleer tomurcuk (NBUD) yolu ile ortadan kaldırılır. Şekil 2.13-19. MN oluşumu mekanizmalarını göstermektedir. Yukarıda ve Şekil 2.13-19'da açıklanan yollarla oluşan MN mitoz sonrasında birkaç farklı olaya maruz kalabilir. Bunlar:

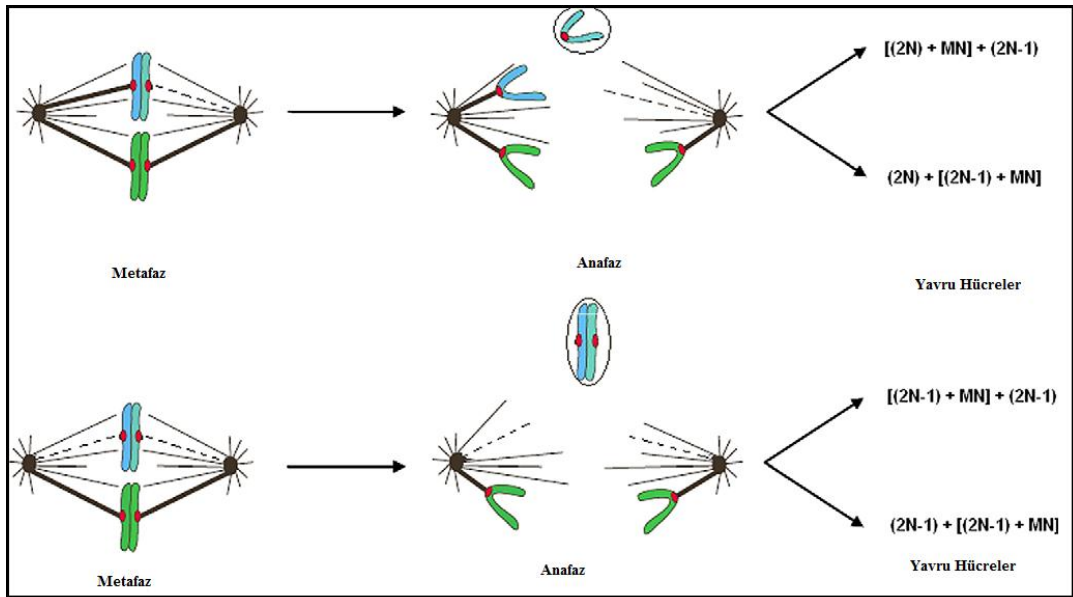
- 1- MN içeren hücreler apoptosis ile elemine edilebilir (Decordier ve ark. 2002).
- 2- Gerekli sitoplazmik komponentlerin eksikliğinden dolayı MN içerisindeki DNA'nın fonksiyonel olmaması ve ya replikasyon kabiliyetinden yoksun olması durumunda MN hücreden atılabilir (Leach ve Jackson-Cook 2004).
- 3- MN yeniden ana nükleus içerisine girebilir ve ana nükleustan ayırtedilemez bir şekilde normal biyolojik aktivitesine devam edebilir (Leach ve Jackson-Cook 2004).
- 4- MN bir veya birkaç replikasyonu tamamladığında hücre sitoplazmasında ekstra nükleer yapı olarak varlığını devam ettirebilir (Leach ve Jackson-Cook 2004).



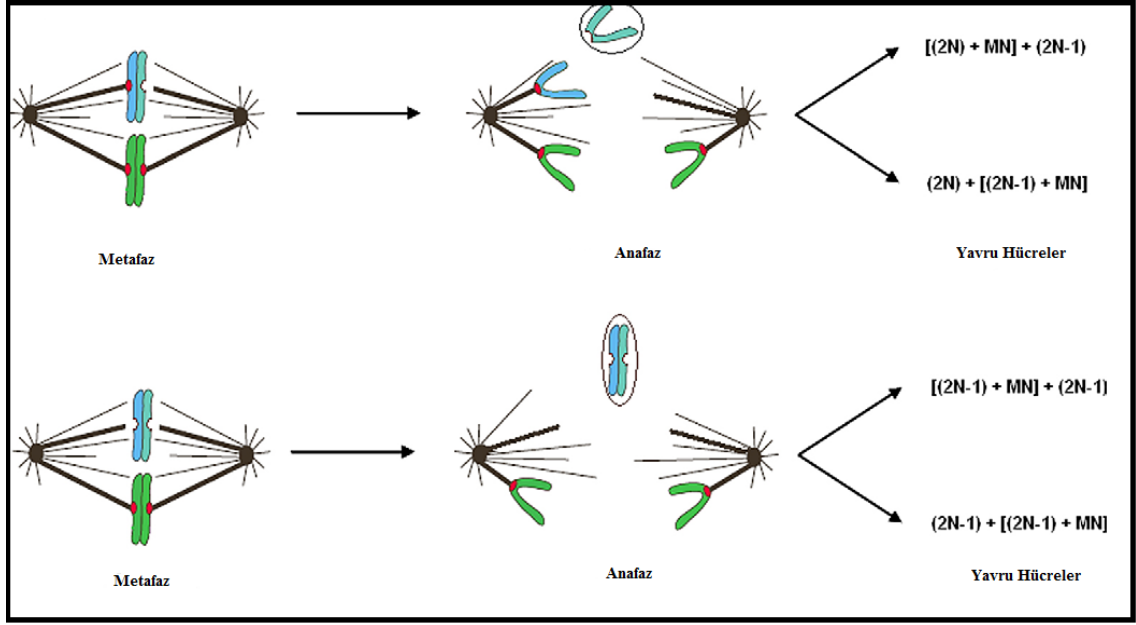
Şekil 2.13. Mikronükleus formasyonunun temel mekanizması (Cimini ve Degrassi 2005, Mateuca ve ark. 2006) MN'ler temel olarak DNA kırıklarından kaynaklanan asentrik kromozom ya da kromatid parçalarından oluşur.



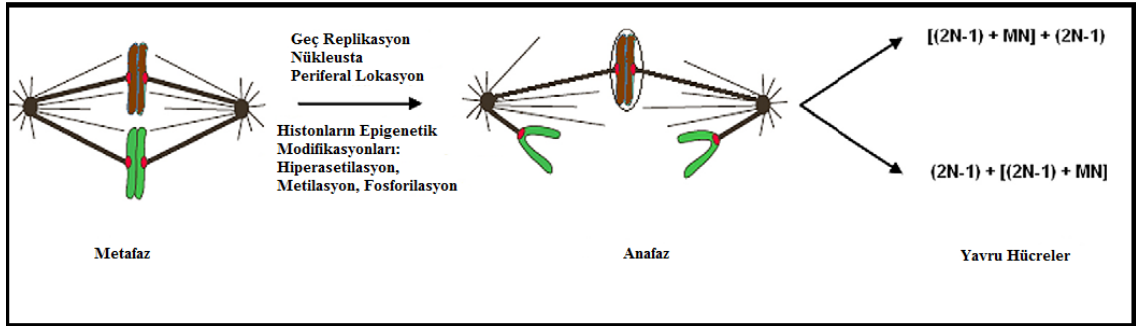
Şekil 2.14. MN oluşum mekanizmalarında mikrotübüllerin rolü. MN'ler mikrotübüllerin kinetokorlara yanlış bağlanmasından dolayı, kromozom yada kromatidlerin anafazda geride kalmasıyla oluşabilir. (Cimini ve Degrassi 2005, Mateuca ve ark. 2006).



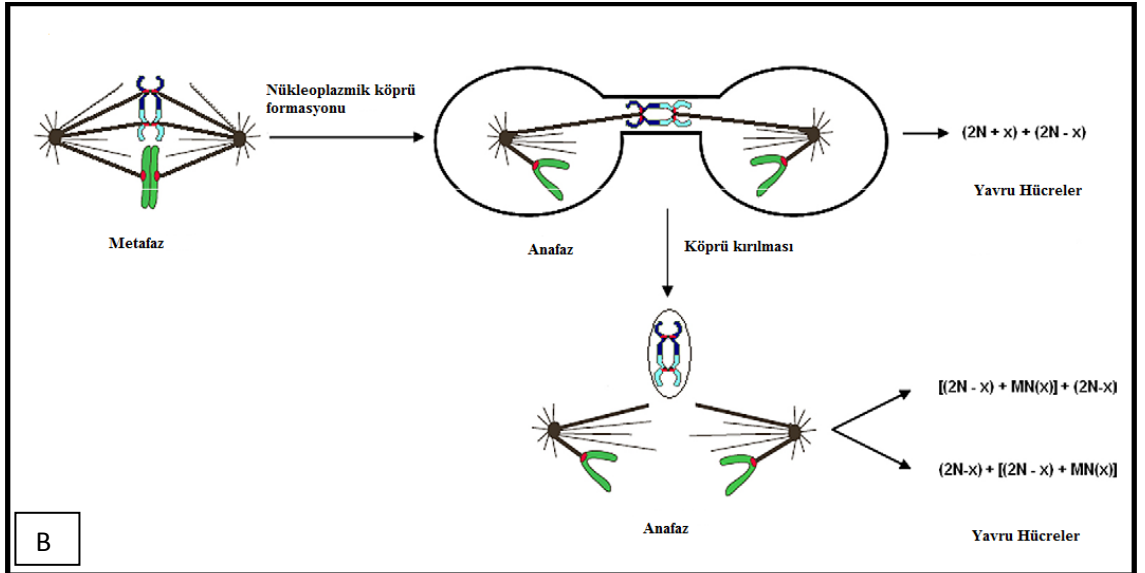
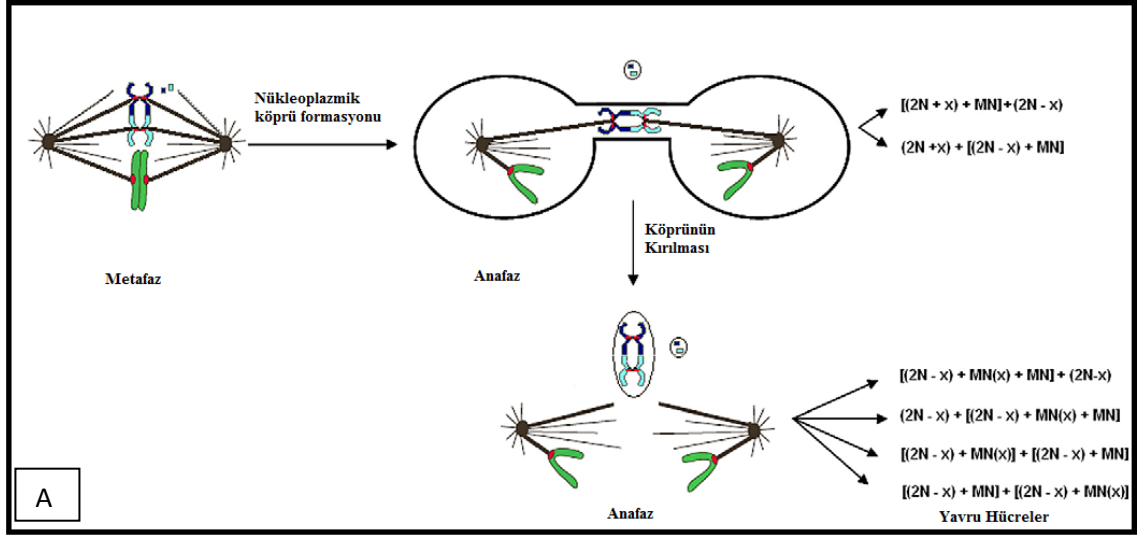
Şekil 2.15. MN oluşumunda Tubülinlerin rolü. MN'ler tubülin depolimerizasyonu nedeniyle oluşabilirler. (Cimini ve Degrassi 2005, Mateuca ve ark. 2006)



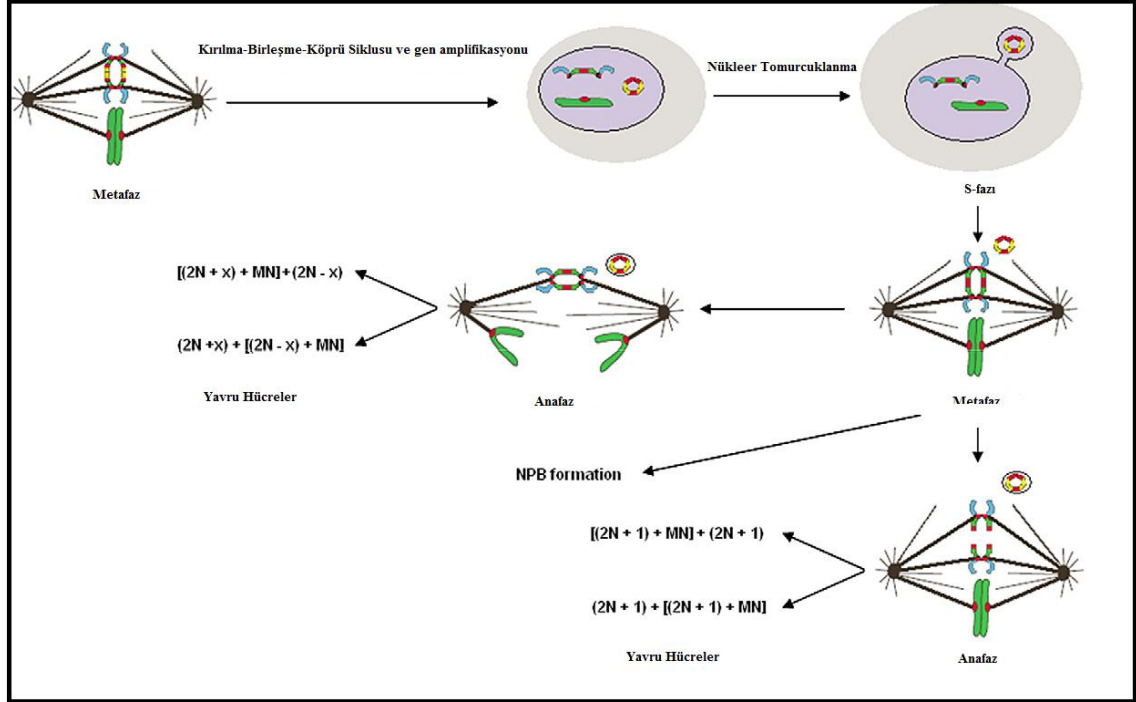
Şekil 2.16. MN oluşumunda kinetokorların rolü. MN'ler sentromerik DNA'daki kinetokor proteinlerindeki ya da kinetokor aygıtındaki defektler nedeniyle oluşabilir (Cimini ve Degrassi 2005, Mateuca ve ark. 2006)



Şekil 2.17. MN oluşumunda geç replikasyonun rolü. MN'ler nukleustaki periferal lokalizasyon ve histonların epigenetik modifikasyonlarından kaynaklanan geç replikasyonla oluşabilir. (Cimini ve Degrassi 2005, Mateuca ve ark. 2006)



Şekil 2.18. MN oluşumunda NPB (Nükleoplazmik Köprü) lerin rolü. MN'ler NPB (Nükleoplazmik köprü) oluşumu ve kırılımları ile oluşabilirler. Çift kromozom kırıklarının yanlış onarımı A) bir disentrik kromozom ve bir de asentrik fragmandan oluşan asimetrik kromozom yeniden düzenlenmesine neden olabilir. Alternatif olarak disentrik kromozomlar telomer kaynaşması sonucunda da oluşabilir. B) Anafazda disentrik kromozomların sentromerlerinin farklı kutuplara çekilmesi ile yavru nükleusla ana nükleus arasında NPB oluşumuna neden olur (A ve B). Oluşan asentrik fragmanın disentrik kromozoma eşlik etmesiyle (A) ya da etmemesiyle (B) MN oluşur. Sonuç olarak NPB oluşumu ile MN oluşabilir (A ve B) (Fenech 2002, Cimini ve Degrossi 2005, Mateuca ve ark. 2006).



Şekil 2.19. MN oluşumunda BFB (Kırık-Kaynaşma-Köprü) lerin rolü. MN'ler BFB (Breakage-Fusion-Bridge; Kırık-Kaynaşma-Köprü) siklusu sayesinde oluşan gen amplifikasyonu nedeniyle oluşabilirler. Amplifiye DNA nükleus periferinin spesifik bir bölgesine seçici bir lokalizasyon gerçekleştirir ve burada hücre bölünmesinin S fazı boyunca oluşan NBUD (Nuclear Budding; Nükleer tomurcuk) ile elimine edilir. (Fenech 2002, Cimini ve Degrassi 2005, Mateuca ve ark. 2006).

Mikronükleusların belirlenmesi ve sayımı oldukça kolay olarak ekstra *in vitro* kültür yöntemlerine gereksinim duymadan gerçekleştirilebilir. Örneğin insanlarda, lenfosit, fibroblast, epitel hücreleri gibi farklı hücrelerden *in vivo* olarak mikronükleus belirlenmesi gerçekleştirilebilir. Bunun dışında deney hayvanları kullanılarak da *in vivo* MN testi gerçekleştirilebilir. Sıklıkla kullanılan ise fare kemik iliği hücrelerinde gerçekleştirilen mikronükleus testidir. Gereken sürenin sonunda fare kemik iliğindeki eritrositler lam üzerine yayılır ve MN testinin spesifik boyama yöntemi olan May-Grünwald-Giemsa ile boyanarak, eritrositler içerisindeki MN'ler incelenir. Ancak burada dikkat edilecek nokta polikromatik eritrositler (PCE) ile Normokromatik eritrositlerin (NCE) ayırt edilmesidir. PCE'ler çekirdeklerini yeni kaybetmiş olan genç eritrositlerdir ve mavi mor renkte boyanırlar. NCE'ler ise daha yaşlı olan yani çekirdeklerini çok daha önce kaybetmiş olan eritrositlerdir ve pembe sarı renkte boyanırlar. MN açısından değerlendirmeye alınanlar yaşlılıkları nedeniyle DNA,

kromozom ya da iğ ipliği hasarlarını tam olarak yansıtmayacak olan NCE'ler değil daha genç olan ve dolayısıyla söz konusu hasarları tam olarak yansıtacak olan PCE'lerdir.

İn vivo olarak hücre içerisindeki MN'ler belirlenebilse de iduklenmiş DNA hasarının ya da DNA yanlış onarımının, post mitotik hücrelerde MN oluşturması için ex vivo nükleer bölünmeye ihtiyaç vardır. *İn vitro* yöntemde bu eksiklik, Fenech ve Morley (1985) tarafından, sitokinez engellenen MN (Cytokinesis- block MN CBMN) yönteminin geliştirilmesi ile aşılmıştır. *İn vitro* veya ex vivo lenfosit analizinde, kültür ortamına 44. saatte bir aktin inhibitörü olan sitokalsin-B'nin katılması ile bölünmemiş olan tek nükleuslu hücrelerle, kültür süresince bir nükleer bölünme geçiren iki nükleuslu hücrelerin ayırt edilmesi sağlanmıştır. MN içeren İki nükleuslu hücrelerin sıklığı kültür öncesi hasar birikiminin ve ilk *in vitro* mitoz süresince oluşan mutasyon baskısının göstergesidir (Kirsch-Volders ve ark. 2003, Mateuca ve ark. 2006).

Gerek *in vitro* gerekse *in vivo* MN yöntemleri OECD tarafından yayımlanan Kimyasallar için test rehberinde, genotoksite testi olarak kabul edilmiş durumdadır (OECD 1997a,b).

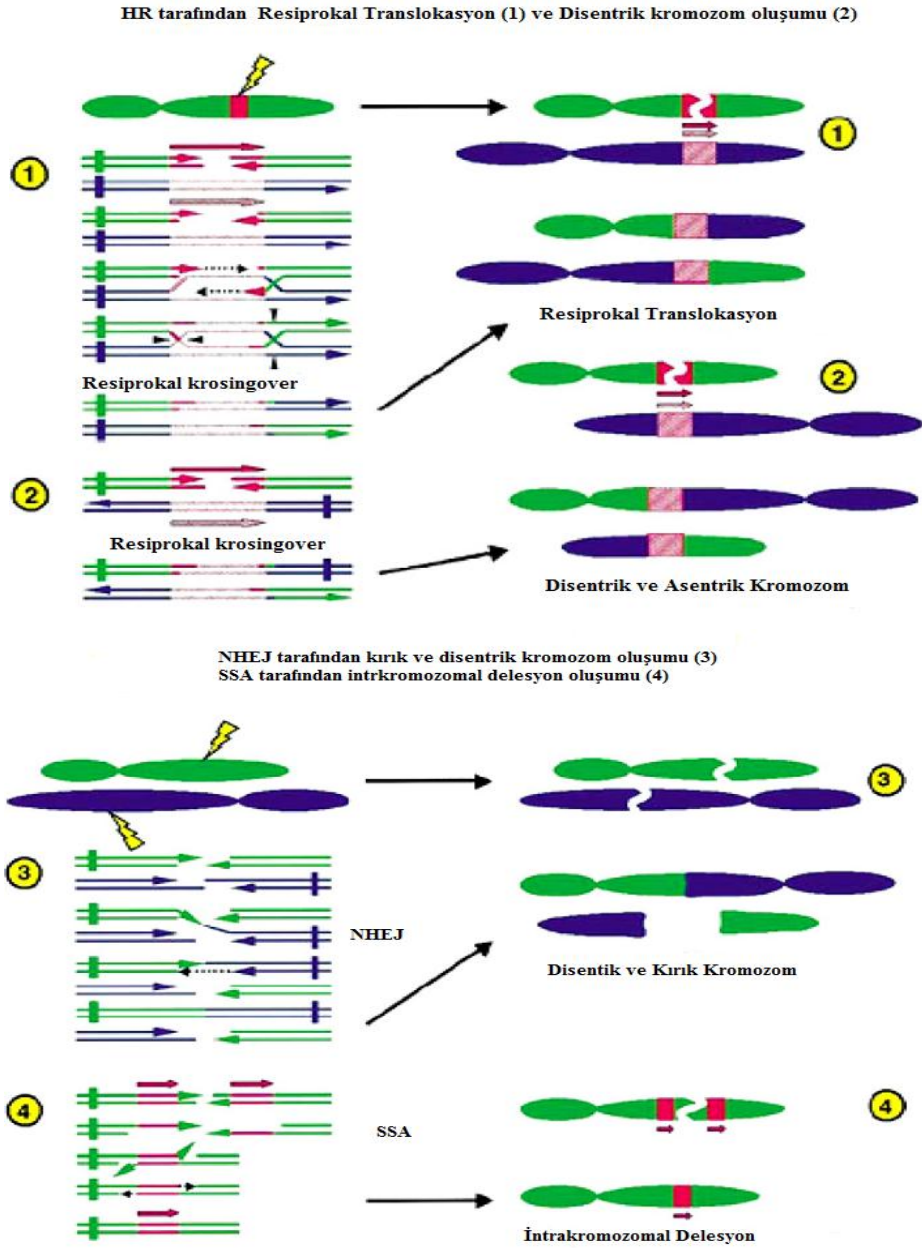
2.3.2. Kromozom Aberasyonları (CA) Yöntemi

Kromozmal hasarlar, normal kromozom yapısındaki veya sayısındaki değişimlerle oluşan farklılıklardır. Bu farklılıklar, spontan olarak oluşabildiği gibi kimyasal / radyasyon muamelesi sonucu olarak ta oluşabilir. Yapısal kromozom hasarları, doğrudan DNA kırılmalarıyla, zarar görmüş DNA kalıbı üzerindeki replikasyonla, DNA sentezinin inhibisyonuyla ve diğer mekanizmalarla (topoizomeraz II inhibisyonu gibi) meydana gelebilir (Albertini ve ark. 2000). Morfolojik kriterlere göre yapısal kromozom hasarları iki temel sınıfa ayrılabilir, birincisi: Kromozom tipi hasarlardır, bunlar, bir veya çok sayıda kromozomun her iki kromatidini içeren hasarlardır. İkincisi ise kromatid tipi hasarlardır, bunlar ise bir veya birkaç kromozomun bir kromatidini içerir (Albertini ve ark. 2000, Hagmar ve ark. 2004, Mateuca ve ark. 2006).

Genel olarak yapısal kromozom hasarının oluşumu bir veya birkaç DNA çift zincir kırınımına gerek duyar. Kromozom tipi hasar S fazından bağımsız klastojenlerle *in vivo* G0 – G1 hücrelerinde tam onarılmamış veya onarılmamış çift zincir kırıkları ile ortaya çıkar (örneğin iyonize radyasyon). DNA sentezinden ve kromozom duplikasyonundan sonra G0 –G1 de oluşan hasarlar ikiye katlanır ve metafazda kromozom tipi kırıklar ve değişimler oluşur (örneğin disentrik ve halkasal kromozomlar, dengeli translokasyonlar). Kromatid tipi kırıklar ve değişimler, kültüre edilmiş hücrelerin S-fazı boyunca *in vitro* olarak ortaya çıkar, *in vivo* S- fazında ise klastojenlere bağlı olarak (örneğin kimyasallar) tek zincir kırıkları ve baz değişimi görülür. Şekil 2.20' de yapısal CA oluşumundaki mümkün olan mekanizmalara örnekler verilmiştir.

Yapısal kromozom hasarları, sonuçta DNA kırıklarıyla oluşmaktadır. Bu DNA kırıkları kromozomlar orijinal halinde onarılacak şekilde yeniden birleşebilir, yanlış şekilde de birleşebilir ya da hiç birleşmez. Bu son iki durum metafazda mikroskopik olarak gözlenebilir. Kararsız hasarlar (örneğin disentrik, halka ve kromozom fragmentleri) gösteren hücreler P53'e bağlı yolda apoptoz ile yok edilirler. Dengeli translokasyonlar gibi kararlı hasarlar, organizma için diğer taraftan zararlı sonuçlara neden olabilir çünkü delesyona uğramış DNA sekansları apoptotik hücre ölümünde daha az etkilidirler. (Mateuca, ve ark., 2006).

In vitro ve *in vivo* CA yöntemi de OECD (1997c,d)'nin Kimyasallar için test rehberinde genotoksite testleri olarak kabul edilmiş durumdadır.



Şekil 2.20. CA oluşum mekanizması örnekleri. Disentrik kromozomlar ve translokasyonlar farklı kromozomlar üzerindeki homolog DNA sekansları arasındaki HR ile oluşabilir (1 ve 2). Disentrik kromozomlar iki çift zincir kırığına ve sekans homolojisinden bağımsız olarak işleyen NHEJ tarafından oluşturulabilir (3). Tekrar sekanslarındaki tek bir çift zincir kırığı homoloji bağımlı SSA mekanizması ile onarılırken intrakromozomal delesyonlar oluşabilir (4). HR; Homolog rekombinasyon (homologous recombination), NHEJ; Homolog olmayan uç birleşmesi (Non homologous End Joining), SSA; Tek ipliklerin kaynaşması (single-strand annealing) (Mateuca, ve ark., 2006).

2.3.3. Kardeş Kromadit Değişimi (SCE) Yöntemi

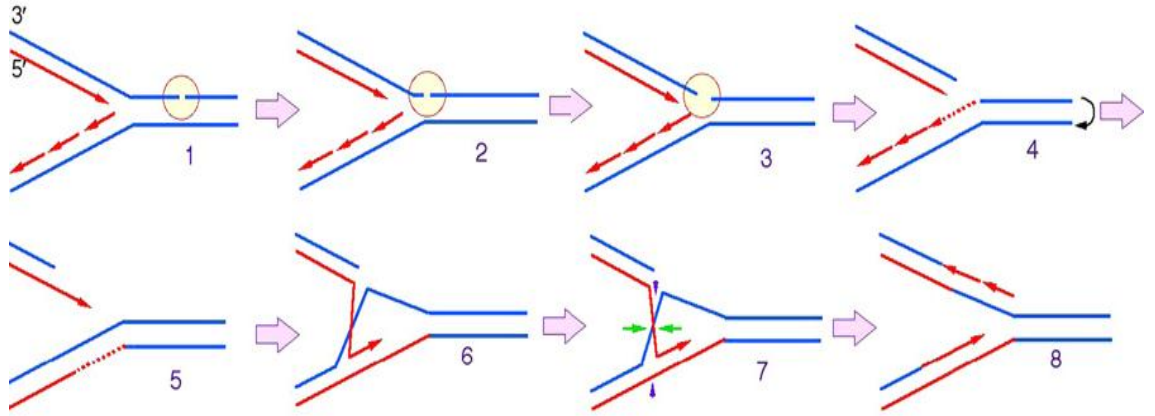
SCE ilk defa, 1958 yılında J.H. Taylor tarafından gözlenmiştir. Taylor, yaptığı çalışmada *Vicia faba* bitkisini, ³H Timidin bulunan ortamda çimlendirmiştir. Bir replikasyon süresinin sonunda, ³H Timidin bulunan ortamdaki bitkilerin kromozomlarını otoradyografi ile inceleyen Taylor bir kromozomu oluşturan iki kromatide birden ³H Timidin'den kaynaklanan otoradyografik ışınmayı gözlemiştir. Sonra bitkiler bir replikasyon süresince ³H Timidin bulunmayan ortamda büyütülmüştür. İkinci replikasyon sonunda kromozomu oluşturan kromatidlerden sadece birinde ³H Timidin'den kaynaklanan otoradyografik ışınma gözlenmiştir. Ancak bazı kromozomlarda her iki kromatidin karşılıklı bölgeleri otoradyografik ışınma yapmıştır. Bu gözlemlerine dayanarak Taylor, SCE yi DNA'ya, ³H Timidin bağlanmasının ardından non-radyoaktif ortamda kromozomların kardeş kromatidleri arasındaki parça değişimi olarak tanımlamıştır (Taylor 1958). Carrano ve Natarajan (1988)'a göre Kardeş Kromatid Değişimi (SCE) kromozomun her iki kromatidinin homolog bölgelerinde DNA da kırık oluşması ve kırılan bölgelerin yer değiştirip yeniden birleşmesi sonucunda oluşmaktadır. Çeşitli çalışmalarla, SCE'nin, DNA hasarının ve indüklenmiş DNA tamirinin gösterilmesinde basit, duyarlı ve kısa zamanda sonuç veren bir yöntem olarak kullanılabilceği önerilmiştir. (Clever ve ark. 1996, Stoilov ve ark. 2002). SCE de, OECD (1987)'nin Kimyasallar için test rehberinde önerilen genetik toksikoloji testlerindedir.

Taylor tarafından geliştirilen yöntem uygulaması oldukça uzun, zahmetli ve zor bir yöntemdi. Ancak 1972 yılında Zaharov ve Egolina, yöntemi, 5 brom deoksiUridin (BrdU) kullanarak uygulamışlardır. BrdU bulunan ortamda gerçekleşen DNA replikasyonunda BrdU, analogu olduğu Timin bazının yerine DNA yapısına katılır. DNA yapısında BrdU bulunması kromozomların bir floresan boya olan Hoechst 33258 ile boyanmasını etkilemektedir. Hoechst 33258 DNA da poly A-T bölgelerine bağlanarak kuvvetli floresan özellik gösterir. Ancak DNA yapısında Timin yerine BrdU var ise bu floresan etki azalır. Bununla birlikte DNA yapısında BrdU'nun bulunması, DNA nın giemsa ile boyanmasını da etkiler ve yapısında BrdU bulunan DNA, giemsa

ile daha açık renkli boyanır. (Zakharov ve Egoлина 1972, Latt 1973, 1974, Perry ve Wolff 1974, Wolff ve ark. 1975, Rodriguez-Reyes ve Morales-Remirez 2003).

Bu araştırmaların ışığında SCE'nin belilenebilmesi için Floresan ve Giemsa boyamanın kullanıldığı FPG (fluorescence plus giemsa) yöntemi kullanılmaktadır. Böylece en az iki replikasyon boyunca BrdU'lu ortamda bulunan hücrelerin kromozomlarında kardeş kromatidlerin biri açık renk diğeri ise koyu renk boyanır. Böylece kardeş kromatidler arasında bir değiştokuş söz konusu ise mikroskobik olarak bu değiş tokuş rahatlıkla gözlenebilir (Carrano ve Natarajan 1988, Rodriguez-Reyes ve Morales-Remirez 2003).

SCE'nin oluşum mekanizması ile ilgili olarak ta pek çok çalışma gerçekteştirilmiştir. Evans (1977) gerçekteştirdiği çalışmada, SCE'nin DNA replikasyonu sırasında, replikasyon çatalında meydana gelen bir veya iki zincir kırığı sayesinde oluşabileceğini ileri sürmüştür. Gerçekten de replikasyon çatalında homolog çift sarmallar birbirine çok yakın ve homolog birleşmeler çok kolaylıkla meydana gelebildiği için SCE'de, kardeş kromatidler arasında gözlenen değişim noktalarının, replikasyon çatallarında olması gerektiği düşünölmekteydi. Günümüze gelindiğinde, özellikle DNA tamir mekanizmalarının da aydınlatılması ile birlikte SCE oluşumunun mekanizması daha iyi anlaşılmaktadır. Sonoda ve ark (1999) SCE'nin oluşum mekanizmasında Homolog rekombinasyonun (HR) rolünü ortaya koymuşlardır. DNA daki herhangi bir kırık noktasına gelindiğinde duraksayan replikasyon çatalında, replikasyon HR ile tekrar başlatılır (Helleday 2003). Bu sırada meydana gelen değişimle SCE ler oluşur (şekil 2.21) (Wilson ve Thompson 2007).



Şekil 2.21. SCE Oluşum Mekanizması. 1 ve 2; Replikasyon çatalı kırık bölgesine ilerler. 3; Çatal kırılır 4; Kırık olmayan kromatidde boşluk üzerinde tamir sentezi gerçekleşir. Siyah ok, sonraki olayların görselleştirilmesini kolaylaştırmak için yapısal değişikliği ifade eder. 5; Kırık dopleksin oluşumu 3' uçta tek zincirli kuyruk oluşturur. 6; Rad51 aracılığı ile iplik yayılması gerçekleşir. 7; Holliday bağlantısının yeşil oklar doğrultusunda çözünmesi SCE'ye neden olur. Yeni 'parental' iplikte kırmızı/mavi renklerle ifade edilmiştir. Çözünme küçük mor ok doğrultusunda ise SCE oluşmaz. 8; Replikasyon çatalı onarılır (Wilson ve Thompson 2007).

2.3.4. Komet Yöntemi

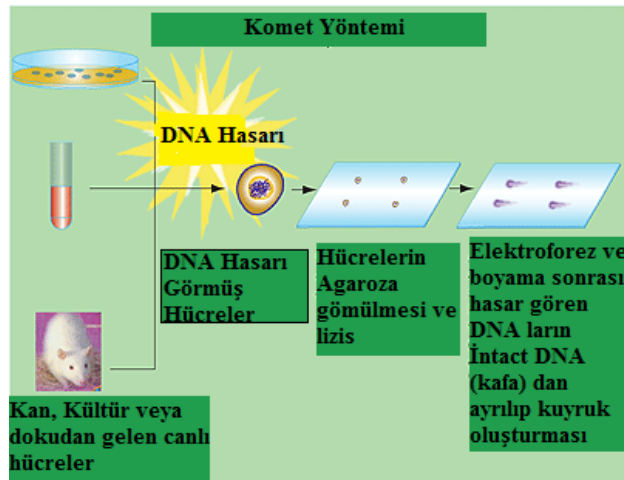
İlk olarak 1978 yılında Rydberg ve Johanson tarafından DNA sarmal kırıklarının ölçülmesi amacıyla kurulan, daha sonra 1984 yılında Östling ve Johanson tarafından geliştirilen teknik, nötral pH'daki lizis şartlarında uygulanarak DNA çift sarmal kırıklarını tayin etmekteydi. 1988 yılında Singh ve arkadaşları tarafından protokolde bir takım değişiklikler yapılarak yöntem alkali lizis koşullarında uygulanmıştır. Singh ve arkadaşlarının komet yöntemi protokolü bugün küçük değişikliklerle dünya genelinde en yaygın kullanılan genotoksisite protokollerindedir.

Yöntemin temel prensibi, tek hücre DNA'sının agaroz jel içerisinde elektroforetik alanda göç etmesi esasına dayanmaktadır. Bu nedenle ilk önceleri, tek hücre jel elektroforezi (Single Cell Gel Electrophoresis SCGE) olarak isimlendiriliyordu. Daha sonra, sonuçta elde edilen görüntü kuyruklu yıldızı andırdığı için komet (comet; kuyruklu yıldız) ismini almıştır. Mikroskoptaki görüntü tıpkı bir kuyruklu yıldız benzemektedir, nükleusu içeren geniş bir baş kısmı ve DNA fragmentlerini içeren bir

kuyruk kısmı bulunmaktadır. Yani yöntem fragmente olmuş DNA'nın non fragmente DNA'dan ayrılmasına izin vermektedir. Bu sayede yöntem ile birçok çeşit DNA hasar ürününü belirleyebilmek mümkündür.

Piperakis (2009), Komet yönteminin diğer genotoksite yöntemleri ile karşılaştırıldığında çeşitli avantajlara sahip olduğunu belirtmiştir. Piperakis'e göre bu avantajlar; 1) Komet yöntemi hücre hatlarına uygundur. 2) Komet yöntemi, bitkileri de içeren herhangi bir eukaryotik hücreye ve pek çok prokaryotik hücreye başarılı bir şekilde uygulanabilir. 3) Yöntem, tek hücre seviyesinde hasar belirleyebilir. 4) Yöntem, hücre başına 50–15000 kırık belirleyebilecek kadar hassastır. 5) Yöntem sayesinde, aynı günde sonuç alınabilir. 6) Yöntem, hasarları siklusta olmayan hücrelerdeki kadar siklustaki hücrelerde de belirleyebilir. 7) Oldukça hızlı ve pahalı olmayan bir yöntemdir. 8) Noninvaziv bir tekniktir. 9) Taze veya dondurulmuş örnekler uygulanabilir. 10) Yöntem az sayıdaki hücre ile gerçekleştirilebilir (Piperakis 2009).

In vitro ve *in vivo* olarak uygulanabilen alkali komet yöntemi, DNA'da tek ve çift zincir kırıklarını, yüksek alkali çözelti içerisinde hızlı bir şekilde DNA kırıklarına dönüşen alkalilenebilecek noktaları oldukça hassas bir şekilde belirleyebilmektedir. Yöntem Şekil 2.22 de özetlenmiştir. Bu özellikleri ile komet yönteminin kullanıldığı veya yöntemin kendisi ile ilgili olarak, 1980'li yılların sonundan bu günlere kadar 150 farklı bilimsel dergide, 4700'ün üzerinde makale yayımlanmıştır (Rojas 2009).



Şekil 2.22. Komet Yöntemi (Anonim 2012e).

2.4. Antioksidanlar

Düşük konsantrasyonlarda substratlarının oksitlenmesini engelleyen veya geciktiren bileşiklere antioksidanlar denir (Halliwell ve Gutteridge 1989, Sies 1997).

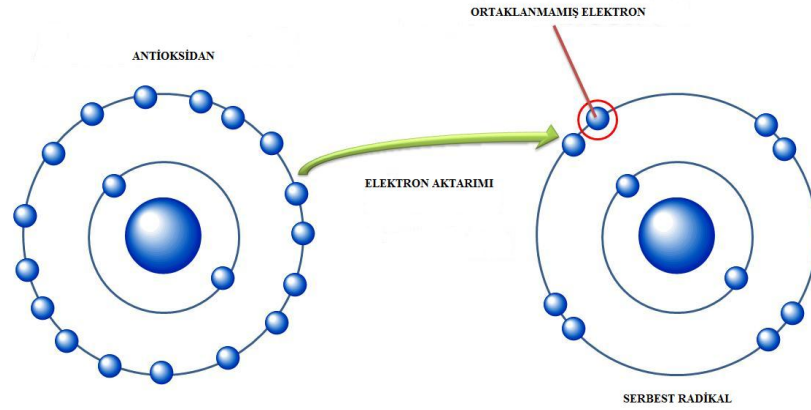
Organizma için antioksidanlar eksojen ve endojen kaynaklı olabilir. Endojen antioksidanlar organizmada hücre içi, hücre zarı ve hücre dışı antioksidanları olarak sınıflandırılabilir. Hücre içi antioksidanlara örnek olarak özellikle katalitik aktiviteye sahip; süperoksitdismudazları (SOD), Katalazı, Glutasyon S transferazı sayabiliriz. Zar antioksidanlarına örnek olarak; Koenzim Q, α tokoferol, β karoten sayılabilir. Hücre dışı antioksidanlara örnek olarak ise; Askorbik asiti, Laktoferrini, Transferini, Ekstrasellüler Süperoksit Dismutazı, Ekstrasellüler Glutasyon Peroksidazı sayabiliriz. (Nordberg ve Arner 2001, Hanukoglu 2006, Yeu ve ark. 2010).

Bunların dışındaki grubu oluşturan antioksidanlar, eksojen kaynaklı antioksidanlardır. Bu antioksidanlar insanlar tarafından genellikle besin ile alınan antioksidanlardır. Antioksidan içeriği bakımından zengin sebze ve meyveler, insanlar için önemli eksojen antioksidan kaynağı olarak görülmektedir.

Antioksidan maddeler temel olarak prooksidan maddelerin oksitleyici özelliklerini inhibe etmek için serbest radikallere bir elektron vererek, serbest radikali inaktive etme özelliğine sahiptir, antioksidanlar bu özellikleri nedeniyle, serbest radikal süpürücü olarak tanımlanmaktadır (Nordberg ve Arner 2001). Şekil 2.19.'da antioksidan maddelerin bu özellikleri özetlenmiştir. Bu özellikleri çerçevesinde antioksidan maddeler farklı reaksiyonlar ile prooksidan maddeleri inhibe edebilirler. Bu reaksiyonları dört başlık altında özetlemek mümkündür (Kumar 2011).

- 1) Lipid faz içerisinde gezinerek serbest radikalleri yakalayan α Tokoferol tarafından gerçekleştirilen reaksiyonlarda olduğu gibi, zincir kırma reaksiyonları.
- 2) Glutasyon tarafından gerçekleştirilen reaksiyonlarda olduğu gibi, reaktif oksijen türlerinin konsantrasyonu azaltan reaksiyonlar.

- 3) Lipid faz içerisinde süperoksit radikallerine tuzak kurarak hareket eden süperoksitdismutaz aktivitesinde olduğu gibi radikal süpürücü reaksiyonlar.
- 4) Ferritin fonksiyonlarında olduğu gibi geçiş metal katalizörlüğünde şelatlama reaksiyonları.

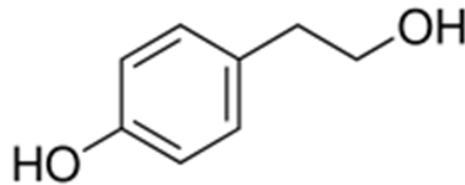


Şekil 2.23. Antioksidan, serbest radikal etkileşimi (Anonim 2012f)

Yukarıda genel özellikleri özetlenen antioksidanlardan, çalışmamızda iki tanesi kullanılmıştır bunlardan birincisi Tyrosol (TYR) ikincisi ise Karnosik asittir (KAR).

2.4.1. Tyrosol

Kimyasal olarak (2-hidroksietil) fenol veya *p*-hidroksifeniletıl alkol veya 2-(4-hidroksifenil) etanol şeklinde adlandırılabilen Tyrosol (TYR)'ün (CAS-No: 501-94-0) kimyasal yapısı Şekil 2.20 'de gösterilmiştir.



Şekil 2.24. Tyrosol'ün Kimyasal yapısı (Anonim 2012c)

Oda sıcaklığında renksiz bir katı madde olan TYR'nin moleköl ağırlığı 138,17 g/mol'dür. TYR'nin 4 torr basınç altında, erime noktası 91-92 °C kaynama noktası 158 °C dir (Rodis ve ark. 2002, Napolitano ve ark. 2010). TYR'nin suda çözünürlüğü ile ilgili olarak Sigma-Aldrich® katoloğunda veri bulunmadığı belirtilmektedir. Rodis ve ark. (2002), makalelerinde TYR'nin suda, Hidroksityrosol'den daha zor çözündüğünü belirtmektedir. Hidroksityrosol için verdikleri sudaki çözünürlük değeri 5 g/ 100 mL'dir. Buna göre Hidroksityrosol'ün sudaki çözünürlüğü %5 olarak düşünülürse TYR için bu yüzdelik değeri daha düşüktür.

Zincir kırıcı ve radikal süpürücü etkileri ile TYR'nin antioksidan özelliğe sahip olduğunu gösterir pek çok çalışma bulunmaktadır (de la Puerta ve ark. 1999,2001, Giovannini ve ark. 1999,2002, Moreno 2003).

TYR, doğal olarak, en bol zeytin meyvesi ve zeytinyağı ile şarap ve *Argania spinosa*'dan elde edilen argan yağında bulunan bir biofenolik bileşiktir.

Argan yağındaki TYR miktarı yaklaşık 52 µg/kg (Khallouki ve ark. 2003) dır. Argan yağında TYR dışında, valinik asit, ferrulik asit, syringic asit gibi farklı fenolik antioksidanlar da bulunur (Cherki ve ark. 2005). Birçok antioksidan içermesi nedeniyle argan ile ilgili yayınlar genellikle argan yağının olası antikanserojenik etkilerinin araştırıldığı çalışmalardır.

Khallouki ve ark. (2003) özellikle argan yağının antikanserojenik bir ajan olabileceğini göstermiştir. Drissi ve ark. (2006) ile Bennani ve ark (2007) gerçekleştirdikleri çalışmalarda insan prostat kanseri hücre hatlarında argan yağının antiproliferatif etki gösterdiğini bildirmişlerdir.

Beyaz şaraptaki tyrosol miktarı ortalama olarak 11- 37,6 mg / L' dir. Beyaz şarapta Tyrosol dışında Hidroksityrosol, Şikimik asit, vanilik asit, kafeik asit, ferrulik asit, kuamarik asit, quercetin gibi farklı antioksidanlar da bulunmaktadır (Bertellini ve ark. 2002). Bu zengin antioksidan içeriği ile özellikle kardiyovasküler rahatsızlıklara karşı ve antikanser özellikleri üzerine gerçekleştirilmiş farklı çalışmalar bulunmaktadır.

Perissinotto ve ark. (2010) 2303 erkek ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında, ılımlı şarap tüketenlerin tüketmeyenlere oranla, kardiyovasküler risk parametreleri açısından (total kolestrerol, HDL, LDL vb) daha düşük risk içerdiklerini belirlemişlerdir. Şarap ve şarabın temeli olan üzüm ile ilgili olarak, ılımlı tüketiminin Kardiyovasküler rahatsızlıkların yanında, tip 2 diyabet ve çeşitli kanser türleri ile diğer kronik komplikasyonların risk faktörlerini de düşürdüğü belirlenmiştir (Preuss ve ark. 2000, Brooker ve ark. 2006, Castilla ve ark. 2006, Castilla ve ark. 2008, Vivantus ve Moreno 2008, Kar ve ark. 2009, Mellen ve ark. 2010, Feringa ve ark. 2011, Zhou ve Raffoul 2012).

Bunların dışında Vauzour ve ark. (2007) fare embriyolarından hazırladıkları nöron hücre kültüründe, peroksinitrit ile indüklenmiş yaralanmalara karşı beyaz şarabın koruyucu bir etki gösterdiğini belirtmişlerdir.

Miró-Casas ve ark. (2001) doğal zeytinyağındaki TYR içeriğini yaklaşık 34,5 mg/L olarak bildirmişlerdir. Zeytin kuru ağırlığında bu değer yaklaşık 2 g / 100 g olarak belirtilmektedir (Marisilio, ve ark 2001, Vivancos ve Moreno 2008).

İnsanlar tarafından özellikle zeytin ve zeytinyağı ile alınan TYR'nin emiliminden sonraki plazma konsantrasyonları ve konjuge metabolit tipleri kesin olarak bilinmemektedir ve araştırılmaya devam edilmektedir (Napolitano ve ark. 2010). Özellikle, gerçekleştirilen hayvan deneyleri TYR'nin, büyük olasılıkla O-metil Hidroksityrosol'e metabolize olduğunu düşündürmektedir (Tuck ve Hayball 2002, Napolitano ve ark. 2010).

Zeytin ve zeytinyağında TYR dışında çok çeşitli farklı biofenolik antioksidanlar da bulunmaktadır (Segura-Carretero ve ark. 2010). Bu antioksidanlardan önemli olan bazıları şunlardır; Hidroksibenzoik asit, Dihidroksibenzoik asit, Gentisik asit, Vanilik asit, Gallik asit, Syringik asit, Kumarik asit, Kafeik asit, Ferrulik asit, Sinapnik asit, Hidroksityrosol, Hidroksifenil asetik asit, Hidroksifenil propanoik asit, Oleuropein, Ligstrosid, Taksifelon, Apigenin, Luteolin, Pinoresinol (Owen ve ark. 2000a, Bianco ve

ark. 2001, Carrasco-Pancorbo ve ark. 2004, 2005, 2006, 2007, Segura-Carretero ve ark. 2010).

Bu zengin antioksidan içeriği nedeniyle, zeytinyağının pek çok alanda kullanımı bulunmaktadır. Örneğin birçok farmakolojik formülasyon ve kozmetik ürününde zeytinyağı ile karşılaşmak mümkündür (Ruiz ve ark. 2010). Zeytinyağı içeren kozmetiklerle gerçekleştirilen çalışmalarda, deride; dermatitlerin, çeşitli enfeksiyonların, aknelerin hatta selülitlerin tedavisi için olumlu sonuçlar alınmıştır (Ruiz ve ark. 2008, 2010). Zeytinyağı yine zengin antioksidan içeriği nedeniyle pek çok antikanser çalışmalarına da konu olmuştur (Juan ve ark. 2010b).

Kolorektal kanserler beslenme ile doğrudan ilişkilidir (Levi ve ark. 1999, Watson 2006). Özellikle diyetlerinde zeytin ve zeytinyağı ağırlıkta olan Akdeniz ülkelerinde kolorektal kanserlerin insidansının ve mortalitesinin diğer batı ülkeleriyle kıyaslandığında daha düşük olduğu belirlenmiştir. Bunun temelinde de zeytin ve zeytinyağındaki antioksidanların olduğu vurgulanmıştır (Levi ve ark. 1999, Juan ve ark. 2010). Trichopoulou ve ark. (2000) beslenme tarzının Akdeniz diyetine kaydırılması ile kolorektal kanserlerin %25, Meme kanserlerinin %15, Prostat, Pankreas ve Endometrial kanserlerin %10 oranlarında azalabileceğini ileri sürmüşlerdir. Bu önemli etkinin sebebinin de Akdeniz diyetinin merkezinde olan zeytinyağı olduğu belirtmişlerdir (Owen ve ark. 2000b, 2004). Bu bağlamda zeytin, zeytinyağı ve içeriklerinin antikanserojen özelliklerinin araştırıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır.

Stoneham ve ark. (2000) çalışmalarında 28 farklı ülkede kolorektal kanser insidansı ve zeytin yağı kullanımı arasında ters bir korelasyon olduğunu belirlemişlerdir (Fabiani ve Morozzi 2010). Benzer şekilde ters korelasyonu, Martin-Moreno ve ark. (1994), La Vecchia ve ark (1995), Trichopoulou ve ark. (1995), Garcia-Segovia ve ark. (2006) meme kanserleri için belirlemişlerdir (Fabiani ve Morozzi 2010). Norrish ve ark. (2000), Hodge ve ark. (2004) gerçekleştirdikleri çalışmalarda aynı şekilde ters korelasyonu prostat kanserleri için belirlemişlerdir (Fabiani ve Morozzi 2010). Franceschi ve ark. (1999) ise çalışmalarında oral kanserler ile zeytinyağı kullanımı arasında ters korelasyon belirlemişlerdir (Fabiani ve Morozzi 2010). Bunların aksine iki

farklı çalışmada Franceschi (1999) zeytinyağı kullanımı ve prostat kanser insidansı arasında, Tzonou ve ark (1999)'da zeytinyağı kullanımı ve kolorektal kanserlerin insidansı arasında herhangi bir korelasyon belirleyememişlerdir (Fabiani ve Morozzi 2010).

Bartoli ve ark (2000) gerçekleştirdikleri çalışmada zeytinyağının, sıçanlarda kolon kriptlerinin ve kolon karsinomunun gelişimini engellediğini göstermişlerdir. Juan ve ark. (2010) zeytin meyve ekstraktlarının ve zeytinyağındaki önemli pentasiklik triterpenlerden olan, Eritrodiol, Olenoik asit ve Maslinik asidin antikanserojenik etkilerini araştırmışlardır. İnsan kolon kanseri hücre hattı olan HT-29 hücrelerinin kullanıldığı bu çalışmada hem zeytin meyve ekstraktı hem de pentasiklik triterpenler kanser hücrelerinde proliferasyonu azaltmış ve apoptozisi arttırmıştır.

Özellikle Hidroksityrosol'ün antikanserojen etkilerinin araştırıldığı farklı çalışmalar bulunmaktadır. Ragione ve ark. (2000) İnsan Promiyolitik Lökemi hücre hattı olan HL-60 hücrelerinde Hidroksityrosol'ün antiproliferatif etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Fabiani ve ark. (2002, 2008) yine HL-60 hücrelerinde Hidroksityrosol'ün hücre siklusu kontrol proteinlerine etki ederek proliferasyonu ve hücre büyümesini engellediklerini belirlemişlerdir. Hashim ve ark. (2008) çalışmalarında Hidroksityrosol'ün HT115 insan kolon kanseri hücrelerinde metastası engellediğini göstermişlerdir.

Zeytin, zeytinyağı ve içerikleri ile gerçekleştirilmiş genotoksite ve antigenotoksite çalışmaları da bulunmaktadır.

El-Nahas ve ark. (1993) sıçanlarda radyasyonla indükledikleri kromozom kırıklarına karşı zeytinyağının, E vitamininden daha etkili bir koruma sağladığını belirlemişlerdir (Antunes ve Bianchi 2010). Antunes ve Takahashi (1999) yine sıçanlarda Doksorubusin tarafından indüklenmiş kromozom aberasyonlarının zeytinyağı ile indirgendini göstermişlerdir. Evangelista ve ark. (2004, 2006) sıçan kemik iliği kromozom aberasyonları testi ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında zeytinyağının herhangi bir genotoksik ve sitotoksik etkisinin bulunmadığını göstermişlerdir. Rojas-Molina ve ark. (2005) çalışmalarında *Drosophila* SMART (Somatic Mutation and

Recombination Test) yöntemini kullanarak soya yağı, susam yağı ve zeytinyağının mutajenik etkilerini araştırmışlardır. Sonuçta, susam ve soya yağının aksine, doğal zeytinyağının herhangi bir mutajenik etkisinin bulunmadığını belirlemişlerdir. Nouis ve ark. (2005) çalışmalarında T- lenfotik Jurkat hücrelerinde komet yöntemi ile H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarı üzerine zeytinyağının antigenotoksik etki gösterdiğini belirtmişlerdir. Ancak aynı çalışmada 100 µg/ ml'nin üzerindeki zeytinyağı dozlarının genotoksik etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Nouis ve ark. (2005) PC3 insan prostat kanser hücre hattında, zeytin fenolikleri olan Hidroksityrosol, Tyrosol ve Kafeik asitin genotoksik etkilerini ve H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarı üzerine antigenotoksik etkilerini Komet yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Sonuçta her üç fenolik bileşiğin de genotoksik olmadığını, aksine her üçünün de antigenotoksik olduğunu belirtmişlerdir. Gill ve ark. (2005) HT29 insan kolon kanseri hücre hattında komet testini kullanarak zeytinyağının fenolik ekstraktlarının, H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarlarını azalttıklarını belirlemişlerdir. Grasso ve ark. (2007) insan periferik kan lenfosit kültürlerinde H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarlarına karşı hidroksityrosol'ün antigenotoksik etkisini araştırmışlardır. Hidroksityrosol'ün H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarlarına karşı, antigenotoksik etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

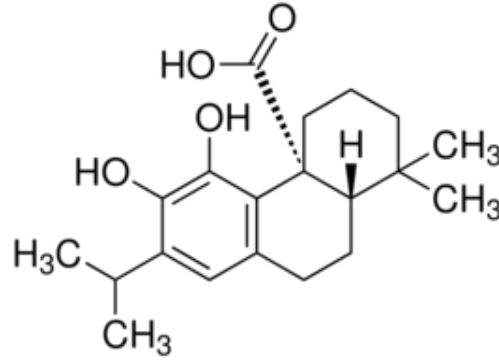
Weinbrenner ve ark. (2004) 12 sağlıklı erkek donörle 4 gün süreli bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Günde 25 ml zeytinyağı tüketen donörlerin lenfositlerinde 8- oxo-dG (8 – Oksijen deoksiguanozin) miktarlarında azalma belirlemişlerdir. Benzer şekilde Machowetz ve ark. (2007) 182 sağlıklı erkek donörle 3 hafta süren bir çalışma gerçekleştirmişlerdir. Çalışmada donörler, günde 25 ml zeytinyağı tüketmiştir. Donörlerin lenfositlerinde 8- oxo-dG (8 – Oksijen deoksiguanozin) miktarlarında azalma belirlenmiştir.

Hillestrom ve ark. (2006) çalışmalarında 3 hafta süre ile günde 25 ml zeytinyağı tüketen 28 sağlıklı erkek donörün ürünlerinde Etano-DNA adduct seviyelerini araştırmışlardır. Ancak zeytinyağı tüketiminin bu parametre üzerine herhangi bir etkisini belirleyememişlerdir. Salvini ve ark. (2006) 8 hafta süre ile günde 50 g zeytinyağı tüketen postmenopozal dönemdeki 10 gönüllü kadınla gerçekleştirdikleri çalışmada

komet yöntemi ile lenfositlerde DNA hasarı araştırmışlardır. Sonuç olarak zeytinyağı tüketiminin DNA hasarını azalttığını belirlemişlerdir.

2.4.2.Karnosik asit (KAR)

Kimyasal formülü $C_{20}H_{28}O_4$ ((4aR,10aS)-5,6-dihidroksi-1,1-dimetil-7-propan-2-yl-2,3,4,9,10,10a-hekzahidrofenanteren-4a-karboksilik asit), moleküler ağırlığı 332,43 g/mol, CAS numarası; 3650-09-7 olan karnosik asitin genel kimyasal yapısı Şekil 2.21 de gösterilmiştir.



Şekil 2.25. Karnosik asit'in Kimyasal yapısı (Anonim 2012d)

Karnosik asit, Lamiaceae familyasından biberiye (*Rosmarinus officinalis*) ve Adaçayı (*Salvia officinalis*) bitkilerinde bulunan bir diterpendir. (Wenkert ve ark. 1965, Aeschbach ve ark. 1990, Schwarz ve Ternes 1992. Aruoma ve ark 1992, Cuvelier ve ark. 1994, Frankel ve ark. 1996. Cuvelier ve ark. 1996, Bosch ve ark. 1999, Masuda ve ark. 2001, Munne'- Del Ban~o ve ark. 2004, Del Bano ve ark. 2006). Shan ve ark. (2005) gerçekleştirdikleri çalışmada biberiye ekstraktlarında kuru ağırlık olarak KAR miktarını 655,2 mg/100g Adaçayı ekstraktlarında ise KAR miktarını yine kuru ağırlık olarak 273,8 mg/100g olarak belirlemişlerdir.

Doğrudan KAR ile gerçekleştirilmiş çalışmalar sınırlı sayıda olsa da biberiye ve adaçayı ekstraktları ile gerçekleştirilmiş pek çok çalışma bulunmaktadır.

Adaçayında KAR dışında, ekstraktlara antioksidan özellik kazandıran farklı kimyasallar da bulunmaktadır. Bunların önemli olanları; Rosmarinik Asit, Syringic Asit, P Koumarik Asit, Kafeik Asit, Resveratrol, Astringin, Kateşin, Epikateşin, Kaempferol, Kuersetin, Luteolin, Apigenin şeklinde sıralanabilir (Generalic ve ark. 2012).

Adaçayının ve ekstraktlarının, çeşitli etkileri üzerine gerçekleştirilmiş pek çok çalışma bulunmaktadır. Örneğin, Rutherford ve ark. (1992) ile Kavvadias ve ark. (2003) çalışmalarında adaçayının sedatif ve hipnotik etkilerini ortaya koymuşlardır.

Akhondzadeh ve ark (2003) çalışmalarında ada çayı ekstraktlarının hafıza güçlendirici etkilerini ortaya koymuşlardır. Adaçayı bitkisinin ekstraktları ile ilgili, özellikle hafıza güçlendirici etkisine yönelik pek çok çalışma bulunmaktadır. Kennedy ve ark. (2006), Scholey ve ark. (2008), Moss ve ark. (2010) benzer çalışmalarla Salvia ekstraktlarının hafıza güçlendirici etkilerini ortaya koymuşlardır. Salvia ekstraktlarının hafıza güçlendirici etkisini daha önce gerçekleştirdikleri çalışmalarla ortaya koyan; Perry ve ark. (1996, 2000, 2003), Savelev ve ark. (2003) Salvia ekstraktlarının Alzheimer hastalığının semptomatik tedavisinde kullanılabileceğini önermişlerdir. Rodriguesa ve ark. (2012) gerçekleştirdikleri çalışmada Salvia ekstraktlarının Antinociceptiv (ağrılı uyaranlara karşı duyarlılığın azalması) ve anti-inflammatuar etkiye sahip olduklarını belirtmişlerdir. Amin ve Hamza (2005) gerçekleştirdikleri çalışmalarında Azathioprin tarafından indüklenen hepatotoksisitenin Salvia ve Rosmery ekstraktları tarafından azaltıldığını belirlemişlerdir. Bunların dışında Mayer ve ark. (2011) gerçekleştirdikleri olgu sunumunda Salvia ekstraktının bir dermal allerji türü olan kontakt dermatit gelişimine neden olduğunu belirtmişlerdir.

Salvia ekstraktlarının, karsinogenez ve tümör büyümeleri üzerine etkileri, kanser tedavisinde yardımcı etkileri, antikanser ve antigenotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar da bulunmaktadır.

Loizzo ve ark. (2007) gerçekleştirdikleri çalışmada, amelanotik melanoma C32, renal hücreli adenokarsinoma ACHN, hormon-bağımlı prostat karsinoma LNCaP ve MCF-7 meme kanser hücre hatlarını kullanmışlardır. Araştırmacılar, bu çalışmalarında Salvia

ile birlikte çeşitli bitkilerin esansiyel yağlarının bu hücre hatları üzerine sitotoksik etkilerini sülfordamin B (SRB) yöntemi ile araştırmışlardır. Salvia esansiyel yağlarının GC (Gaz kromatografisi) analizlerinde Karnosik asit içermediğini belirlemişlerdir. Salvia'nın IC₅₀ konsantrasyonlarını µg/ml cinsinden, C32 hücreleri için 367,43 ± 1,5, ACHN hücreleri için 108,70 ± 1,2 olarak belirlemişlerdir. LNCaP ve MCF-7 hücreleri için ise denedikleri 6 farklı bitkinin esansiyel yağlarının hepsinin IC₅₀ değerlerinin pozitif kontrol olarak kullanılan Vinblastin ve Taxol'den daha yüksek çıktığını belirlemişlerdir. C32 hücrelerinde, Karnosik asit içermeyen Salvia yağlarının IC₅₀ konsantrasyonunun, denen 6 farklı bitki içinde en yüksek değer olduğunu, ACHN hücreleri için ise 4. en yüksek değer olduğunu belirlenmiştir.

Lima ve ark (2007) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, Salvia ekstraktının, Hepatoselüler karsinoma hücre hattı olan HepG2 hücrelerinde, *ter*-butil hidroperoksit (*t*-BHP) tarafından indüklenen toksisiteye karşı etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak Salvia ekstraktlarının HepG2 hücrelerini, *t*-BHP tarafından indüklenen hücre ölümüne, lipid peroksidasyonuna ve Glutatyon S Transferaz (GST) enzim eksikliğine karşı koruduğunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar bulgularına dayanarak, *in vivo* modellemelerle, çeşitli Karaciğer hastalıklarına karşı Salvia ekstraktlarının koruyucu etkilerinin araştırılması gerektiğini vurgulamışlardır.

Xavier ve ark. (2009) çalışmalarında Salvia ekstraktlarının, MAPK/ERK ve PI3K/Akt sinyal iletim yolağında farklı mutasyonlara sahip, insan kolorektal kanser hücre hatları olan HCT15 ve CO115 hatları üzerine antikanserojenik etkilerini araştırmışlardır. Araştırmada MTT, Tunel ve western blot yöntemleri kullanılarak Salvia ekstraktının proliferasyon, apoptoz ve sinyal iletim yolağı üzerine etkileri araştırılmıştır. Salvia ekstraktı her iki hücre hattında da apoptozisi indüklerken, proliferasyonu sadece HCT15 hücrelerinde inhibe edebilmiştir. Mutant K-ras nedeniyle sürekli bölünme sinyali ileten HCT15 hücrelerinde Salvia ekstraktı ERK fosforilasyonunu inhibe ederek proliferasyonu durdurmuştur. Salvia ekstraktının bu antiproliferatif etkisi ve apoptotik etkisi üzerine Xavier ve ark. Salvia'nın antikanserojen bir ajan olarak kullanılabileceğini ön görmüşlerdir.

Patenkovic ve ark (2009) çalışmalarında *Salvia* ekstraktının antimutajenik etkisini araştırmışlardır. Çalışmada mutajenik ajan olarak Metil metan Sülfonat (MMS) kullanılmıştır. Yöntem olarak ise *Drosophila melanogaster* somatik mutasyon ve rekombinasyon test (SMART) yöntemi kullanılmıştır. Sonuç olarak *Salvia* ekstraktının MMS tarafından indüklenmiş mutasyonları indirgediği belirlenmiş ve *Salvia* ekstraktının kuvvetli bir antimutajenik ajan olduğu vurgulanmıştır.

Keshavarz ve ark. (2010) çalışmalarında İnsan Umbilikal vena endotelial hücreleri (HUVEC) ve Sıçan aorta modeli kullanarak farklı çözenlerle hazırlanmış *Salvia* ekstraktlarının antiangiogenetik etkilerini araştırmışlardır. Bu çalışmada *Salvia*'nın Etanol ve hekzan ekstraktı hem HUVEC hücrelerinde hem de sıçan aorta modelinde kapiler tüp formasyonunu inhibe etmiştir. Bu bulgularına dayanarak Keshavarz ve ark. *Salvia*'nın özellikle kanser tümörlerinin büyümesinde ve metastazında önemli bir süreç olan angienez sürecine karşı kullanılabilir bir antiangiogenetik ilaç olarak kullanılabilirliğini ileri sürmüşlerdir.

Ramos ve ark (2012) gerçekleştirdikleri çalışmalarında ise *Salvia* ekstraktlarının HCT15 ve CO115 kolon kanseri hücre hatlarında DNA hasarı oluşumuna karşı etkilerini araştırmışlardır. DNA hasar ajanı olarak H₂O₂, N-metil-N-nitrosure (MNU) ve 1,3-bis-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) kullanmışlardır. DNA hasar ölçümlerini ise komet yöntemi ile gerçekleştirmişlerdir. Sonuç olarak ise *Salvia* ekstraktlarının yukarıdaki ajanlar tarafından oluşturulan DNA hasarlarını indirdiklerini belirlemişlerdir.

Bauer ve ark. (2012) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, *Salvia officinalis* yapraklarının etilasetat ekstraktlarından elde ettikleri karnosol ve karnosik asit'in insan periferik kan lenfositleri ve Akciğer epitel adenokarsinom hücreleri olan A549 hücrelerinde, Prostaglandin E2 (PGE2) üzerine etkilerini araştırmışlardır. Eicosanoilerden (Hormon benzeri etkileri olan yağ asidi türevi 20 karbonlu bileşik) olan PGE2 inflamasyon ve tümörogenesiste rol oynamaktadır (Koeberle ve Werz 2009). PGE2 Serbest araşidonik asitten PGE2 sentaz-1 (PGES-1) veya isenzimi olan COX-2 (Siklooksijenaz) enzimleri tarafından sentezlenir. Her iki izoenzimde proinflamatuvar durumlar tarafından indüklene

bilmektedir ve pek çok kanser türünde overekspresyon olmaktadır. COX -2 ve PGES-1 in inhibisyonu, inflamasyonu, ateşi, ağrıyı indirgediği kadar, tümörögenesisi ve metastası da indirgemektedir (Smith ve ark. 2000, Koeberle ve Werz 2009, Rådmark ve Samuelsson 2010). Bauer ve ark. (2012) çalışmalarında PGES-1 'in Salvia dan elde edilen Karnosol ve Karnosik asit tarafından kuvvetli bir şekilde inhibe edildiğini göstermişlerdir. Bu neddenle araştırmacılar hem Karnosol hem de Karnosik asit'in antikanserojenik ve anti inflamatuvar ajan olarak kullanılabilceğini vurgulamaktadırlar.

Vandecasteele ve ark. (2012). Androjen yoksunluğu terapisi uygulanan prostat kanserli hastalara, 4 hafta boyunca günde üç sefer, oral olarak 150 mg Salvia ekstratı kullandırmışlardır. Çalışmada, Salvia ekstraktlarının, Androjen yokluğu terapisinin en önemli yan etkisi olan sıcak basması şikâyetine etkisi araştırılmıştır. Araştırmacılar, Salvia ekstraktının sıcak basması şikâyetini azalttığını belirlemişlerdir.

KAR'ın daha çok miktarda bulunduğu *Rosmarinus officinalis* bitkisi ile de gerçekleştirilmiş pek çok benzer çalışma bulunmaktadır.

Örneğin biberiye ekstraktları kullanılarak gerçekleştirilmiş antimikrobiyal aktivite çalışmaları bulunmaktadır. Giner ve ark. (2012) yaptıkları çalışmada biberiye ekstraktlarının da bulunduğu çeşitli bitkisel ekstraktların antibakteriyel ve antifungal etkilerini araştırmışlardır. *S. aureus*, *Bacillus cereus*, *E. coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella enterica*, gibi bakteriler ile *Pichia anomala*, *Pichia membranaefaciens* *Saccharomyces cerevisiae*, *C. albicans*, *P. digitatum*, *A. niger* gibi mantarların üzerine biberiye ekstraktlarının çeşitli dozlarının antibakteriyel ve antifungal etki gösterdiklerini belirlemişlerdir. Jordan ve ark. (2012) çalışmalarında biberiye ekstraktlarının *Listeria monoytogenes*, *Staphylococcus aureus*, *Salmonella Typhimurium* ve *Escherichia coli* bakterileri üzerine antimikrobiyal aktivitesini göstermişlerdir.

Posadas ve ark. (2009) çalışmalarında biberiye ekstraktlarının yaşlanma üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada 20 aylık Wistar sıçanlar kullanılmıştır. Sıçanlar, 12 hafta süre ile %0,2 ve %0,02 oranında biberiye ekstraktı içeren besinle beslenmişlerdir. Diseksiyon sonrasında Kalp ve Beyin (Korteks ve Hipokampus) dokularında, Katalaz,

Glutatyon peroksidaz, Süperoksid dismutaz ve Nitrik oksid sentaz enzim aktiviteleri analiz edilmiştir. Ayrıca bu dokularda, Lipid peroksidasyon ve ROS düzeyleri belirlenmiştir. Araştırmacılar biberiye ekstraktlarının beyin dokularında lipid peroksidasyonunu azalttığını bulmuşlardır. Kalp ve korteks dokusundaki Katalaz aktivitesinin biberiye tarafından düşürüldüğü belirlenmiştir. Yine biberiyenin Nitrik oksid sentaz aktivitesini kalp dokusunda azalttığını belirlemişlerdir. Bununla birlikte biberiyenin hipokampusdaki ROS seviyesini de düşürdüğünü belirlemişlerdir. Genel olarak, biberiye ekstraktının kalp ve beyin dokusunda, lipid peroksidasyonu ve ROS seviyesini azaltmıştır. Bunun dışında, ROS ve Lipid peroksidasyon seviyelerini beyin dokuları arasında farklı bulmuşlardır. Araştırmacılar, çalışmada elde ettikleri sonuçlara dayanarak biberiye takviyesinin yaşlı sıçanlarda oksidatif stres koşullarını iyileştirdiğini vurgulamışlardır.

Biberiye ekstraktlarının, kanser üzerine etkilerinin araştırıldığı pek çok çalışma bulunmaktadır. Ngo ve ark (2011) bu konu ile ilgili bir derleme hazırlamışlardır. Araştırmacılar, 1996 yılından Mart 2010 tarihine kadar gerçekleştirilmiş, biberiye ve çeşitli kanserler üzerine etkilerini içeren çalışmaların derlemesinde 8'i hayvan deneylerine dayalı 28'i *in vitro* olan toplam 36 çalışma belirlemişlerdir. Bu çalışmalardan direkt biberiye ekstraktı kullanılanlar aşağıda özetlenmiştir.

Singleton ve Nelshopen (1991) çalışmalarında 32 günlük, 20 sıçandan oluşan deney grubu kullanmışlardır. Dimetilbenz(a)antrasen (DMBA) ile oluşturulan meme tümörleri üzerine biberiye ekstraktlarının etkisini araştırmışlardır. Sonuç olarak biberiye ekstraktlarının, tümörleri yaklaşık %47 oranında indirgediğini belirlemişlerdir.

Huang ve ark. (1994) çalışmalarında, farelerde benzo(a)piren (B(a)P)/ 12-O-tetradecanilforbol-13-asetat (TPA) ve DMBA / TPA ile indüklediği epidermal tümörler üzerine topikal olarak uyguladıkları, biberiye ekstraktlarının, Karnosol ve Ursolik asidin antikanserojenik etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak, biberiye ekstraktları uygulanan doza bağlı olarak, fare başına epidermal tümör sayısını %40 ile %99 oranında indirmişlerdir. Karnosol uygulamaları için bu oran yine doza bağlı olarak %38 - %78 olarak belirlenirken Ursolik asit için % 61- % 45 olarak belirlenmiştir.

Offord ve ark. (1995,1997) çalışmalarında, biberiye ekstraktlarının, benzo(a)piren ve Aflatoksin B1 (AFB1) ile indüklenmiş oksidatif strese karşın antioksidan ve antikanser etkilerini insan bronşial epitel hücreleri olan B.CMVIA2 ve B.CMV3A4 hücrelerinde ve akciğer epitel hücreleri olan T.CMVIA2 ve T.CMV3A4 1131 hücrelerinde araştırmışlardır. Sonuç olarak araştırmacılar, 5 µg/mL'lik biberiye ekstraktlarının antikanser ve antioksidan özelliklerini belirlemişlerdir. Biberiye ekstraktlarının bu özelliklerini gösterirken faz I enzimlerinden sitokrom p450'yi katalizleyerek prokarsinojenlerin metabolik aktivitelerini inhibe ettiğini ve GST gibi faz II enzimlerini katalizleyerek detoksifikasyonu indüklediklerini belirlemişlerdir.

Singletery ve ark. (1996) 36 günlük 5-8 sıçandan oluşan gruplarla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, DMBA ile indüklenmiş, palpasyon ile hissedilen meme adenokarsinomu üzereine % 0,5 lik biberiye ekstraktının ve intraperitoneal (ip) olarak uyguladıkları 100 mg/kg ve 200 mg/kg Karnosol'ün antikanserojenik etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, sonuç olarak hem biberiye ekstraktının hem de Karnosol'ün palpe edilebilen tümör sayısını azalttığını belirlemişlerdir.

Amagase ve ark. (1996) 36 günlük, 4-5 sıçandan oluşan gruplarla DNA adduct oluşturan DMBA'nın sıçan meme dokusu hücrelerinin DNA larındaki DNA adduct miktarı üzereine %0,5-1 lik biberiye ekstraktının etkisini araştırmışlardır. ³²P yöntemi ile belirledikleri DMBA-DNA adduct miktarı üzereine %0,5 lik biberiye ekstraktlarının daha yüksek bir indirgeyici etki gösterdiklerini belirlemişlerdir. Bunun üzereine araştırmacılar biberiye ekstraktlarının doz'a bağlı olarak sıçan meme dokusu hücrelerinin DNA'sını koruduğunu vurgulamışlardır.

Singletery ve Rokusek (1997) çalışmalarında, 7 haftalık, 12 farede vücut ağırlığının %0,6 oranındaki biberiye ekstraktının mide ve karaciğerdeki Glutasyon S Transferaz ve Oksijen Reduktaz enzimlerinin aktivitesine etkisini araştırmışlardır. Biberiye ekstraktlarının bu enzimlerin aktivitelerini arttırdıklarını belirleyen araştırmacılar, biberiyenin, fare karaciğer ve midesini karsinojenik ve/ veya toksik ajanlardan koruma potansiyeline sahip olduğunu vurgulamışlardır.

Kitano ve ark. (2000) çalışmalarında, 7 haftalık, 15 sıçanda Dietilnitrozamin ile indüklenmiş hepatokarsinogenesis üzerine 5 gün süresince günde 10 mg/kg olacak şekilde oral olarak verilen biberiye ekstraktının etkisini araştırmışlardır. Biberiye ekstraktının sıçan karaciğerinde cm^2 'ye düşen Dietilnitrozamin tarafından ündüklenen Glutatyon S Transferaz aktivitesini indirgediğini belirlemişlerdir.

Salemonova ve ark. (2002) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, kolon kanser hücre hattı olan CaCo-2 ve Hamster akciğer hücre hattı olan V79 hücrelerinde, H_2O_2 ve görünür ışık tarafından oluşturulan, Metilen mavisi ile belirlenebilen DNA hasarları üzerine biberiye ekstraktlarının etkisini komet yöntemi ile araştırmışlardır. Araştırmacılar çalışmalarında hücreleri maruziyetten 24 saat önce 0,3 $\mu g/ml$ ve 2 saat önce 30 $\mu g/ml$ etanolik biberiye ekstraktlarına maruz bırakmışlardır. Sonuç olarak her iki muamele grubunda da biberiye ekstraktlarının, H_2O_2 ve görünür ışık tarafından oluşturulan, Metilen mavisi ile belirlenebilen DNA hasarlarını indirgediğini belirlemişlerdir.

Leal ve ark (2003) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, K562 (lösemi), MCF7 (meme), NCIADR (multi ilaç resistant meme), NCI460 (akciğer), UACC62 (melanoma), OVCAR (ovaryum), HT29 (kolon), PCO3 (prostat), 786 (böbrek) olmak üzere dokuz farklı kanser hücre hattında 0,25; 2,5; 25 ve 250 $\mu g/mL$ 'lik biberiye ekstraktı dozlarını kullanarak sülfürodamin B (SRB) yöntemi ile antikanser aktivite araştırmışlardır. Araştırmacılar bunun yanında antioksidan aktivite de ölçmüşler, biberiye ekstraktlarında yüksek oranda antioksidan aktivite belirlemişlerdir. Ancak çalışılan biberiye dozların tamamının, kullanılan hücre hatlarının hiç birinde anti kanser aktivite göstermediğini belirlemişlerdir.

Visanji ve ark. (2006) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, 500-1000 mg/kg'lık biberiye ekstraktlarının, farelerde DMBA tarafından indüklenen epidermal kanserlere karşın etkileri araştırılmıştır. Araştırmacılar, sonuç olarak biberiye ekstraktlarının, epidermal tümörlere karşın indirgeyici etkileri olduğunu belirlemişlerdir.

Biberiye ekstraktları yerine KAR'ın kullanıldığı benzer çalışmalar da bulunmaktadır. Bu çalışmalardan örnekler aşağıda verilmiştir.

Fiander ve Schneider (2000) çalışmalarında, insan beyin nöroblastoma hücreleri olan IMR-32 hücrelerinde H₂O₂ tarafından indüklenen oksidatif strese karşı KAR'ın etkilerini GST aktivitesini ölçerek araştırmışlardır. Aynı zamanda MTT yöntemi ile KAR'ın antiproliferatif etkileri de araştırılmıştır. Bu çalışmada, araştırmacılar KAR'ın proliferasyonu indirgediği aynı zamanda GST aktivitesini arttırarak hücreleri oksidatif stresten koruduğunu belirlemiştir.

Steiner ve ark. (2001) çalışmalarında, insan miyaloid lösemi hücreleri olan HL-60 ve U937 hücrelerini kullanarak KAR'ın antiproliferatif etkilerini araştırmışlardır. Sonuç olarak KAR için IC₅₀ değerini 6–7µM olarak belirlemiştirler. Araştırmacılar, KAR'ın lösemi hücrelerinde tek başına antiproliferatif ajan olarak ve farklı, doğal antikanser bileşiklerle birlikte büyüme inhibitörü ve diferansiyasyonda etkili ajan olarak kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Offord ve ark. (2002) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, 26 yaşında bir erkekten kökenlenen insan dermal fibroblast hücre kültürlerinde, UVA harabiyetine karşı KAR'ın etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada KAR'ın 0,3 ve 3 µM'lık konsantrasyonları kullanılmıştır. Araştırmacılar UVA tarafından indüklenen Kollagenaz metalloproteinaz 1 (MMP-1) ve heme-oksijenaz I (HO-1) genlerinin ekspresyonuna KAR'ın etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar gerek UVA'nın hasarının belirteci olarak kullandıkları MMP-1 gerekse oksidatif stres belirteci olarak kullandıkları HO-1 genlerinin ekspresyonunun KAR tarafından indirgeniğini belirlemiştirler. Bulgularından hareketle araştırmacılar KAR'ın fotoprotektif etkiye sahip bir antioksidan olduğunu vurgulamışlardır.

Danilenko ve ark (2003) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, insan miyaloid lösemi hücreleri olan HL-60 hücrelerinde 1α,25-dihidroksivitamin D3 (1,25D3) ile birlikte KAR kullanıldığında, diferansiyasyonu pozitif etkilediği belirlenmiştir. Araştırmacılar

buradan hareketle KAR'ın Vitamin D ile birlikte miyaloid lösemnin tedavisinde kullanılabileceğini vurgulamışlardır.

Sancheti ve Goyal (2006a,b), Sharabani ve ark. (2006) çalışmalarında insan miyaloid lösemi hücreleri olan HL60 ve U937 hücrelerinde, kemoteropatik ajan olan $1\alpha,25$ -dihidroksivitamin D3 (1,25D3)'ün düşük dozlarının KAR ile birlikte kullanılmasıyla antiproliferatif etkinin kuvvetlendiğini göstermişlerdir. Aynı şekilde farelerle gerçekleştirdikleri çalışmalar ile yine KAR'ın *in vivo* da da antikanserojenik etkiyi kuvvetlendirdiğini belirlemişlerdir.

Del Bano ve ark. (2006) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, KAR, Karnosol ve Rosmarinik asitin insan lenfositlerinde radioprotektif etkilerini MN yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Uygulamaları γ ışını ile ışınlamadan önce ve sonra olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleştirmişlerdir. Her iki uygulama şeklinde de γ ışınının arttırdığı MN frekansı üzerine indirgeyici etki gösteren bileşikler sadece KAR ve Karnosol olmuştur. Buradan hareketle araştırmacılar, KAR'ın antimitojenik bir ajan olduğuna vurgu yapmışlardır.

Costa ve ark. (2007). İnsan Hepatoblastoma hücreleri olan Hep G2 hücrelerinde AFB1 ile indüklenen sitotoksosite ve genotoksosite üzerine KAR'ın etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar KAR'ın 10, 20, 30 μ M'lık dozlarını kullanmışlardır. Hücre canlılığını Alamar Blue (AB) yöntemi ile DNA hasarlarını ise 8-oxo-dG Elisa Kiti ile belirlemişlerdir. Araştırmacılar, sonuç olarak AFB1 tarafından indüklenen sitotoksositeyi, 10, 20, 30 μ M'lık KAR dozlarının sırasıyla; %16, %26, %63 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Bununla birlikte 30 μ M'lık KAR dozunun AFB1 tarafından indüklenen 8-oxo-dG miktarını da %57 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar KAR'ın AFB1 toksisitesine karşı kimyasal engelleyici olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir.

Satoh ve ark. (2008) çalışmalarında KAR'ın nöroprotektif etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar KAR'ın, Keap1/Nfr2 transkripsiyonel yolda spesifik Keap1 sistein kalıntılarına bağlanarak nöron hücrelerini oksidatif stresden koruduğunu

belirlemişlerdir. Araştırmacılar bulgularına dayanarak KAR'ın yeni tip nöroprotektif elektrofilik bileşik olduğunu vurgulamışlardır.

Takahashi ve ark. (2009) gerçekleştirdikleri çalışmalarında fare preadiposit hücreleri olan 3T3-L1 hücrelerinde özellikle faz II enzim genlerinin ve glutatyon metabolizması genlerinin cDNA mikroarrayi ile KAR'ın diferansiyasyon üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, KAR'ın intraselüler Glutatyon (GSH) seviyesini arttırdığını belirlemişlerdir. Çalışmada, Preadipositlerin, adiposite dönüşümünde kritik bir role sahip olan GSH seviyesindeki artış sayesinde preadipositlerin adiposit hücrelerine farklılaşamadığını belirlenmiştir. Bulguları ışığında, araştırmacılar KAR'ın obezite ilişkili hastalıklara karşı potansiyel bir ilaç olabileceğini vurgulamışlardır.

Yu ve ark. (2009) gerçekleştirdikleri çalışmalarında insan promonositik lösemi hücreleri olan U937 hücrelerinin IL-1 β (interlökin 1 β) uygulanmış insan umbilikal vena endotel hücreleri (HUVEC) ile adezyon etkileşimleri üzerine 10 ve 20 $\mu\text{mol/L}$ dozlarda KAR'ın etkilerini adezyon moleküllerinin ekspresyonunu analiz ederek araştırmışlardır. Araştırmacılar, IL-1 β tarafından indüklenen adezyon moleküllerinin ekspresyonunun KAR tarafından indirgeniğini belirlemişlerdir. Buradan hareketle, KAR'ın antiinflamatuvar etkili bir bileşik olduğunu vurgulamışlardır.

Nabekura ve ark. (2010) çalışmalarında, KB C2 multi ilaç dirençli insan servikal karsinoma hücrelerini kullanmışlardır. KAR, Karnosol, Rosmarinik asit, Ursolik asidin 50 μM dozlarının bu hücrelerdeki ilaç akış transfer proteinleri olan P-glikoproteinler ve ilaç resistan proteinleri üzerine etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar sonuç olarak, özellikle KAR'ın ilaç akış transfer proteinlerini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. Bulgularına dayanarak özellikle KAR gibi biberiye fitokimyasallarının kemoterapide anti kanser ilaçların etkisini arttırıcı olarak kullanılabileceğini önermişlerdir. Yine aynı çalışmada insan melanoma hücreleri olan M14 ve A375 hücreleri üzerinde biberiye ekstraktının 10–80 μM 'lık dozlarının etkisi araştırılmıştır. Biberiye ekstraktının bu hücrelerde proliferasyonu ve DNA hasarını inhibe ettiğini, apoptozisi ise indüklediğini belirlemişlerdir.

3. MATERYAL VE YÖNTEM

Bu çalışmada Tyrosol'ün 3 farklı dozunun genotoksik etkisi ile birlikte, Mitomisin C (MMC) ve Siklofosfamid (SKF) tarafından indüklenen genotoksik etkiye karşı antigenotoksik etkisi, *in vivo* olarak fare kemik iliği hücrelerinde MN, CA ve Komet testleri ile araştırıldı. Aynı şekilde Tyrosol'ün 3 farklı dozunun genotoksik etkisi ile birlikte, MMC ve 4 Hidroperoksisiklofosfamid (*SKF) tarafından indüklenen genotoksik etkiye karşı antigenotoksik etkisi, *in vitro* olarak insan periferik kan lenfosit hücrelerinde MN, CA, SCE ve Komet testleri ile araştırıldı. Çalışmada ayrıca Karnosik asit'in üç farklı dozunun genotoksik etkileri ile birlikte, MMC ve *SKF tarafından indüklenen genotoksik etkiye karşı antigenotoksik etkisi, *In vitro* olarak insan periferik kan lenfosit hücrelerinde CA, MN, SCE ve Komet testleri kullanılarak araştırıldı.

3.1. Kullanılan Cihazlar, Kimyasallar ve Çözeltiler

Etüv (LEEC). Santrifüj (Nüve, Hettich). Vorteks (Velp; vortex classic). pH metre (Hanna; HI 221). Hassas terazi (Shimadzu; AUW220D). Kaba terazi (Radwag; WTB2000). Pastör Fırını (Elektromag). Isıtıcılı manyetik karıştırıcı (Mtops MS300HS). Ultra saf su cihazı (MP; Minipure Destup). Laminar flow. Işık mikroskobu (Zeiss Primo Star. Olympus CX21. Nikon Eclipse E100). Flöresans mikroskop (Nikon, Eclipse 80i). Dijital Kamera (Kameram 21). Görüntü işleme tabanlı görsel tanı ve analiz sistemi (Mikrosistem; Comet assay yazılımı). Elektroforez güç kaynağı (Peqlab; Power300). Işık geçirmez elektroforez tankı (Aurogene; CSL-COM20).

RPMI 1640 Medium (Sigma R8758). Fetal Bovine Serum (Sigma F9665). Penisilin Streptomisin solusyonu (Sigma P4333). L Glutamin (Sigma G7513). Fitohemaglutinin (Sigma L8754). Metanol (Merck 106008). Glasiyal Asetik Asit (Merck 100056). Demecolcine (Sigma D7385). Sitokalsin B (Sigma C6762). BrdU (Sigma B5002). Bis Benzimid Hoechst no:33258 (Sigma B2883). Giemsa (Merck 109204). May-Grünwald Giemsa (Merck 101424). Dietil eter (Merck 100923). Etil Alkol (Merck 100983). Siklofosfamid (Sigma C0768). Tyrosol (Fluka 79058). Disodyum hidrojen fosfat iki sulu (Merck 106580). KCl (Merck 104936). NaCl (Merck

106404). Potasyum dihidrojen fosfat (Merck 104873). Trisodyum sitrat (Merck 106448). Mitomisin C (Sigma M0440). Dulbecco's PBS (Sigma D5652). Na₂EDTA (Sigma E5134). Tris (Merck 1.08387). Low Melting Point Agaroz (Sigma A9414). Sodyum Hidroksit (Sigma 06203). Triton X100 (Gerbü 2000). Dimetilsülfoksit DMSO (Merck 1.6743). Agaroz (Merck 1.01236). Histopaque (Sigma 10771). Etidyum bromür (Sigma E7637). Siklofosfamid (Sigma C0768). 4 Hidroperoksisiklofosfamid (Santa Cruz sc-206885). Trypan Blue (Sigma T8154).

In vitro kültür ortamı; 20 mL Fetal Bovine Serum, 2 mL L-Glutamin ve 0,5 mL Penicilin-Streptomisin karıştırıldı, RPMI 1640 medyum ile 100 mL'ye tamamlandı. Bu çözeltinin üzerine 1 mL Fitohemaglutinin eklendi. Hazırlanan kültür ortamı steril santrifüj tüplerine 5'er mL olacak şekilde bölündü ve -20 °C'de saklandı.

Na₂HPO₄; 18 g Na₂HPO₄ 1000 mL distile suda çözündü.

KH₂PO₄; 6,85 g KH₂PO₄ 500 mL distile suda çözündü.

pH 6,8 Fosfat Tamponu; Yukarıdaki şekilde hazırlanmış Na₂HPO₄ çözeltisinden 56 mL, KH₂PO₄ çözeltisinden 44 mL karıştırıldı.

pH 7 Fosfat Tamponu; Yukarıdaki şekilde hazırlanmış Na₂HPO₄ çözeltisinden 72 mL, KH₂PO₄ çözeltisinden 28 mL karıştırıldı. Bu karışım içerisinde 0,03 g KCl ve 0,82 g NaCl çözündü.

20XSSC çözeltisi; 8,82 g Trisodyum Sitrat ve 17,53 g NaCl 100 mL distile suda çözündü. 4 °C'de saklandı.

Stok Sitokalsin B çözeltisi; 1 mg sitokalsin B, 5 mL %20 lik etanol'de çözündü. -20 °C'de saklandı.

Stok BrdU çözeltisi; 7,7 mg BrdU 5 mL steril distile su ile çözündü. -20 °C'de saklandı.

Stok Hoechst no:33258 çözeltisi; 0,5 mg Hoechst no:33258 1 mL steril distile su ile çözüdü. -20 °C’de saklandı.

Stok MMC çözeltisi (*in vivo* için); 40 mg MMC %20 lik etanol’de çözüdü. Taze olarak hazırlandı.

Stok MMC çözeltisi (*in vitro* için); 0,825 mg MMC %20 lik etanol’de çözüdü. Taze olarak hazırlandı.

Stok SKF çözeltisi (*in vivo* için); 5 mg siklofosfamid 0,25 mL %20 lik etanol’de çözüdü. Taze olarak hazırlandı.

Stok *SKF çözeltisi (*in vitro* için); 3 mg 4 Hidroperoksisiklofosfamid 3 mL %20 lik etanol’de çözüdü. Taze olarak hazırlandı.

Stok Tyrosol çözeltisi (*in vivo* için); 10 mg tyrosol 0,25 mL %20 lik etanol’de çözüdü. Taze olarak hazırlandı.

Stok Tyrosol Çözeltisi (*in vitro* için); 1,1 mg tyrosol 10 mL %20 lik etanol’de çözüdü. Taze olarak hazırlandı.

PBS çözeltisi; 0,96 g Dulbecco’s PBS 100 mL steril distile su ile çözüdü.

Lysis çözeltisi; 29,22 g NaCl, 7,4448 g Na₂EDTA, 0,2422 g Tris, Steril distile su ile çözüdü. pH 10’a ayarlandı. Lysis işleminden 30 dakika önce toplam hacimin %1’i kadar Triton X100, %10’u kadar da DMSO eklendi.

Running çözeltisi; 0 ,747 g Na₂EDTA ve 24 g NaOH 2 L steril distile suda çözüdü. pH > 13 olacak şekilde hazırlandı.

Nötralizasyon çözeltisi; 4,8456 g tris 100 mL steril distile suda çözüdü. pH=7,5 olacak şekilde hazırlandı.

3.2. *İn Vivo* Deneyleer

3.2.1. Deneyleerde kullanılan hayvanlar

Tüm *in vivo* deneyleerde Uludağ Üniversitesi Deneyle Hayvanları Yetiştirme Uygulama ve Araştırma Merkezinden temin edilen 6-8 haftalık ortalama 20 g ağırlıkta balb/c türü erkek fareler kullanıldı. Tüm *in vivo* deneyleer, Uludağ Üniversitesi Hayvan Deneyleeri Yerel Etik Kurulu'nun 2009-10/03 nolu izni çerçevesinde gerçekleştirildi.

3.2.2. *İn vivo* doz denemeleri

Genotoksik etkili ajanlar olan MMC ve SKF'nin dozları, literatür taramaları sonrasında belirlendi (Siddique ve Afzal 2009, Agrawal ve Pandey 2009). Buna göre MMC'nin 2 mg/kg'lık, SKF'nin 50 mg/kg'lık dozları kullanıldı. Yapılan literatür taraması sırasında Tyrosol için gerçekleştirilmiş benzer bir çalışmaya rastlanmadığı için tyrosolün farklı dozları 2 erkek, 2 dişi olmak üzere toplam 4 faredede MN yöntemi ile denendi. Denenen Tyrosol dozları; 5 mg/kg, 12,5 mg/kg, 25 mg/kg, 50 mg/kg, 100 mg/kg, 150 mg/kg şeklinde idi.

3.2.3. *İn vivo* deneyle grupları

İn vivo deneyleer için hayvanlar 6'şar erkek fareden oluşan 13 gruba ayrıldı. Bu gruplarda her bir fareye, doz denemeleri sonrasında belirlenmiş olan, aşağıda belirtilen dozlarda kimyasal uygulaması intraperitoneal (İP) şekilde, 0,05 mL lik total hacimli enjeksiyonlar olarak uygulandı. Enjeksiyondan 24 saat sonra eter anestezi altındaki fareler disekte edildi. Doz denemelerinden sonra belirlenen deneyle grupları aşağıda belirtildi.

- 1.grup; Distile su uygulamasının gerçekleştirildiği negatif kontrol grubu,
- 2.grup; %20 lik Etanol uygulamasının gerçekleştirildiği solvent kontrol grubu,
- 3.grup; 50 mg/kg Tyrosol grubu,
- 4.grup; 100 mg/kg Tyrosol grubu,

5. grup; 200 mg/kg Tyrosol grubu,
6. grup; 2 mg/ kg MMC grubu,
7. grup; 2 mg/ kg MMC + 50 mg/kg Tyrosol grubu,
8. grup; 2 mg/ kg MMC + 100 mg/kg Tyrosol grubu,
9. grup; 2 mg/ kg MMC + 200 mg/kg Tyrosol grubu,
10. grup; 50 mg/kg SKF grubu
11. grup; 50 mg/kg SKF + 50 mg/kg Tyrosol grubu,
12. grup; 50 mg/kg SKF + 100 mg/kg Tyrosol grubu,
13. grup; 50 mg/kg SKF + 200 mg/kg Tyrosol grubu,

3.2.4. *In vivo* MN testi

Enjeksiyonlardan 24 saat sonra diseksiyon gerçekleştirildi. Eter anestezi altındaki farelerin arka ekstremitelerinden femur ve tibia kemikleri çıkarıldı. Çıkarılan kemiklerde, kemik iliği 1 mL fetal bovine serum ile yıkanarak steril santrifüj tüpüne aktarıldı. Fetal Bovine serum içerisindeki kemik iliği hücreleri, 1000 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatantın bir kısmı uzaklaştırıldı ve kalan süpernatant içerisinde hücreler süspanse edildi. Hücre süspansiyonu lamlara yayıldı ve 24 saat süre ile havada kurutularak fiksasyon sağlandı. Süre sonrasında lamalar önce %100 lük May Grünwald Giemsa boyası ile 3 dakika boyandı. Daha sonra 3 dakika %50 lik May Grünwald Giemsa boyası ile boyandı. May grünwald serisinden alınan lamalar yıkandıktan sonra pH 6,8 fosfat tamponu ile hazırlanmış olan % 5 lik Giemsa boyasında 20 dk. boyandı.

MN preparatlarının mikroskopik değerlendirmeleri ışık mikroskopunda 100X objektif ile gerçekleştirildi. Boyanmadan sonra daha genç eritrositler olan, ikili boyanma sayesinde daha koyu renkli ve mavi mor olarak boyanan Polikromatik eritrositler (PCE) ve daha açık renkli ve sarımsı portakal rengine yakın renkte boyanan Normakromatik eritrositler (NCE) değerlendirildi. Değerlendirme sırasında, her bir fare için, 1000 adet PCE hücresi sayıldı ve 1000 adet PCE hücresi içerisindeki MN’ler kaydedildi. 1000 PCE sayımı sırasındaki gözlenen tüm NCE’ler sayıldı ve bu NCE’ler içerisinde bulunan MN’ler de kaydedildi. Toplam 2000 hücrede PCE/NCE oranları

hesaplandı. Sonuç olarak 6'şar fareden oluşan bir deney grubu için toplam 6000 PCE hücresi içerisindeki MN ler değerlendirilmiş oldu. Aynı şekilde PCE/NCE oranının hesaplanmasında da bir deney grubu için toplam 12000 hücre değerlendirilmiş oldu. İn vivo MN testi sonuçlarının istatistiki değerlendirmesi SPSS 20 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey HSD testi (TuT) veya Tamhane's T2 testi (TT) kullanılarak gerçekleştirildi. Kombin uygulama gruplarında doza bağlılığı belirleyebilmek için regresyon analizi gerçekleştirildi.

3.2.5. İn vivo CA testi

İN vivo CA testi için diseksiyondan 2 saat önce farelere 4 mg/ kg olacak şekilde kolşisin enjeksiyonu yapıldı. Süre sonunda Eter anestezi altındaki farelerin arka ekstremitelerinden femur ve tibia kemikleri çıkarıldı. Çıkarılan kemiklerde, kemik iliği 1 mL Hanks Balanced Salt Solution (HBSS) ile yıkanarak steril santrifüj tüpüne aktarıldı. 5 dakika 1000 rpm de santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Hücreler 15 dakika, oda sıcaklığında 0,075 M KCl ile muamele edildi. 5 dakika 1000 rpm de santrifüj edildikten sonra süpernatant atıldı. Hücreler Metanol: Asetik asit (3:1) ile fikse edildi, 5 dakika 1000 rpm de santrifüj edildi ve süpernatant atıldı. Bu şekilde fiksasyon işlemi iki kez tekrarlandı, üçüncü fiksasyon 1 gece buzdolabında gerçekleştirildi. Sonrasında lam'a yayılan hücreler %5 lik giemsa ile 20 dakika boyandı.

CA preparatlarının mikroskopik değerlendirmeleri ışık mikroskopunda 100X objektif ile gerçekleştirildi. Boyanmadan sonra 40 tam kromozom içeren fare metafazlarından, her bir fare için 50 metafaz figürü değerlendirildi. Sonuç olarak 6'şar fareden oluşan bir deney grubu için 300 Metafaz değerlendirilmiş oldu. Bu sırada sayılan tüm hücrelerden yüzde mitotik indeks (%Mİ) değeri aşağıdaki formül yardımı ile hesaplandı.

$$\%Mİ = \frac{100 \times \text{Mitoz geçiren hücre sayısı}}{\text{Toplam Hücre}}$$

Gözlenen kromozomal aberasyonların tümü kaydedildi. Gap ve pulverizasyon dahil toplam aberasyon TA, gap ve pulverizasyon hariç toplam aberasyon TA- (G+P), Aberasyonlu hücre sayıları parametreleri ve %Mİ değerlerinin istatistiki analizleri SPSS

20 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey HSD testi (TuT) veya Tamhane's T2 testi (TT) kullanılarak gerçekleştirildi. Kombin uygulama gruplarında doza bağlılığı belirleyebilmek için regresyon analizi gerçekleştirildi.

3.2.6. *In vivo* komet testi

In vivo komet testi Singh ve ark. 1988'e göre gerçekleştirildi. Yöntemde Tsuda ve ark. (2000) Tice ve ark. (2000), Dhawan ve ark. (2009)'ın modifikasyonları uygulandı. Enjeksiyonlardan 24 saat sonra diseksiyon gerçekleştirildi. Eter anestezi altındaki farelerin arka ekstremitelerinden femur ve tibia kemikleri çıkarıldı. Çıkarılan kemiklerde, kemik iliği 1mL taze hazırlanmış PBS ile yıkanarak steril santrifüj tüpüne aktarıldı. Trypan Blue çözeltisi ve thoma lamı yardımı ile hücrelerin canlılıkları kontrol edildi. PBS ile $0,3 \times 10^6$ hücre / mL' lik süspansiyon hazırlandı (Dhawan ve ark. 2009). *In vivo* komet testinden önce hücrelerin yayılacağı lamalar hazırlandı. Lamlar % 0,8' lik agaroz ile kaplandı. Arka yüzeyleri silinerek temizlendi. PBS içerisindeki kemik iliği hücreleri süspansiyonundan 100 µl alınarak 37 °C lik su banyosunda mikrosantrifüj tüpleri içerisinde, 250 µl, %0,65 'lik LMA ile karıştırıldı. Bu süspansiyondan 50 µl alınarak önceden hazırlanan agaroz kaplı lamlara yayıldı ve üzerine 24 x 24 mm'lik lamel kapatılarak buz üzerine alındı. Bu şekilde her bir fare için iki lam hazırlandı. 5 dakika buz üzerinde bekletilen lamalar buzdolabında 0 °C bölmesinde 10 dakika bekletildi. Süre sonunda lameller uzaklaştırıldı ve lamalar bir gece boyunca 4 °C de lysis çözeltisi içerisinde bekletildi. Tüm bu işlemler ışıksız ortamda gerçekleştirildi. Ertesi gün lamalar ışık geçirmez komet tanklarına yerleştirildi. Tanklara, lamaların üzerlerini örtecek şekilde 4 °C lik, Running çözeltisi eklendi. Lamlar 20 dakika bu çözelti içerisinde bekletildi. Süre sonunda 25 V, 350 mA'de 25 dakika elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Elektroforez sonrasında lamalar 5 dakika nötralizasyon çözeltisi içerisinde bekletildi. Nötralizasyon işlemi sonrasında lamalar havada kurutuldu, kurutulma sonrasında soğuk absolü etanol'de 5 dakika bekletilerek fiksasyon gerçekleştirildi. İnceleme yapılacağı zaman lamalar 20 µg/mL konsantrasyonlu Etidyum bromür boyasında 2 dakika süreyle boyandı. İnceleme floresans mikroskop ile 20X büyütme kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir fare için, 50, 6'şar fareden oluşan bir deney grubu için toplam 300 hücrenin DNA sını içeren komet görüntülerinin analizi

mikrosistem komet yazılımı ile gerçekleştirildi. Komet testi sonuçlarından, 2001 yılında Almanya’da gerçekleştirilen uluslararası komet çalıştayında kabul gören ve halen uygulamada olan, komet çalışmalarında değerlendirilmesi önerilen (Browne 2009) üç parametre olan; Olive Tail Moment (OTM), Tail DNA (Kuyruk DNA%) ve Tail length (Kuyruk uzunluğu (µm)) parametreleri değerlendirildi.

Elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmeleri SPSS 20 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey HSD testi (TuT) veya Tamhane’s T2 testi (TT) kullanılarak gerçekleştirildi. Kombin uygulama gruplarında doza bağlılığı belirleyebilmek için regresyon analizi gerçekleştirildi.

3.3. *İn vitro* Deneyle

3.3.1. *İn vitro* deneylerde kullanılan donörler

İn vitro deneyleride, sigara ve alkol kullanmayan, bilinen herhangi bir sağlık sorunu bulunmayan toplam 5 gönüllü donör kullanıldı. Bu 5 donörden yaş ortalamaları 24,75 olan 2 bay, 2 bayan olmak üzere 4 gönüllü donör tyrosol deneylerinde kullanıldı. Tyrosol deneylerinde de kullanılan 3 donör ve bir farklı bayan donör olmak üzere karnosik asit deneylerinde de 2 bay 2 bayan olmak üzere 4 donör kullanıldı. Karnosik asit deneylerinde kullanılan donörlerin yaş ortalaması da 24,75 idi.

3.3.2. *İn vitro* doz denemeleri

Geotoksik etkili ajanlar olarak kullanılan MMC ve SKF’nin dozları daha önceki çalışmalardan ve literatür taramaları sonrasında belirlendi. *İn vitro* deneylerde CAS numarası; 39800-16-3 kimyasal formülü $C_7H_{15}Cl_2N_2O_4P$ olan ve siklofosfamid’in aktif metaboliti olan 4-hidroperoksisiklofosfamid (*SKF) kullanılmıştır. Buna göre belirlenen genotoksik etkili MMC dozu 0,3 µg/mL iken *SKF dozu ise 10 µg/mL oldu. Tyrosol ve Karnosik asit için 6 şar doz yaş ortalamaları 24,5 olan 1 bay 1 bayan donör kullanılarak MN testi ile denendi. Denenen dozlar: 0,0625 µg/mL, 0,125 µg/mL, 0,25 µg/mL, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL, 1,5 µg/mL şeklinde oldu.

3.3.3. *In vitro* deney grupları

Doz denemelerinden sonra *in vitro* MN, CA, SCE ve Komet testleri için aşağıda belirtilen deney grupları oluşturuldu.

1. grup; Distile su grubu;
2. grup; Etanol Kontrol grubu;
3. grup; 0,5 µg/mL Tyrosol grubu;
4. grup; 1 µg/mL Tyrosol grubu;
5. grup; 2 µg/mL Tyrosol grubu;
6. grup; 0,30 µg/mL MMC grubu;
7. grup; 0,30 µg/mL MMC + 0,5 µg/mL Tyrosol grubu;
8. grup; 0,30 µg/mL MMC + 1 µg/mL Tyrosol grubu;
9. grup; 0,30 µg/mL MMC + 2 µg/mL Tyrosol grubu.
10. grup; 20 µg/mL *SKF;
11. grup; 10 µg/mL *SKF+ 0,5 µg/mL Tyrosol grubu;
12. grup; 10 µg/mL *SKF+ 1 µg/mL Tyrosol grubu;
13. grup; 10 µg/mL *SKF+ 2 µg/mL Tyrosol grubu;
14. grup; 0,5 µg/mL Karnosik asit grubu;
15. grup; 1 µg/mL Karnosik asit grubu;
16. grup; 2 µg/mL Karnosik asit grubu;
17. grup; 0,30 µg/mL MMC + 0,5 µg/mL Karnosik asit grubu;
18. grup; 0,30 µg/mL MMC + 1 µg/mL Karnosik asit grubu;
19. grup; 0,30 µg/mL MMC + 2 µg/mL Karnosik asit grubu.
20. grup; 10 µg/mL *SKF+ 0,5 µg/mL Karnosik asit grubu;
21. grup; 10 µg/mL *SKF+ 1 µg/mL Karnosik asit grubu;
22. grup; 10 µg/mL *SKF+ 2 µg/mL Karnosik asit grubu.

Yukarıdaki deney grupları hem Tyrosol hem de Karnosik asit için ortak olan donörlerde oluşturulan gruplardır. Donörlerden biri sadece karnosik asit deneyleri için kullanılmıştır. Bu nedenle söz konusu donörde 1, 2, 6, 10 ve 14-22. gruplar oluşturuldu.

3.3.4. *In vitro* MN testi

In vitro MN testi Fenech ve Morley (1985)'e göre gerçekleştirildi. Buna göre 4 donörden (2 bay, 2 bayan) alınan periferik kandan 0,5 mL, 3.1'de açıklanan şekilde, 5 mL olarak hazırlanmış *in vitro* kültür ortamına steril koşullarda eklendi. Kültürler 72 saat süresince 37 °C'lik etüvlerde inkübasyona bırakıldı. 44. saatte sitokinezi durdurmak amacı ile 6 µg/mL olacak şekilde sitokalsin B eklendi. 48. saatte ise kültürler yukarıda açıklanan deney gruplarını oluşturacak dozlarda, deney çözeltileri eklendi. 72. saatte kültürler 800 rpm'de 8 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve dipteki hücrelerin üzerine 0.075 M, 4 °C sıcaklıktaki KCl eklendi ve hücreler 10 dakika süresince oda sıcaklığında KCl ile muamele edildi. Süre sonunda kültürler 800 rpm'de 8 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve dipteki hücrelerin üzerine 3:1 oranında, taze olarak hazırlanmış Metanol: Asetik asit çözeltisi pastör pipeti yardımı ile yavaş yavaş eklendi. Sonra kültürler 800 rpm'de 8 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve fiksatif ile hücre hasadı iki sefer daha aynı şekilde tekrar edildi. Son tekrarın ardından hücrelerin üzerine taze fiksatiften 0,5 mL eklendi ve her kültürden iki lam olacak şekilde yüksekten damlatma şeklinde hücreler lamlara yayıldı. Havada kurutularak lamlara fikse edilen hücreler pH 6,8 lik fosfat tamponu ile hazırlanmış %5' lik giemsa boyası ile 15 dakika boyandı. Tüm bu deneyler iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Boyama sonrasında preparatların değerlendirilmesi ışık mikroskopunda 40X büyütmede gerçekleştirildi. Preparatlar değerlendirilirken her bir kültürden 2000 hücre sayıldı ve bu hücrelerde bir (BNH), iki (İNH), üç (ÜNH) ve dört (DNH) nükleuslu hücrelerin sayıları belirlendi. Gözlenen MN'ler ve bu MN'lerin kaç nükleuslu hücrelerin içinde gözlendikleri kaydedildi. İki nükleuslu 1000 hücre içerisindeki MN lerin sayıları (tekrarları ile birlikte her bir deney grubu için toplam 8000 İNH içerisindeki MN'ler değerlendirilmiştir) belirlendi. Aşağıdaki formül kullanılarak hesaplanan nükleus bölünme indeksi (Nuclear Division Index NDI) ve 1000 İNH içindeki MN sayılarının istatistiki değerlendirmeleri SPSS 20 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey HSD testi (TuT) veya Tamhane's T2 testi (TT) kullanılarak gerçekleştirildi. Kombin uygulama gruplarında doza bağlılığı belirleyebilmek için regresyon analizi gerçekleştirildi.

$$NDI = \frac{[(1 \times BNH) + (2 \times İNH) + (3 \times ÜNH) + (4 \times DNH)]}{\text{Toplam Hücre}}$$

3.3.5. *In vitro* CA testi

In vitro CA testi Benn ve Perle (1992)'ye göre gerçekleştirildi. Buna göre 4 donörden (2 bay, 2 bayan) alınan periferik kandan 0,5 mL, bölüm 3.1'de açıklanan şekilde, 5 mL olarak hazırlanmış *in vitro* kültür ortamına steril koşullarda eklendi. Kültürler 72 saat süresince 37 °C'lik etüvlerde inkübasyona bırakıldı. 48. saatte kültürler yukarıda açıklanan deney gruplarını oluşturacak dozlarda, deney çözeltileri eklendi. 70. saatte kültürler hücre bölünmelerini metafazda durdurabilmek amacı ile 0,2 µg/mL olacak şekilde Kolşisin eklendi. 72. saatte kültürler 3500 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı dipte kalan hücrelerin üzerine 0.075 M, 37 °C sıcaklıktaki KCl eklendi ve hücreler 15 dakika süresince 37 °C 'de KCl ile muamele edildi. Süre sonunda kültürler 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve dipteki hücrelerin üzerine 3:1 oranında, taze olarak hazırlanmış Metanol: Asetik asit çözeltisi pastör pipeti yardımı ile yavaş yavaş eklendi. Sonra kültürler 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve fiksatif ile hücre hasadı iki sefer daha, aynı şekilde tekrar edildi. Son tekrarın ardından hücrelerin üzerine taze fiksatiften 0,5 mL eklendi ve her kültürden iki lam olacak şekilde yüksekten damlatma şeklinde hücreler lamlara yayıldı. Havada kurutularak lamlara fikse edilen hücreler pH 6,8' lik fosfat tamponu ile hazırlanmış %5' lik giemsa boyası ile 15 dakika boyandı. Tüm bu deneyler iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Boyama sonrasında preparatların değerlendirilmesi ışık mikroskopunda 100X büyütmede gerçekleştirildi. Preparatlar değerlendirilirken her bir kültür için 46 kromozom içeren 50 farklı metafaz figürü değerlendirildi (tekrarları ile birlikte her bir deney grubu için 400 metafaz figürü değerlendirilmiştir) ve bu metafaz figürleri içerisindeki kromozom aberasyonları kaydedildi. Bununla birlikte *in vivo* CA testinde belirtildiği gibi her kültür için %Mİ değeri belirlendi. Gap ve pulverizasyon dahil toplam aberasyon (TA), gap ve pulverizasyon hariç toplam aberasyon (TA- (G+P)), parametrelerinin değerleri ve %Mİ değerlerinin istatistiksel analizleri SPSS 20 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey HSD testi

(TuT) veya Tamhane's T2 testi (TT) kullanılarak gerçekleştirildi. Kombin uygulama gruplarında doza bağlılığı belirleyebilmek için regresyon analizi gerçekleştirildi.

3.3.6. *In vitro* SCE testi

In vitro SCE testi Parry ve Wolff (1974)'a göre gerçekleştirildi. Buna göre 4 donörden (2 bay, 2 bayan) alınan periferik kandan 0,5 mL, bölüm 3.1'de açıklanan şekilde, 5 mL olarak hazırlanmış *in vitro* kültür ortamına steril koşullarda eklendi. Kültürler 72 saat süresince 37 °C'lik etüvlerde inkübasyona bırakıldı. Periferik kanlarla birlikte, SCE testinde ikili boyama sonrasında kardeş kromatidlerin ayırt edilmesini sağlayacak 5BrdU çözeltilisinden 10 µg/mL olacak şekilde kültürler eklendi. 48. saatte kültürler yukarıda açıklanan deney gruplarını oluşturacak dozlarda, deney çözeltileri eklendi. 70. saatte kültürler hücre bölünmelerini metafazda durdurabilmek amacı ile 0,2 µg/mL olacak şekilde Kolşisin eklendi. 72. saatte kültürler 3500 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrası süpernatant atıldı dipte kalan hücrelerin üzerine 0.075 M, 37 °C sıcaklıktaki KCl eklendi ve hücreler 15 dakika süresince 37 °C 'de KCl ile muamele edildi. Süre sonunda kültürler 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve dipteki hücrelerin üzerine 3:1 oranında, taze olarak hazırlanmış Metanol: Asetik asit çözeltilisi pipeti yardımı ile yavaş yavaş eklendi. Sonra kültürler 3500 rpm'de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı ve fiksatif ile hücre hasadı iki sefer daha aynı şekilde tekrar edildi. Son tekrarın ardından hücrelerin üzerine taze fiksatiften 0,5 mL eklendi ve her kültürden iki lam olacak şekilde yüksekte damlatma şeklinde hücreler lamlara yayıldı. Havada kurutularak lamlara fikse edilen hücreler PBS ile taze olarak hazırlanmış % 5 X 10⁻⁵'lik Hoechst no:33258 ile 10 dakika karanlıkta boyandı. Sonra lamlar ikili boyamanın oluşmasını sağlamak amacı ile 45 dakika UV ışığına maruz bırakıldı. Süre sonunda lamlar bir gece boyunca karanlıkta saklandı. Ertesi gün lamlar 65 °C'de 15 dakika 2X SSC ile muamele edildi. Süre sonunda pH 6,8' lik fosfat tamponu ile hazırlanmış %5' lik giemsa boyası ile 15 dakika boyandı. Tüm bu deneyler iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Boyama sonrasında preparatların değerlendirilmesi ışık mikroskopunda 100X büyütmede gerçekleştirildi. Değerlendirmede 46 kromozoma sahip, 2. Mitozda (M2) olan 30 farklı metafaz figürünün içerdikleri SCE'ler sayıldı ve kaydedildi (Tekrarları ile birlikte her bir deney grubu için 240 M2 değerlendirilmiştir).

Ayrıca 1. Metafaz (M1), 2. Metafaz (M2) ve 3. Metafaz (M3) hücrelerinin sayıları belirlenerek aşağıdaki formülle Replikatif İndeks (Rİ) hesaplandı.

$$Rİ = \frac{M1 + 2M2 + 3M3}{\text{Toplam Hücre}}$$

SCE miktarları ve Rİ değerlerinin istatistik analizi SPSS 20 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey HSD testi (TuT) veya Tamhane's T2 testi (TT) kullanılarak gerçekleştirildi. Kombin uygulama gruplarında doza bağlılığı belirleyebilmek için regresyon analizi gerçekleştirildi.

3.3.7. *In vitro* Komet testi

In vitro komet testi Singh ve ark. 1988'e göre gerçekleştirildi. Buna göre 4 donörden (2 bay, 2 bayan) alınan periferik kandan 0,5 mL, 3.1'de açıklanan şekilde, 5 mL olarak hazırlanmış *in vitro* kültür ortamına steril koşullarda eklendi. Kültürler 72 saat süresince 37 °C'lik etüvlerde inkübasyona bırakıldı. Süre sonunda kültürlerden Histopaque ile lenfosit izolasyonu gerçekleştirildi. Kültür ortamı karıştırılarak 5 mL histopaque üzerine aktarıldı. 1500 rpm de 15 dakika santrifüj edildi. Santrifüj sonrasında arada bulutsu tabaka oluşturan lenfositler mikropipet ile toplanarak farklı bir tüpe aktarıldı. Lenfositlerin üzerine 5 mL steril serum fizyolojik eklendi ve 1500 rpm de 10 dakika santrifüj edildi. Süpernatant atıldı dipte kalan lenfositler PBS ile sulandırılarak hücre süspansiyonu haline getirildi. Bu süspansiyondan Thoma lamı ile Trypan Blue boyası kullanılarak canlı hücre sayımı gerçekleştirildi. Tüm bu işlemler ve takip eden prosedür her bir kültür için iki tekrarlı olarak gerçekleştirildi. Sayım sonrasında PBS ile 0,3 X 10⁶ hücre / mL' lik süspansiyon hazırlandı (Dhawan ve ark. 2009). Komet testinden önce hücrelerin yayılacağı lamlar hazırlandı. Lamlar % 0,8' lik agaroz ile kaplandı. Arka yüzeyleri silinerek temizlendi. PBS içerisindeki lenfosit hücrelerinden oluşan süspansiyonundan 100 µl alınarak 37 °C lik su banyosunda mikrosantrifüj tüpleri içerisinde, 250 µl, %0,65 'lik LMA ile karıştırıldı. Bu süspansiyondan 50 µl alınarak önceden hazırlanan agaroz kaplı lamlara yayıldı ve üzerine 24 x 24 mm'lik lamel kapatılarak buz üzerine alındı. Bu şekilde her bir kültür için iki lam hazırlandı. 5 dakika buz üzerinde bekletilen lamlar buzdolabında 0 °C bölmesinde 10 dakika bekletildi. Süre

sonunda lameller uzaklaştırıldı ve lamlar bir gece boyunca 4 °C de lysis çözeltisi içerisinde bekletildi. Tüm bu işlemler ışıksız ortamda gerçekleştirildi. Ertesi gün lamlar ışık geçirmez komet tanklarına yerleştirildi. Tanklara, lamların üzerlerini örtecek şekilde 4 °C lik, Running çözeltisi eklendi. Lamlar 20 dakika bu çözelti içerisinde bekletildi. Süre sonunda 25 V, 350 mA'de 25 dakika elektroforez işlemi gerçekleştirildi. Elektroforez sonrasında lamlar 5 dakika nötralizasyon çözeltisi içerisinde bekletildi. Nötralizasyon işlemi sonrasında lamlar havada kurutuldu, kurutulma sonrasında soğuk absolü etanol'de 5 dakika bekletilerek fiksasyon gerçekleştirildi. İnceleme yapılacağı zaman, lamlar 20 µg/mL konsantrasyonlu Etidyum bromür boyasında 2 dakika süreyle boyandı. İnceleme floresans mikroskop ile 20X büyütme kullanılarak gerçekleştirildi. Her bir kültürün bir tekrarı için, 50, her bir deney grubu için tekrarı ile birlikte toplam 400 hücrenin DNA sını içeren komet görüntülerinin analizi mikrosistem komet yazılımı ile gerçekleştirildi. Komet testi sonuçlarından, 2001 yılında Almanya'da gerçekleştirilen uluslararası komet çalıştayında kabul gören ve halen uygulamada olan, komet çalışmalarında değerlendirilmesi önerilen (Browne 2009) üç parametre olan; Olive Tail Moment (OTM), Tail DNA (Kuyruk DNA%) ve Tail length (Kuyruk uzunluğu (µm)) parametreleri değerlendirildi.

Elde edilen sonuçların istatistiki değerlendirmeleri SPSS 20 paket programı ile tek yönlü varyans analizi (one-way ANOVA) ve Tukey HSD testi (TuT) veya Tamhane's T2 testi (TT) kullanılarak gerçekleştirildi. Kombin uygulama gruplarında doza bağlılığı belirleyebilmek için regresyon analizi gerçekleştirildi.

3.4. Karşılaştırmalar

In vivo, in vitro TYR karşılaştırmalarında MMC + TYR ve SKF (*SKF) + TYR gruplarında MN, TA, TA – (G+P), K.U., K.%DNA ve OTM değerlerinin ortalamalarından aşağıdaki formül yardımı ile % İndirgenme değerleri hesaplanarak karşılaştırılmıştır.

In vitro TYR ve KAR karşılaştırılmalarında da MMC + TYR ve MMC + KAR grupları ile *SKF + TYR ve *SKF + KAR gruplarının MN, TA, TA – (G+P), SCE/Hücre,

SCE/Kromozom, K.U., K.%DNA ve OTM değerlerinin ortalamalarından aşağıdaki formül yardımı ile % İndirgenme değerleri hesaplanarak karşılaştırılmıştır.

$$\% \text{ İndirgeme} = 100 - (A * 100 / B)$$

A; Kendi parametresi için kombin uygulama grubunun ortalama değeri, B; Kendi parametresi için genotoksik ajan uygulama grubunun ortalama değeri. Örneğin MMC+ 50 mg/kg TYR uygulaması için

$$\% \text{ İndirgeme} = 100 - \left(\frac{MMC + 50 \frac{mg}{kg} \text{ TYR grubunun ortalama MN değeri} * 100}{MMC \text{ grubunun ortalama MN değeri}} \right)$$

4. BULGULAR

4.1. *İn vivo* Deneylerin Bulguları

4.1.1. *İn vivo* doz denemeleri bulguları

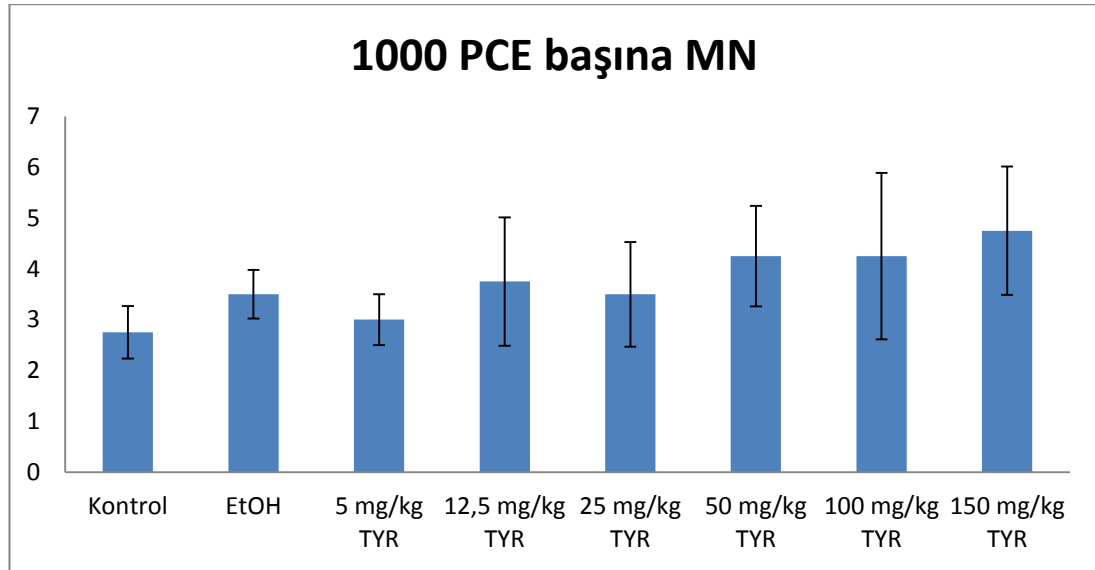
İn vivo doz denemeleri için uygulanan MN testi sonucunda elde edilen verilerin ortalama değerleri izelge 4.1'de gösterilmiştir. 1000 PCE / MN ve PCE/NCE değerlerinin grafikleri de sırasıyla Şekil 4.1 ve Şekil 4.2'de verilmiştir.

1000 PCE / MN ve PCE/NCE değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. 1000 PCE başına düşen MN frekansı kontrol grubunda $2,750 \pm 0,515$ Etanol kontrol grubunda ise $3,500 \pm 0,479$ olarak belirlenmiştir. 5; 12,5; 25; 50; 100 ve 150 mg/kg TYR uygulamalarında ise sırasıyla $3,000 \pm 0,500$; $3,750 \pm 1,264$; $3,500 \pm 1,031$; $4,250 \pm 0,987$; $4,250 \pm 1,638$ ve $4,750 \pm 1,264$ olarak belirlendi. PCE/NCE değerleri ise Kontrol ve Etanol kontrol grubunda sırasıyla $0,985 \pm 0,006$ ve $0,978 \pm 0,002$ olarak belirlendi. 5; 12,5; 25; 50; 100; 150 mg/kg TYR uygulama gruplarında ise aynı parametrenin değerleri sırasıyla $0,978 \pm 0,005$; $0,979 \pm 0,005$; $0,984 \pm 0,003$; $0,984 \pm 0,003$; $0,982 \pm 0,003$ ve $0,978 \pm 0,004$ olarak belirlendi.

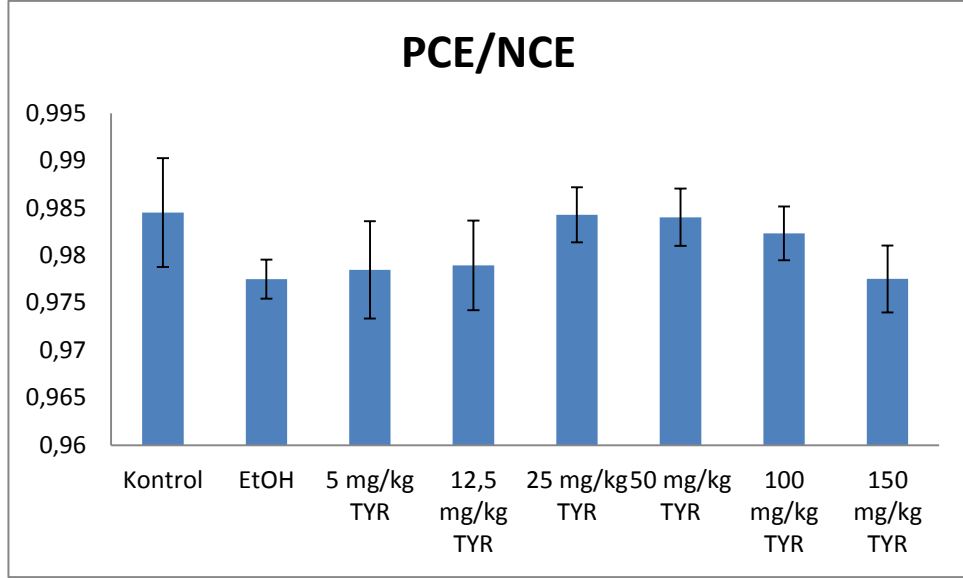
TYR uygulamalarının 1000 PCE başına MN frekansları Kontrol, Etanol uygulama grupları ve kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0,05$). Benzer Şekilde, TYR uygulamalarının PCE/NCE değerleri de kontrol, etanol uygulama grupları ve kendi aralarında karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.1. *In vivo* Doz denemeleri MN sonuçları. PCE; Polikromatik Eritrosit, NCE; Normokromatik Eritrosit, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, SS; Standart sapma.

	1000 PCE başına MN±SS	PCE/NCE±SS
Kontrol	2,750 ± 0,515	0,985 ± 0,006
EtOH	3,500 ± 0,479	0,978 ± 0,002
5 mg/kg TYR	3,000 ± 0,500	0,978 ± 0,005
12,5 mg/kg TYR	3,750 ± 1,264	0,979 ± 0,005
25 mg/kg TYR	3,500 ± 1,031	0,984 ± 0,003
50 mg/kg TYR	4,250 ± 0,987	0,984 ± 0,003
100 mg/kg TYR	4,250 ± 1,638	0,982 ± 0,003
150 mg/kg TYR	4,750 ± 1,264	0,978 ± 0,004



Şekil 4.1. *In vivo* Doz denemeleri 1000 PCE başına düşen MN frekansları PCE; Polikromatik Eritrosit, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol.



Şekil 4.2. *İn vivo* Doz denemeleri PCE/NCE değerleri. PCE; Polikromatik Eritrosit, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol.

4.1.2. *İn vivo* MN testi bulguları

İn vivo MN testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskopik görüntülerden örnekler Şekil 4.3'te gösterilmiştir. *İn vivo* MN testi sonunda elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.2, Şekil 4.4 ve Şekil 4.5'te gösterilmiştir.

1000 PCE başına düşen MN ortalama değerlerinin istatistiki analizi ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda 1000 PCE başına düşen MN ortalaması $3,166 \pm 0,752$ olarak belirlendi. Aynı parametre, EtOH kontrol grubunda $5,333 \pm 1,032$ olarak belirlendi. Bu iki değer karşılaştırıldığında istatistik olarak anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0,05$). Aynı parametre için bulunan ortalama değerler, 50 mg/ kg TYR, 100 mg/kg TYR ve 200 mg/kg TYR için sırasıyla, $4,666 \pm 1,211$; $5,666 \pm 2,732$; $5,500 \pm 2,810$ şeklindedir. Her üç değer de kontrol ve EtOH kontrol grubu ile ayrı ayrı karşılaştırıldığında değerler arasında istatistiki düzeyde anlamlı bir farklılık bulunamamıştır ($p > 0,05$). Aynı şekilde üç grup kendi arasında karşılaştırıldığında da uygulanan TYR dozlarının oluşturduğu MN frekansı arasında herhangi bir istatistiksel fark belirlenememiştir ($p > 0,05$).

Genotoksik ajanlarımız olan MMC ve SKF için 1000 PCE deki MN ortalamaları sırasıyla $33,500 \pm 3,271$; $28,833 \pm 3,188$ şeklinde bulundu. Bu değerleri kontrol ve EtOH kontrol grubu değerleri ile karşılaştırdığımızda MMC ve SKF'nin, MN frekansını istatistik olarak anlamlı düzeyde arttırdığı görülmüştür ($p \leq 0,001$).

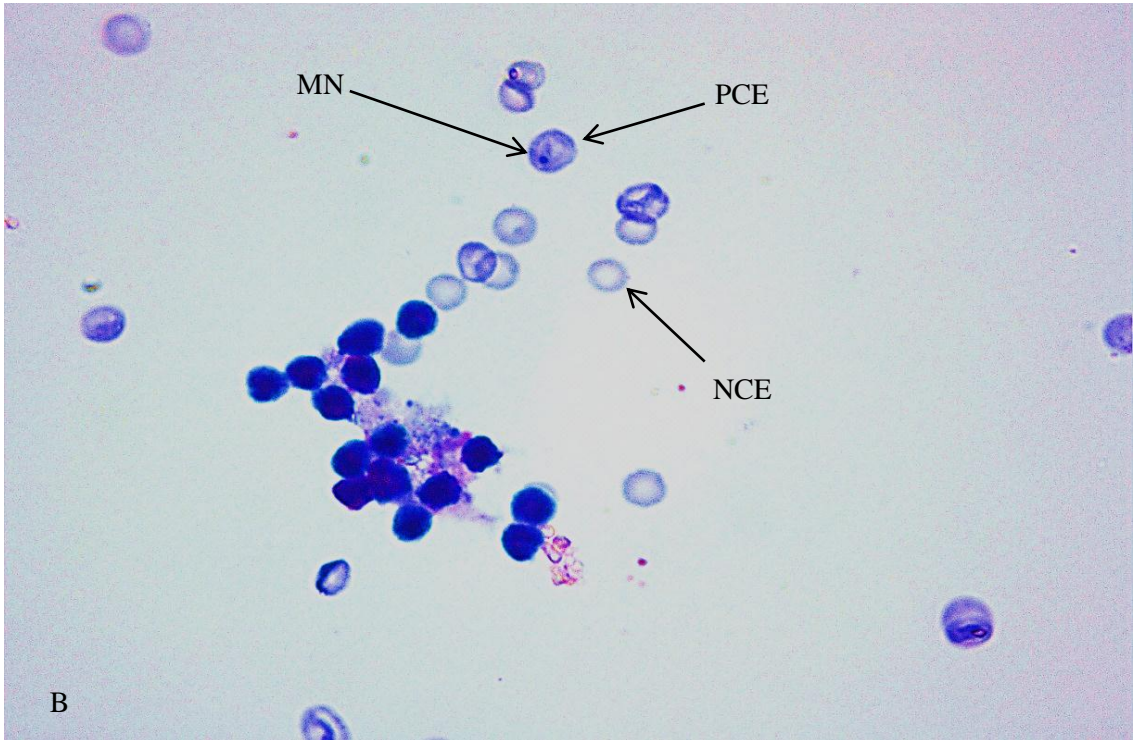
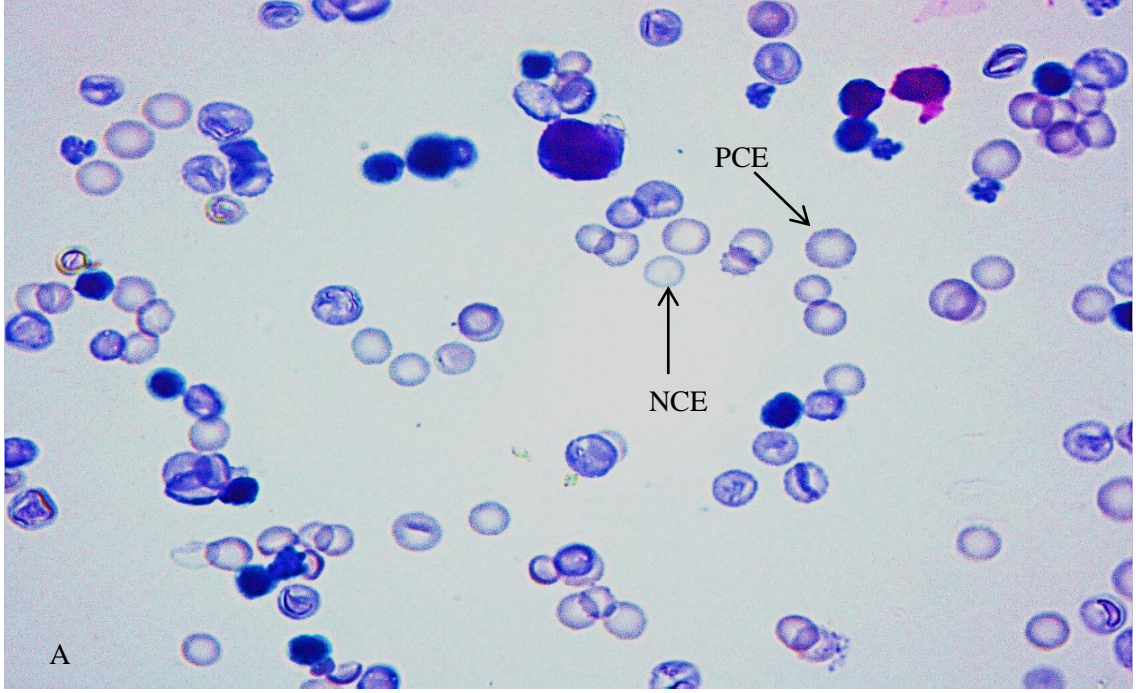
MMC ile birlikte 50, 100, 200 mg/kg TYR uygulama gruplarında 1000 PCE başına MN frekansları sırasıyla $13,166 \pm 3,430$; $12,666 \pm 2,338$; $11,166 \pm 3,970$ şeklindedir. Her bir grubun MN frekans değerleri ayrı ayrı, MMC grubunun MN frekansları ile karşılaştırıldığında tüm TYR dozlarının, MMC tarafından artırılmış MN frekanslarını istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bunun dışında kombin uygulamaların MN frekansları birbirleri ile karşılaştırıldığında her üç uygulama (MMC + 50 mg/kg TYR, MMC + 100 mg/kg, MMC + 200 mg/kg) grubunun MN frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Ancak TYR'nin MMC ile birlikte uygulandığı gruplardaki MN frekansları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da kombin uygulama grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Bu nedenle TYR uygulamaları MMC tarafından indüklenmiş MN frekansını anlamlı düzeyde azaltsa da kontrol düzeyine kadar indiremediği belirlenmiştir.

SKF ile birlikte 50, 100, 200 mg/kg TYR uygulama gruplarında 1000 PCE başına MN frekansları sırasıyla $12,666 \pm 4,412$; $13,333 \pm 2,338$; $13,166 \pm 3,188$ şeklindedir. Her bir grubun MN frekans değerleri ayrı ayrı, SKF grubunun MN frekansları ile karşılaştırıldığında tüm TYR dozlarının, SKF tarafından artırılmış MN frekanslarını istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bunun dışında kombin uygulamaların MN frekansları birbirleri ile karşılaştırıldığında her üç uygulama (SKF + 50 mg/kg TYR, SKF + 100 mg/kg, SKF + 200 mg/kg) grubunun MN frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık bulunmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Ancak TYR'nin SKF ile birlikte uygulandığı gruplardaki MN frekansları Kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da kombin uygulama grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark bulunduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu nedenle TYR uygulamaları SKF tarafından indüklenmiş MN frekansını anlamlı düzeyde azaltsa da kontrol düzeyine kadar indiremediği belirlenmiştir.

Bunlarla birlikte, MMC ve SKF tarafından indüklenen MN frekansının TYR dozları tarafından indirgenmesinin artan TYR dozuna bağlı olup olmadığı regresyon analizi ile incelenmiştir. Buna göre MMC ve SKF tarafından indüklenen MN frekansının TYR tarafından azaltılmasının artan TYR dozuna bağlı olduğu belirlenmiştir. MMC tarafından arttırılan MN frekansının artan TYR dozu ile ilişkisini gösteren grafik Şekil 4,6'da gösterilmiştir. Bu grafik için R^2 değeri 0,493 olarak belirlenmiştir bu grafiğin denklemi ise $y = 25,667 - 0,092 * \text{Doz}$ olarak belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Benzer şekilde SKF tarafından indüklenen MN frekanslarının artan TYR dozu ile ilişkisi Şekil 4,7'de gösterilmiştir. Bu grafik için R^2 değeri 0,371 olarak belirlenmiştir bu grafiğin denklemi ise $y = 22,4 - 0,062 * \text{Doz}$ olarak belirlenmiştir ($p \leq 0,005$).

1000 NCE başına düşen MN ortalama değerlerinin istatistiki analizi de ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Bulgular, 1000 NCE deki MN frekansı açısından değerlendirildiğinde ise tüm istatistiksel karşılaştırmalarda sadece MMC grubu ile kontrol grubu arasında anlamlı bir farklılık belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

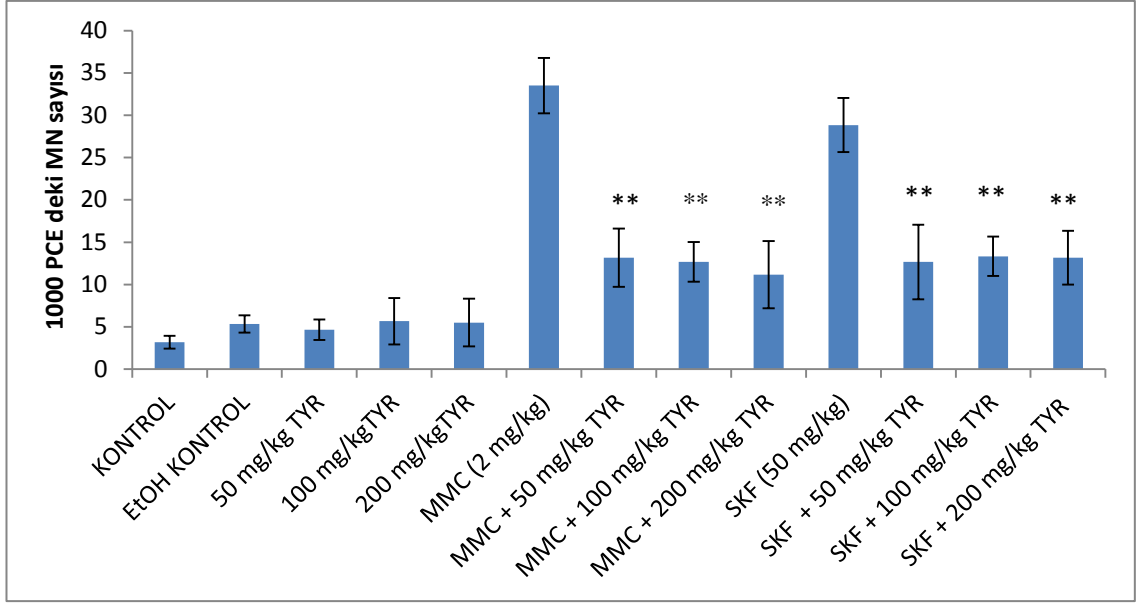
Bulgular, PCE/NCE değerleri açısından istatistiksel olarak ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak değerlendirildiğinde ise tüm istatistiksel karşılaştırmalarda anlamlı bir farklılık belirlenememiştir ($p > 0,05$).



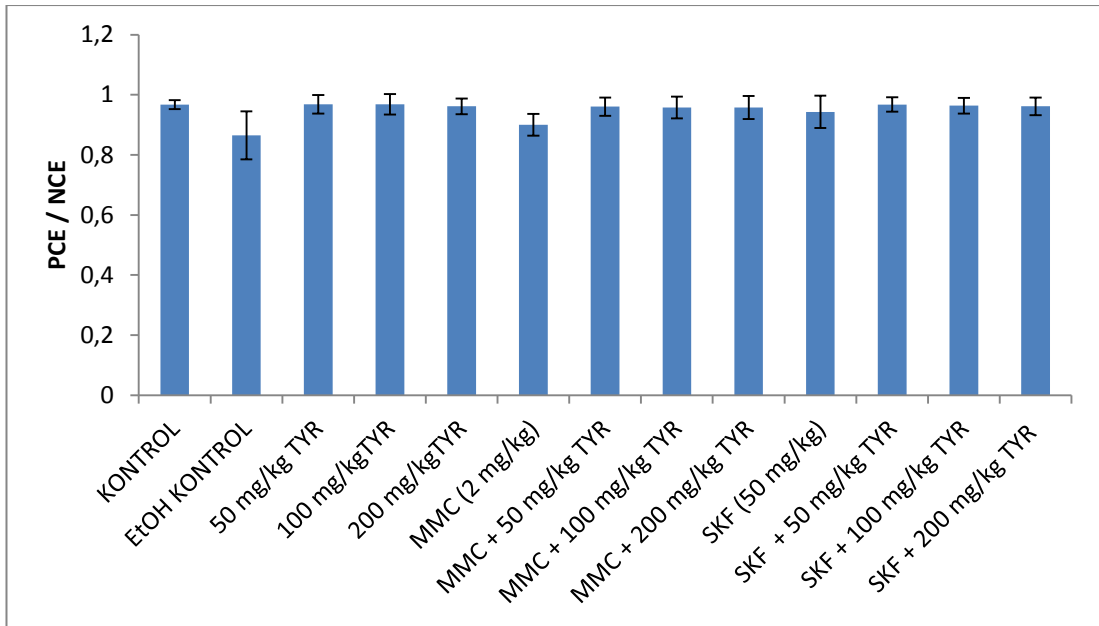
Şekil 4.3. İn vivo MN testi sonunda hazırlanan preparatlardan örnek mikroskopik görüntü.(X100) A) EtOH grubuna ait görüntü B) 200 mg/kg TYR uygulama grubuna ait görüntü. MN; Mikronükleus, PCE; Polikromatik Eritrosit, NCE; Normokromatik Eritrosit.

Çizelge 4.2. *In vivo* MN testi sonuçları. PCE: Polikromatik Eritrosit, NCE: Normokromatik Eritrosit, MN; 1000 PCE'de MN sayısı. P/N; PCE/NCE, N; 1000 NCE de MN, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosamid, SS; Standart Sapma. ^a; Kendi kontrolü olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır, ^b: Kendi kontrolü olan SKF grubu ile karşılaştırılmıştır ($p \leq 0,001$).

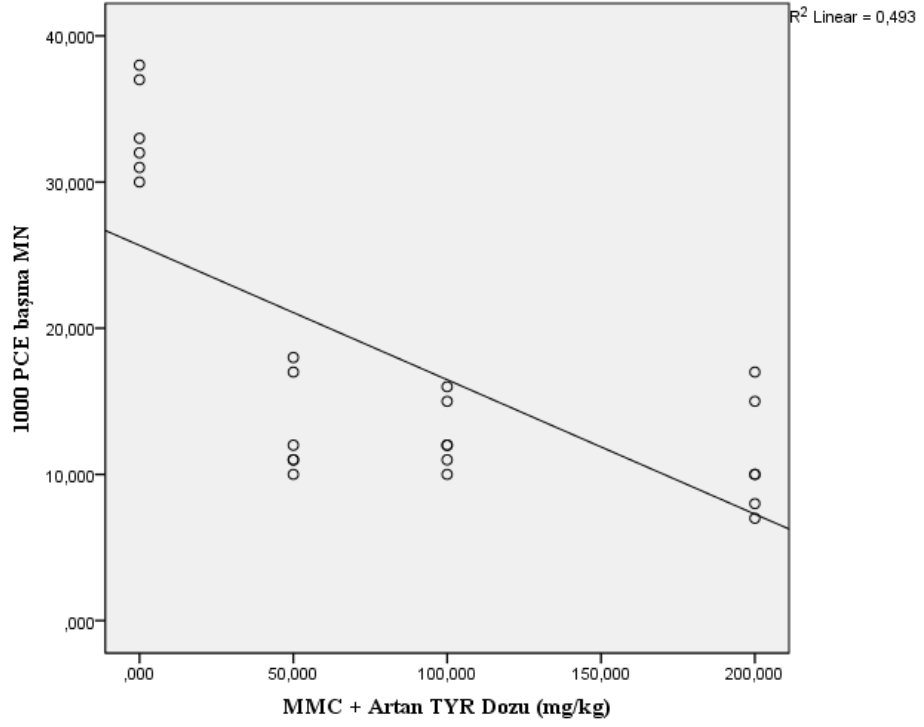
	1. Fare		2. Fare		3. Fare		4. Fare		5. Fare		6. Fare		Ortalama \pm SS		
	MN	P/N	MN	P/N	MN	P/N	MN	P/N	MN	P/N	MN	P/N	MN	N	P/N
KONTROL	4	0,978	3	0,973	2	0,985	3	0,943	4	0,963	3	0,961	3,166 \pm 0,752	0,635 \pm 0,773	0,967 \pm 0,014
EtOH KONTROL	5	0,773	6	0,783	5	0,899	7	0,841	4	0,917	5	0,975	5,333 \pm 1,032	2,466 \pm 2,334	0,864 \pm 0,079
50 mg/kg TYR	6	0,994	4	0,990	4	0,980	5	0,909	6	0,964	3	0,971	4,666 \pm 1,211	1,439 \pm 0,797	0,968 \pm 0,031
100 mg/kg TYR	11	0,992	6	0,983	4	0,978	4	0,899	5	0,980	4	0,976	5,666 \pm 2,732	1,445 \pm 0,511	0,968 \pm 0,034
200 mg/kg TYR	4	0,982	11	0,978	5	0,962	5	0,913	5	0,952	3	0,980	5,500 \pm 2,810	1,425 \pm 0,971	0,961 \pm 0,026
MMC (2 mg/kg)	37	0,899	32	0,892	33	0,918	38	0,833	30	0,939	31	0,919	33,500 \pm 3,271	4,596 \pm 1,695	0,900 \pm 0,036
MMC + 50 mg/kg TYR	11	0,983	10	0,979	18	0,978	17	0,902	11	0,962	12	0,958	13,166 \pm 3,430 ^a	1,881 \pm 1,500	0,960 \pm 0,030
MMC + 100 mg/kg TYR	10	0,965	12	0,979	16	0,982	15	0,886	11	0,968	12	0,966	12,666 \pm 2,338 ^a	2,347 \pm 1,638	0,957 \pm 0,036
MMC + 200 mg/kg TYR	8	0,989	7	0,970	15	0,972	17	0,881	10	0,962	10	0,971	11,166 \pm 3,970 ^a	2,025 \pm 1,529	0,957 \pm 0,038
SKF (50 mg/kg)	28	0,980	32	0,979	29	0,947	33	0,837	25	0,952	26	0,962	28,833 \pm 3,188	3,924 \pm 3,149	0,942 \pm 0,053
SKF + 50 mg/kg TYR	10	0,976	6	0,977	15	0,980	19	0,919	13	0,980	13	0,973	12,666 \pm 4,412 ^b	2,398 \pm 2,481	0,967 \pm 0,023
SKF + 100 mg/kg TYR	13	0,970	14	0,981	14	0,981	17	0,912	12	0,968	10	0,968	13,333 \pm 2,338 ^b	1,885 \pm 2,091	0,963 \pm 0,025
SKF + 200 mg/kg T YR	13	0,976	12	0,978	14	0,979	19	0,904	10	0,960	11	0,972	13,166 \pm 3,188 ^b	2,362 \pm 1,549	0,961 \pm 0,029



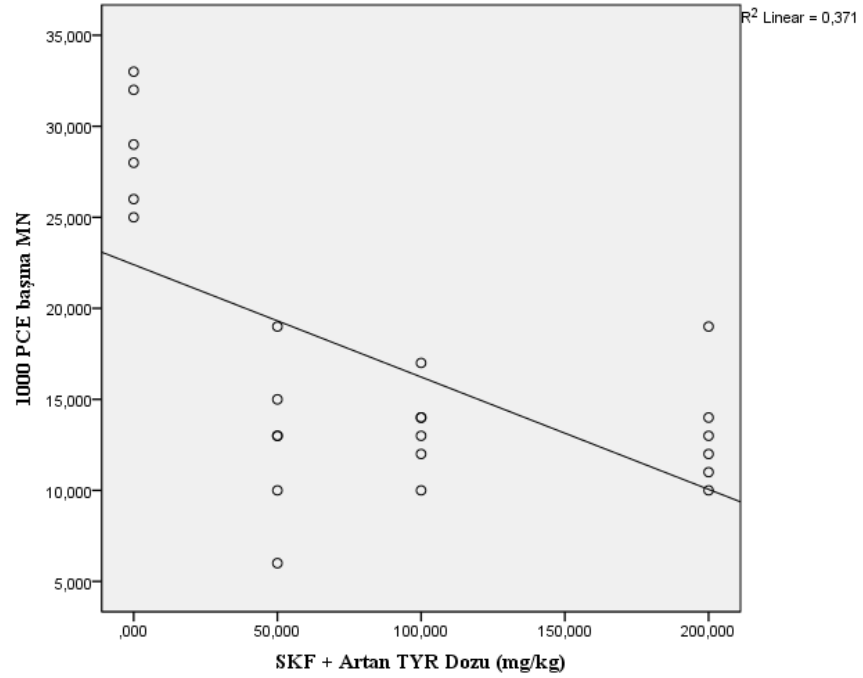
Şekil 4.4. *In vivo* MN testi 1000 PCE deki MN frekansları. PCE; Polikromatik Eritrosit, MN; Mikronükleus, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.



Şekil 4.5. *In vivo* MN testi PCE / NCE oranları. PCE; Polikromatik Eritrosit, NCE; Normokromatik Eritrosit, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid,



Şekil 4.6. *In vivo*'da MMC tarafından indüklenen MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, PCE; Polikromatik Eritrosit, MN; Mikronükleus.



Şekil 4.7. *In vivo*' da SKF tarafından indüklenen MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. SKF; Siklofosfamid, PCE; Polikromatik Eritrosit, MN; Mikronükleus.

4.1.3. *In vivo* CA testi bulguları

In vivo CA testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskobik görüntülerden örnekler Şekil 4.8’de gösterilmiştir. *In vivo* CA testi sonunda elde edilen bulgular Çizelge 4.3 ve Çizelge 4.4’te gösterilmiştir. Aynı bulgulardan elde edilen toplam aberasyon (TA) ortalamalarından elde edilen grafik Şekil 4.9’da Gap ve Pulverizasyon hariç toplam aberasyon (TA - (G+P)) ortalamalarından elde edilen grafik ise Şekil 4.10’da gösterilmiştir.

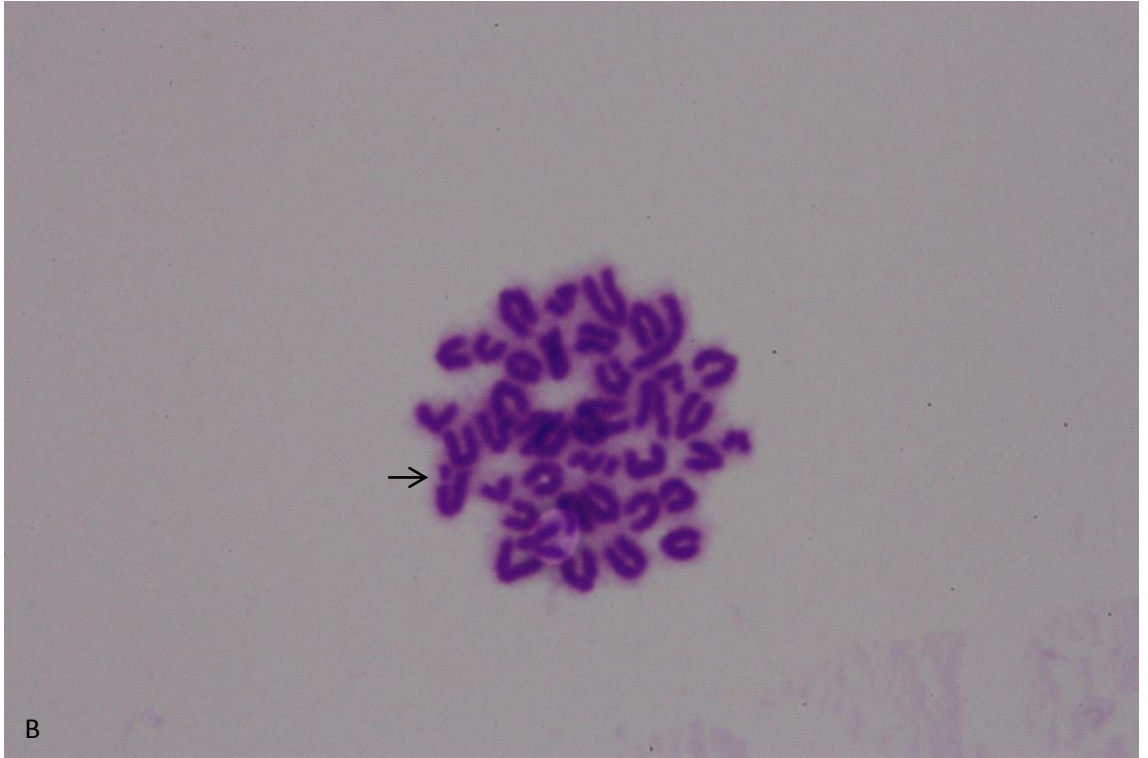
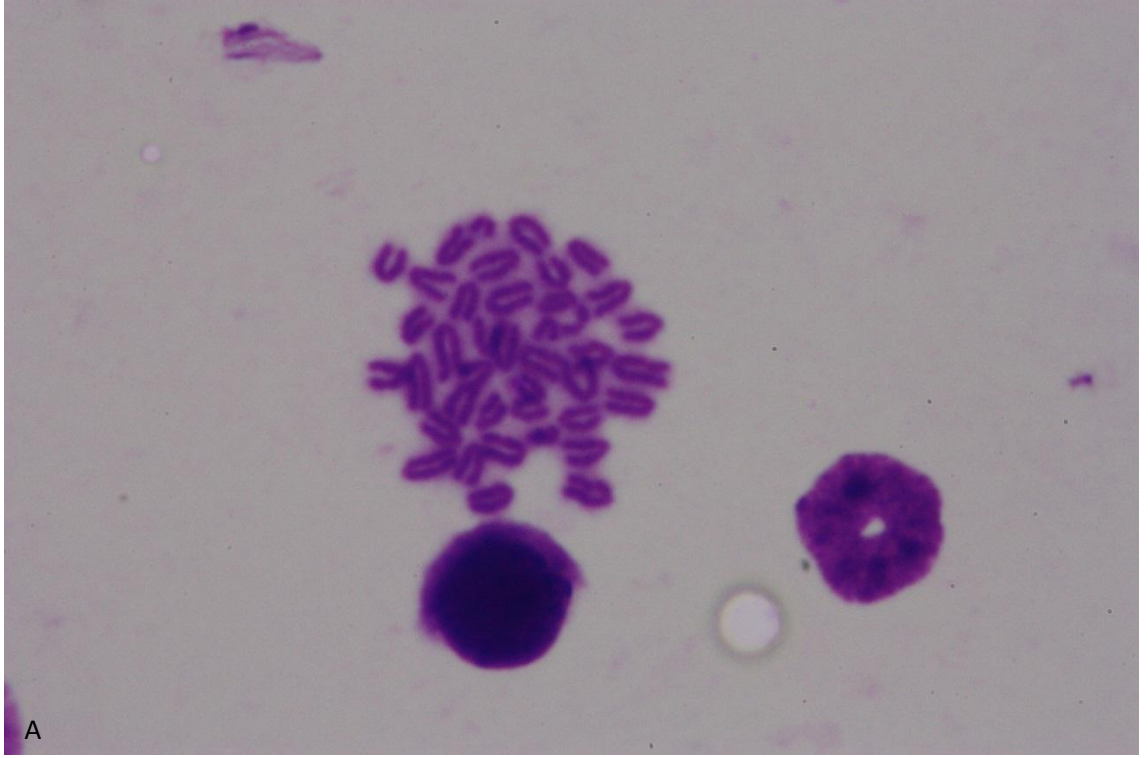
Ortalama olarak TA verilerimiz kontrol grubunda $1 \pm 0,632$, EtOH grubunda $1 \pm 0,632$ olarak belirlenmiştir. Aynı parametre için TYR uygulama gruplarımızın ortalama TA bulgularımız 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg dozları için sırasıyla $1,166 \pm 0,753$; $1 \pm 0,894$; $1,166 \pm 0,753$ şeklindedir. MMC uygulama grubunun ortalama TA değeri $12,167 \pm 2,137$ olarak belirlenmiştir. MMC + TYR uygulama gruplarında ortalama TA değeri, MMC + 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg dozları için sırasıyla $7,167 \pm 2,137$; $5,5 \pm 1,871$; $4,5 \pm 1,517$ şeklinde belirlenmiştir. SKF uygulama grubunun ortalama TA değeri $10,333 \pm 1,751$ olarak belirlenmiştir. SKF + TYR uygulama gruplarında ortalama TA değeri, SKF+ 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg dozları için sırasıyla $6,333 \pm 1,751$; $5 \pm 1,673$; $4,333 \pm 1,033$ olarak belirlenmiştir.

Elde edilen TA verilerinin istatistiksel karşılaştırılmalarında ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılmıştır. 50 mg/kg, 100 mg/kg, 200 mg/kg TYR uygulamaları ile kontrol ve EtOH grubu arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p \geq 0,05$). MMC ve SKF uygulamalarının, ortalama TA değerini kontrol, EtOH grubu ve tek başına TYR uygulama gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bunların yanı sıra, MMC ile birlikte gerçekleştirilen 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulamalarının, MMC tarafından yükseltilmiş olan ortalama TA değerini, MMC grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Benzer olarak, SKF ile birlikte gerçekleştirilen 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulamalarının, SKF tarafından yükseltilmiş olan ortalama TA değerini, SKF grubu ile karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bunun dışında hem MMC + 50, 100, 200 mg/kg

TYR uygulama grupları hem de SKF + 50, 100, 200 mg/kg TYR uygulama gruplarının ortalama TA değerleri kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek bulunmuştur ($p \leq 0,01$).

Ortalama olarak TA – (G+P) verilerimiz Kontrol, EtOH, 50 mg/kg, 200 mg/kg TYR grubunda 0 ± 0 olarak belirlenmiştir. Aynı parametre açısından 100 mg/kg TYR grubundaki değer $0,167 \pm 0,408$ olarak belirlenmiştir. Ortalama TA – (G+P) değerleri MMC ve SKF grubu için sırasıyla $5,667 \pm 1,966$ ve $4,833 \pm 1,722$ olarak belirlenmiştir. MMC + 50, 100, 200 mg/kg TYR uygulamaları için ortalama TA – (G+P) değerleri sırasıyla $2,5 \pm 1,049$; $1,833 \pm 0,753$; $1,667 \pm 1,033$ olarak belirlenmiştir. SKF + 50, 100, 200 mg/kg TYR uygulamaları için ise ortalama TA – (G+P) değerleri sırasıyla $2,833 \pm 0,753$; $2,333 \pm 1,366$ ve $2 \pm 0,632$ olarak belirlenmiştir.

Elde edilen TA – (G+P) verilerinin istatistiksel karşılaştırılmalarında ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılmıştır. MMC tarafından arttırılmış olan ortalama TA – (G+P) değeri MMC + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulamaları tarafından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde indirgenmiştir ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte MMC + TYR uygulamalarının birbirleri ile karşılaştırılmasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p > 0,05$). Benzer şekilde SKF tarafından arttırılmış olan ortalama TA – (G+P) değeri SKF + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulamaları tarafından istatistiksel olarak anlamlı düzeyde indirgenmiştir ($p \leq 0,001$). SKF + TYR uygulamaları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p > 0,05$).



Şekil 4.8. *İn vivo* CA testi sonunda hazırlanan preparatlardan örnek mikroskobik görüntü (X100). A) 200 mg/kg TYR uygulama grubundan elde edilmiş normal bir metafaz görüntüsü B) MMC +200 mg/kg TYR uygulama grubundan elde edilmiş, bir kromatid tip kırık içeren metafaz görüntüsü.

Çizelge 4.3. *In vivo* CA testi sonuçları N; Denek Fare sayısı, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	N	Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Gap	İzokromatid Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam Aberasyon - (G+P)
Kontrol	1	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	4	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
Ortalama	50	0,667 (0,0133)	0(0)	0,333 (0,006)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1 (0,02)	0(0)
EtOH Kontrol	1	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	4	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	5	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0 (0)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
Ortalama	50	0,667 (0,0133)	0(0)	0,333 (0,006)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
50 mg/kg TYR	1	50	2 (0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2 (0,04)	0(0)
	2	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0 (0)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2 (0,04)	0(0)
	4	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1 (0,02)	0(0)
	5	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	6	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
Ortalama	50	0,667 (0,0133)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,166 (0,023)	0(0)	

Çizelge 4.3.Devamı. *In vivo* CA testi sonuçları. N; Denek Fare sayısı, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	N	Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Gap	İzokromatid Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon – (G+P)
100 mg/kg TYR	1	50	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	1(0,02)
	2	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	3	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	4	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	6	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Ortalama	50	0,5 (0,01)	0,167 (0,003)	0,333 (0,006)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0,167 (0,003)
200 mg/kg TYR	1	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	2	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	4	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	5	50	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
Ortalama	50	0,667 (0,013)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,166 (0,023)	0(0)
MMC 2 mg/ kg	1	50	4(0,08)	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	14	7
	2	50	4(0,08)	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	13	6
	3	50	4(0,08)	3(0,06)	2(0,04)	3(0,06)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	13	7
	4	50	5(0,1)	2(0,04)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	13	5(0,1)
	5	50	3(0,06)	4(0,08)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	12	7
	6	50	4(0,08)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8	2(0,04)
Ortalama	50	4 (0,08)	2,666 (0,053)	2,5 (0,05)	2(0,04)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0,5 (0,01)	12,167 (0,243)	5,667 (0,113)

Çizelge 4.3.Devamı. *In vivo* CA testi sonuçları N; Denek Fare sayısı, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	N	Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Gap	İzokromatid Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon - (G+P)
MMC+ 50 mg/kg TYR	1	50	3 (0,06)	2(0,04)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	3(0,06)
	2	50	4(0,08)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	10(0,2)	4(0,08)
	3	50	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,16)	3(0,06)
	4	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,16)	2(0,04)
	5	50	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	6	50	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	2(0,04)
Ortalama	50	2,833 (0,056)	1,333 (0,026)	1,833 (0,037)	1(0,02)	0,167 (0,003)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7,167 (0,143)	2,5 (0,05)	
MMC+ 100 mg/kg TYR	1	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	2(0,04)
	2	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	1(0,02)
	3	50	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	3(0,06)
	4	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	5	50	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	6	50	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	2(0,04)
Ortalama	50	2,333 (0,046)	1(0,02)	1,333 (0,026)	0,833 (0,016)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5,5 (0,11)	1,833 (0,036)	
MMC+ 200 mg/kg TYR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	2	50	2(0,04)	1(0,02)	20,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	1(0,02)
	3	50	2(0,04)	1(0,02)	20,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	7(0,14)	3(0,06)
	4	50	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	2(0,04)
	5	50	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	0(0)
	6	50	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	2(0,04)
Ortalama	50	1,667 (0,033)	0,833 (0,016)	1,167 (0,023)	0,667 (0,033)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4,5 (0,09)	1,667 (0,033)	

Çizelge 4.3.Devamı. *In vivo* CA testi sonuçları. N; Denek Fare sayısı, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

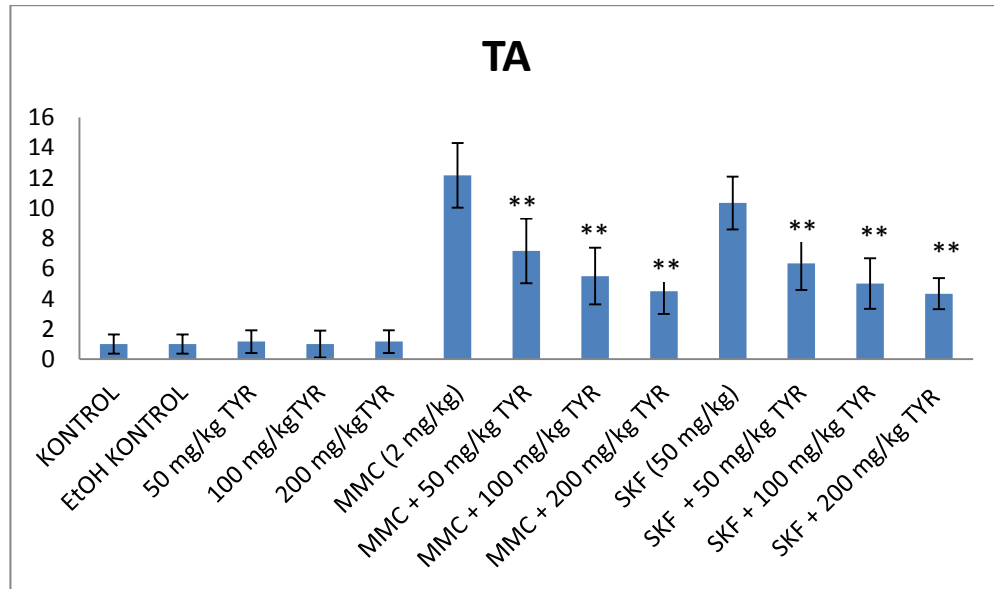
Gruplar	N	Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Gap	İzokromatid Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon – (G+P)
SKF 50 mg/kg	1	50	3(0,06)	2(0,04)	3(0,06)	3(0,06)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	13(0,26)	7(0,14)
	2	50	4(0,08)	3(0,06)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	11(0,22)	5(0,1)
	3	50	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	3(0,06)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	5(0,1)
	4	50	5(0,1)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	10(0,2)	4(0,08)
	5	50	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	11(0,22)	6(0,12)
	6	50	4(0,08)	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	2(0,04)
Ortalama	50	3,5 (0,07)	2,167 (0,043)	2 (0,04)	1,833 (0,036)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0,333 (0,006)	10,333 (0,206)	4,833 (0,096)
SKF+ 50 mg/kg TYR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	2	50	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	4(0,08)
	3	50	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	2(0,04)
	4	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
	5	50	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
	6	50	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
Ortalama	50	2,167 (0,043)	1,5 (0,03)	1,333 (0,026)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6,333 (0,126)	2,833 (0,056)	
SKF+ 100 mg/kg TYR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	2	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	20(0,4)
	3	50	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	20(0,4)
	4	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	5	50	1(0,02)	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	5(0,1)
	6	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	20(0,4)
Ortalama	50	1,667 (0,033)	1,333 (0,026)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2,333 (0,046)	

Çizelge 4.3. Devamı. *In vivo* CA testi sonuçları. N; Denek Fare sayısı, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon. MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

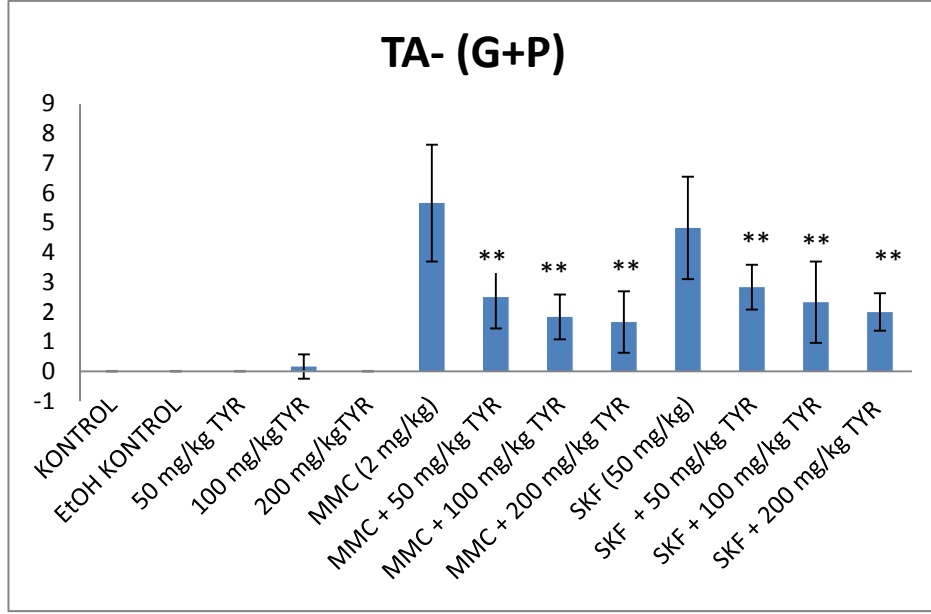
Gruplar	N	Metafaz Sayısı	Kromatid Gap	Kromatid Kırık	İzokromatid Gap	İzokromatid Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplamaberasyon – (G+P)
	1	50	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	2(0,04)
SKF+	2	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
200	3	50	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	2(0,04)
mg/kg	4	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
TYR	5	50	1(0,02)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	3(0,06)
	6	50	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	2(0,04)
Ortalama	50	1,333 (0,026)	1,167 (0,023)	1 (0,02)	0,833 (0,016)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4,333 (0,086)	2 (0,04)

Çizelge 4.4. *İn vivo* CA testi bulgularının ortalamaları. TA; Toplam Aberasyon, TA-(G+P) ; Gap ve Pulverizasyon hariç toplam aberasyon, SS; Standart sapma, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. ^a; Aynı parametre için kendi kontrol grubu olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,001). ^b; Aynı parametre için kendi kontrol grubu olan SKF grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,001).

	ORTALAMA ± SS	
	TA ± SS	TA – (G+P) ± SS
KONTROL	1 ± 0,632	0 ± 0
EtOH KONTROL	1 ± 0,632	0 ± 0
50 mg/kg TYR	1,166 ± 0,753	0 ± 0
100 mg/kg TYR	1 ± 0,894	0,167 ± 0,408
200 mg/kg TYR	1,166 ± 0,753	0 ± 0
MMC (2 mg/kg)	12,167 ± 2,137	5,667 ± 1,966
MMC + 50 mg/kg TYR	7,167 ± 2,137 ^a	2,5 ± 1,049 ^a
MMC + 100 mg/kg TYR	5,5 ± 1,871 ^a	1,833 ± 0,753 ^a
MMC + 200 mg/kg TYR	4,5 ± 1,517 ^a	1,667 ± 1,033 ^a
SKF (50 mg/kg)	10,333 ± 1,751	4,833 ± 1,722
SKF + 50 mg/kg TYR	6,333 ± 1,751 ^b	2,833 ± 0,753 ^b
SKF + 100 mg/kg TYR	5 ± 1,673 ^b	2,333 ± 1,366 ^b
SKF + 200 mg/kg TYR	4,333 ± 1,033 ^b	2 ± 0,632 ^b

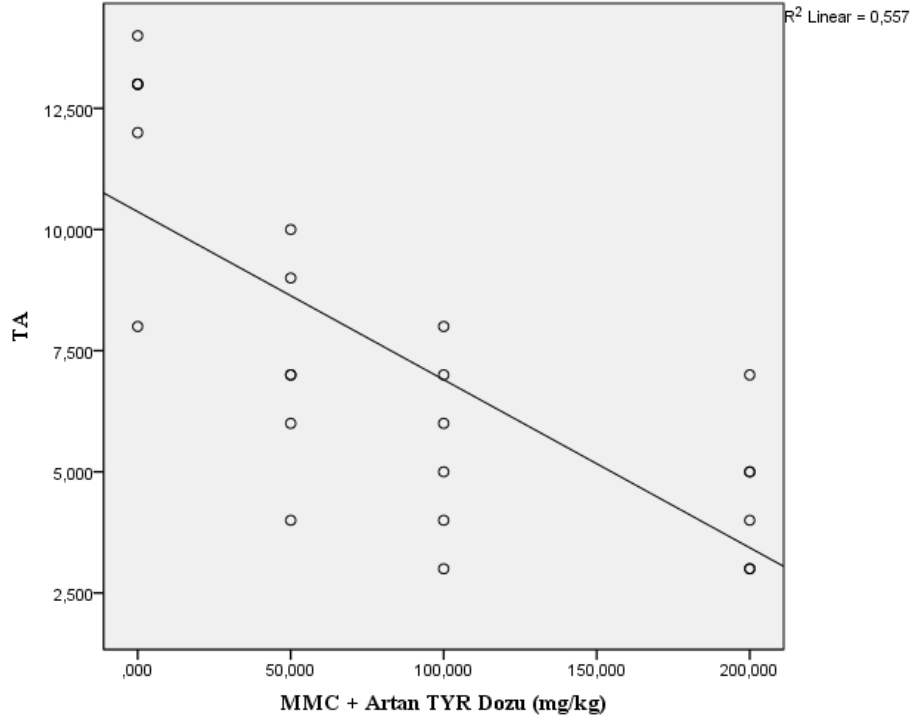


Şekil 4.9. *İn vivo* CA deneyi sonucunda elde edilen ortalama Toplam Aberasyon değerleri. TA; Toplam Aberasyon, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır **: p ≤ 0,001.

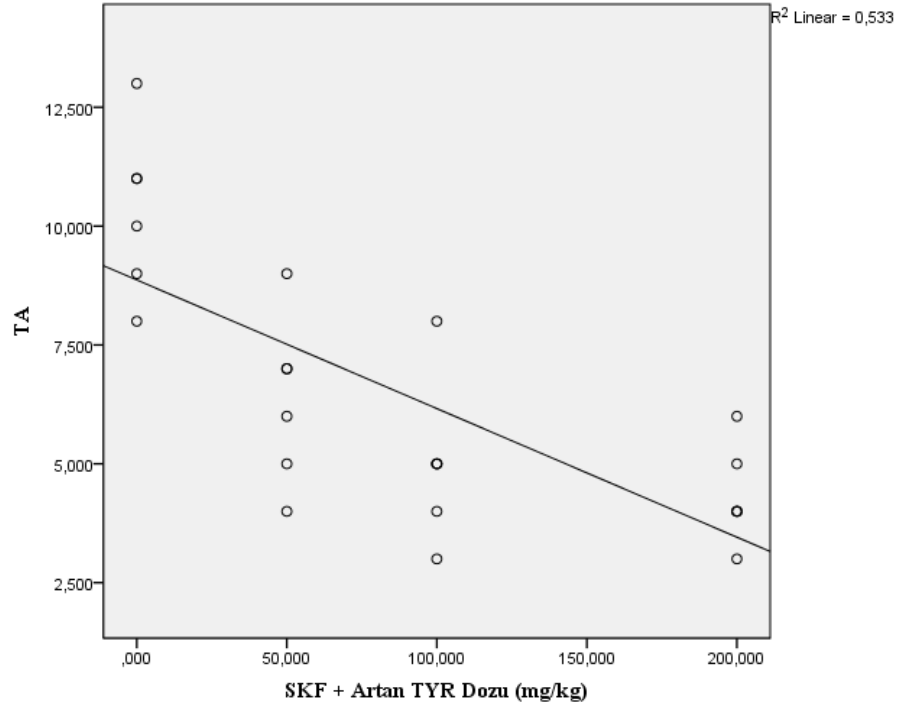


Şekil 4.10. *İn vivo* CA deneyi sonucunda elde edilen ortalama, Gap ve pulverizasyon hariç toplam aberasyon değerleri. TA – (G+P); Gap ve pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır **: $p \leq 0,001$.

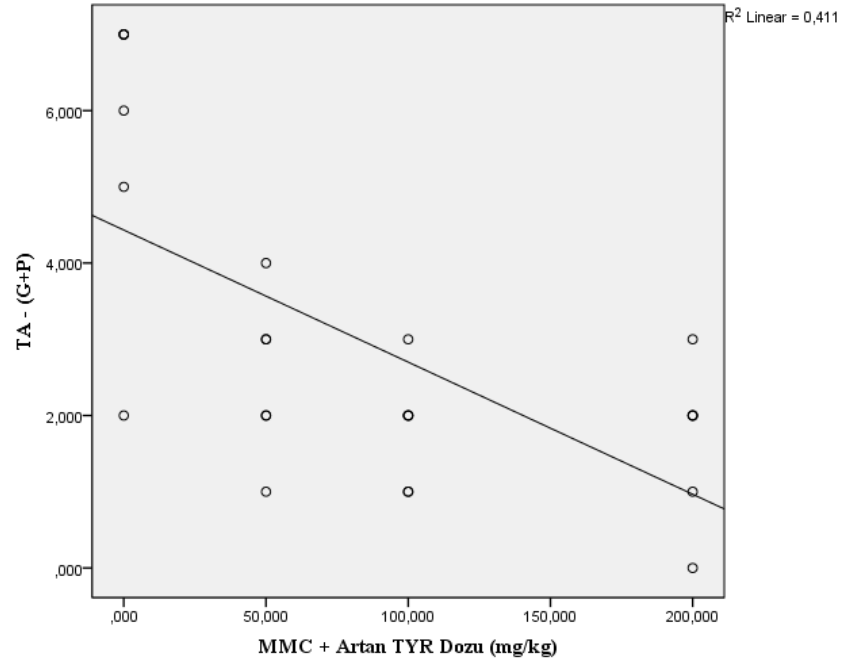
Ayrıca MMC ve SKF tarafından indüklenen TA ve TA- (G+P) frekansının TYR tarafından indirgenmesinde artan TYR dozlarının etkisi regresyon analizi ile incelenmiştir. Sonuç olarak MMC ve SKF tarafından indüklenen TA ve TA- (G+P) frekansının artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir. TA için, MMC + TYR dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.11’de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise $y = 10,367 - 0,035 * \text{Doz}$ şeklinde belirlenmiştir ($R^2 = 0,557$; $p \leq 0,001$). SKF + TYR dozları için elde edilen regresyon eğrisi ise Şekil 4.12’de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise $y = 8,867 - 0,027 * \text{Doz}$ şeklinde belirlenmiştir ($R^2 = 0,533$; $p \leq 0,001$). Benzer şekilde MMC tarafından indüklenmiş TA- (G+P) frekansı üzerine, artan TYR dozlarının etkisi Şekil 4.13’te gösterilmiştir. Bu ilişki için elde edilen grafiğin R^2 değeri 0,411 olarak belirlenmiştir. Bu grafiğin denklemi ise $y = 4,433 - 0,017 * \text{Doz}$ şeklinde belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). SKF tarafından indüklenmiş TA- (G+P) frekansı üzerine, artan TYR dozlarının etkisi Şekil 4.14’te gösterilmiştir. Bu ilişki için elde edilen grafiğin R^2 değeri 0,358 olarak belirlenmiştir. Bu grafiğin denklemi ise $y = 4,1 - 0,013 * \text{Doz}$ şeklinde belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).



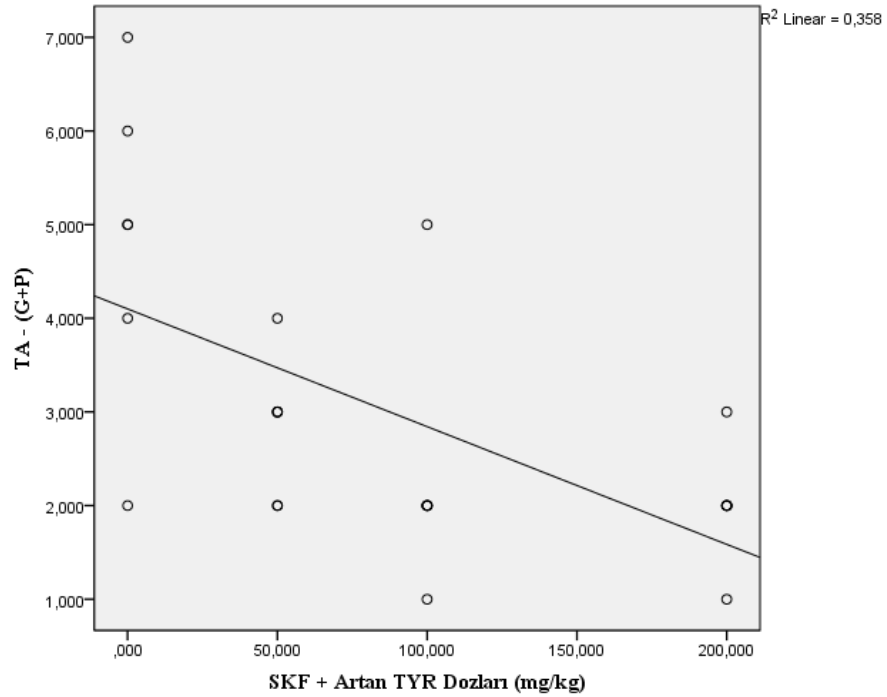
Şekil 4.11. *In vivo*'da MMC tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, TA; Toplam Aberasyon.



Şekil 4.12. *In vivo*'da SKF tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. SKF; Siklofosfamid, TA; Toplam Aberasyon.



Şekil 4.13. *In vivo*' da MMC tarafından indüklenen TA- (G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, TA – (G+P); Gap ve pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon.



Şekil 4.14. *In vivo*' da SKF tarafından indüklenen TA- (G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. SKF; Siklofosfamid, TA – (G+P); Gap ve pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon.

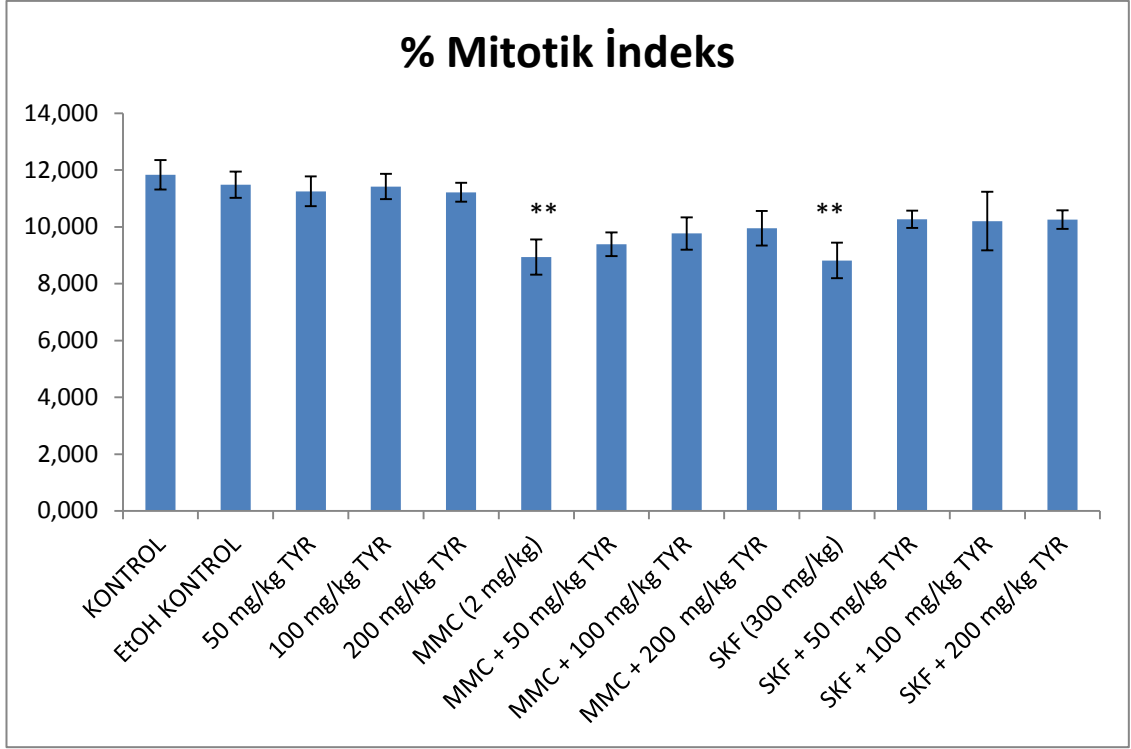
% Mitotik indeks (Mİ) bulgularımız ve ortalama değerleri izelge 3.5 ve Şekil 3.11’de gösterilmiştir. Kontrol grubu için belirlenen ortalama % Mİ değeri $11,833 \pm 0,520$ olarak belirlenmiştir. Ortalama %Mİ değerleri EtOH kontrol grubunda; $11,483 \pm 0,467$, 50 mg/kg TYR grubunda; $11,250 \pm 0,524$, 100 mg/kg TYR grubunda; $11,417 \pm 0,445$, 200 mg/kg TYR grubunda; $11,217 \pm 0,331$ olarak belirlenmiştir. MMC grubunda; $8,933 \pm 0,619$ olarak belirlenen %Mİ değeri MMC + 50 mg/kg TYR grubunda; $9,383 \pm 0,417$, MMC + 100 mg/kg TYR grubunda; $9,767 \pm 0,572$, MMC + 200 mg/kg TYR grubunda; $9,950 \pm 0,606$ olarak belirlenmiştir. SKF grubunda $8,817 \pm 0,624$ olarak belirlenen %Mİ değeri, SKF +50 mg/kg TYR grubunda; $10,267 \pm 0,308$, SKF +100 mg/kg TYR grubunda; $10,200 \pm 1,032$ SKF +200 mg/kg TYR grubunda; $10,250 \pm 0,327$ olarak belirlenmiştir.

In vivo % Mİ bulgularının İstatistiksel karşılaştırmaları, tek yönlü varyans analizi (ANOVA) ve Tukey HSD testleri ile gerçekleştirilmiştir. Bu karşılaştırmalar sonrasında Kontrol ve EtOH kontrol grupları arasında istatistiki olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p \geq 0,05$). Her  TYR uygulama dozunun (50, 100, 200 mg/kg) tek başlarına uygulandığı gruplarının kontrol grupları (Kontrol ve EtOH kontrol) ile karşılaştırılması sonunda da TYR uygulamaları ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir farklılık belirlenmemiştir ($p \geq 0,05$). MMC ve SKF uygulama gruplarının %Mİ değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, her ikisinde de %Mİ değerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaldığı belirlenmiştir. MMC + 50 mg/kg TYR, MMC + 100 mg/kg TYR ve MMC + 200 mg/kg TYR uygulama gruplarının %Mİ değerleri tek başına MMC uygulanan grubunun %Mİ değerleri ile karşılaştırıldığında, her üç grubun %Mİ değerinin de, MMC grubunun %Mİ değerinden istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir ($p \geq 0,05$). Ancak her üç grubun %Mİ değeri, kontrol grubunun %Mİ değeri ile karşılaştırıldığında MMC + TYR uygulamalarının % Mİ değerini istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Benzer Şekilde SKF + 50 mg/kg TYR, SKF + 100 mg/kg TYR, SKF + 200 mg/kg TYR uygulama gruplarının %Mİ değerleri tek başına SKF uygulanan grubunun %Mİ değerleri ile karşılaştırıldığında, her üç grubun %Mİ değerinin de, SKF grubunun %Mİ değerinden istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir ($p \geq 0,05$). Ancak her üç grubun %Mİ değeri, kontrol grubunun %Mİ değeri ile karşılaştırıldığında SKF + TYR

uygulamalarının da % Mİ değerini istatistiksel olarak anlamlı oranda azalttığı belirlenmiştir ($p < 0,001$).

Çizelge 4.5. *In vivo* CA testinde elde edilen % Mİ değerleri. Mİ: Mitotik İndeks, EtOH: Etanol, TYR: Tyrosol, MMC: Mitomisin C, SKF: Siklofosfamid, SS: Standart Sapma.^a; Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır ($p \leq 0,001$)

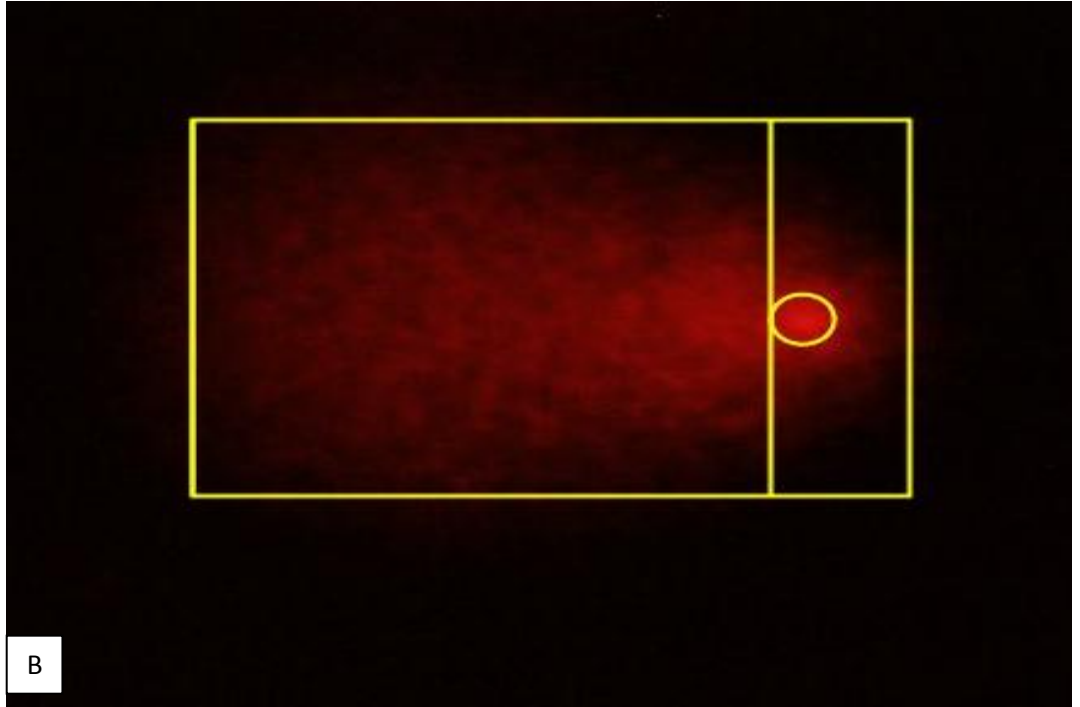
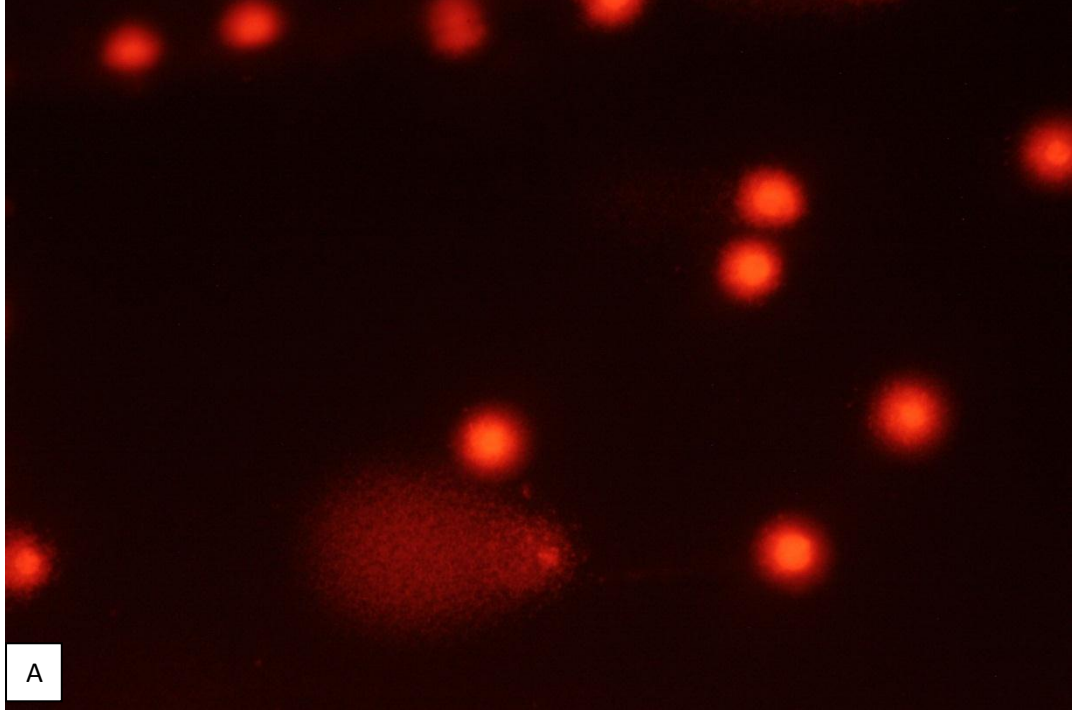
	1. Fare	2. Fare	3. Fare	4. Fare	5. Fare	6. Fare	Ortalama \pm SS
KONTROL	12	12,5	11	11,5	11,9	12,1	11,833 \pm 0,520
EtOH KONTROL	11,9	11,8	12	11	11	11,2	11,483 \pm 0,467
50 mg/kg TYR	11,8	11	11,1	10,9	10,7	12	11,250 \pm 0,524
100 mg/kg TYR	12	11,1	11,5	11,3	11,8	10,8	11,417 \pm 0,445
200 mg/kg TYR	10,8	10,9	11,6	11,5	11,4	11,1	11,217 \pm 0,331
MMC (2 mg/kg)	10	9	9,1	8,8	8,5	8,2	8,933 \pm 0,619 ^a
MMC + 50 mg/kg TYR	9,5	9,7	9	9,4	9,9	8,8	9,383 \pm 0,417 ^a
MMC + 100 mg/kg TYR	9,5	8,8	9,9	10	10,5	9,9	9,767 \pm 0,572 ^a
MMC + 200 mg/kg TYR	10	10,1	8,8	10,2	10	10,6	9,950 \pm 0,606 ^a
SKF (50 mg/kg)	9,9	8,9	8,8	8,8	8,5	8	8,817 \pm 0,624 ^a
SKF + 50 mg/kg TYR	10	10,4	10,8	10,1	10,3	10	10,267 \pm 0,308 ^a
SKF + 100 mg/kg TYR	10,5	10,4	11,1	11,2	9,5	8,5	10,200 \pm 1,032 ^a
SKF + 2 00 mg/kg TYR	10	10,5	10,1	10,1	10,8	10	10,250 \pm 0,327 ^a



Şekil 4.15. *İn vivo* CA deneyi sonucunda elde edilen % Mitotik İndeks değerleri. EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. Kontrol grubu ile karşılaştırılmışlardır. **: ($p \leq 0,001$)

4.1.4. *İn vivo* Komet Testi Bulguları

İn vivo komet testinde elde edilen mikroskopik görüntü örnekleri Şekil 4.16'da verilmiştir. Bulgular içerisinde Kuyruk uzunluğu (K.U.) (μm), Kuyruk %DNA (K.%DNA) ve Olive Kuyruk Momenti (OTM: Olive Tail Moment) parametreleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin ortalama değerleri Çizelge 4.6'da verilmiştir.



Şekil 4.16. *İn vivo* komet testi sonunda hazırlanan preparatlardan örnek mikroskobik görüntü (X20). A) SKF uygulama grubundan elde edilen örnek görüntü B) A fotoğrafındaki yoğun hasarlı DNA'nın mikrosistem komet yazılımı kullanılarak eşiklemesi yapılmış hali.

Çizelge 4.6. *İn vivo* komet testinde elde edilen ortalama değerler. K.U.; Kuyruk Uzunluğu (µm), K.%DNA; Kuyruk %DNA miktarı, OTM; Olive Kuyruk Momenti, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. ^a; Aynı parametre için kendi kontrol grubu olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır, ^b; Aynı parametre için kendi kontrol grubu olan SKF grubu ile karşılaştırılmıştır (p≤0,001).

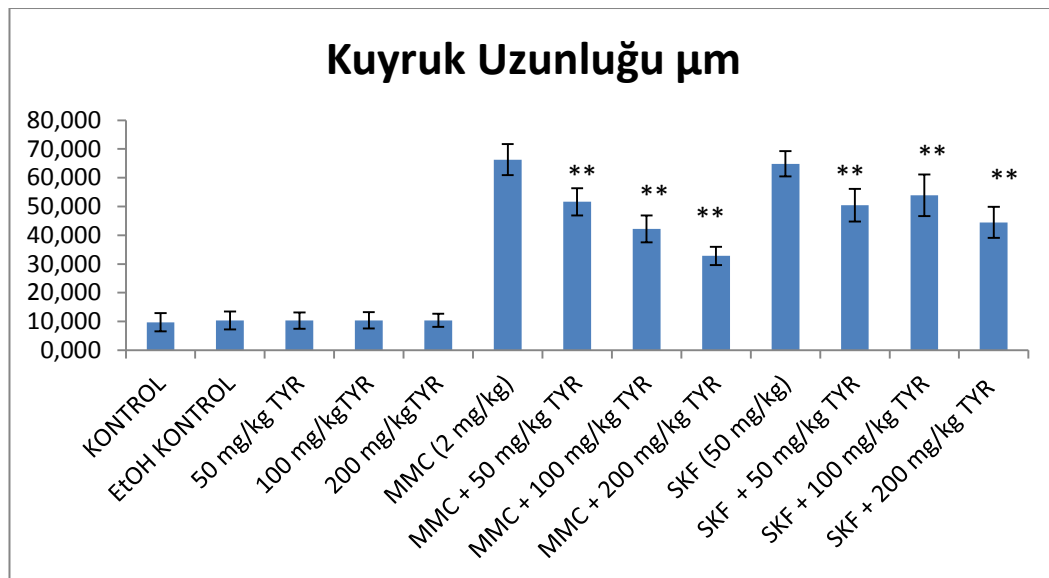
	K.U.	K. % DNA	OTM
KONTROL	9,703 ± 3,178	4,823 ± 1,003	0,156 ± 0,078
EtOH KONTROL	10,360 ± 3,112	5,152 ± 1,396	0,166 ± 0,073
50 mg/kg TYR	10,317 ± 2,850	4,989 ± 0,977	0,160 ± 0,064
100 mg/kg TYR	10,397 ± 2,828	4,966 ± 1,399	0,172 ± 0,077
200 mg/kg TYR	10,387 ± 2,297	4,969 ± 1,136	0,167 ± 0,063
MMC (2 mg/kg)	66,300 ± 5,423	53,835 ± 7,642	20,904 ± 3,931
MMC + 50 mg/kg TYR	51,620 ± 4,772 ^a	41,329 ± 6,561 ^a	14,416 ± 2,938 ^a
MMC + 100 mg/kg TYR	42,223 ± 4,675 ^a	32,967 ± 3,482 ^a	10,513 ± 1,560 ^a
MMC +200 mg/kg TYR	32,807 ± 3,191 ^a	21,789 ± 2,786 ^a	4,637 ± 0,734 ^a
SKF (50 mg/kg)	64,863 ± 4,413	52,303 ± 5,998	20,326 ± 3,431
SKF + 50 mg/kg TYR	50,467 ± 5,656 ^b	39,902 ± 6,500 ^b	13,817 ± 2,792 ^b
SKF + 100 mg/kg TYR	53,910 ± 7,248 ^b	42,839 ± 7,882 ^b	14,915 ± 3,490 ^b
SKF + 200 mg/kg TYR	44,477 ± 5,363 ^b	38,836 ± 5,873 ^b	13,373 ± 2,590 ^b

Bu parametreler içerisinde K.U. değerlerinden elde edilen grafik Şekil 4.17’de gösterilmiştir. K.U. değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane’s T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama K.U. değerleri (µm), kontrol grubunda 9,703 ± 3,178, EtOH grubunda 10,360 ± 3,112 olarak belirlendi. Yine ortalama K.U. değeri 50 mg/kg, 100 mg/kg ve 200 mg/kg TYR gruplarında ise sırasıyla 10,317 ± 2,850; 10,397 ± 2,828 ve 10,387 ± 2,297 olarak belirlendi. Bu beş grubun kendi aralarındaki istatistiksel karşılaştırmalarında anlamlı düzeyde bir farklılık belirlenemedi (p>0,05).

Ortalama K.U. değerleri MMC grubunda 66,300 ± 5,423 SKF grubunda ise 64,863 ± 4,413 olarak belirlendi. Bu iki grubun ortalama K.U. değerleri Kontrol, EtOH ve tek başına TYR uygulama grupları ile karşılaştırıldığında MMC ve SKF’nin ortalama K.U. değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlendi (p≤0,001). Ayrıca MMC ve SKF uygulama grupları kendi aralarında karşılaştırıldığında ise K.U. değeri açısından aralarında istatistiksel olarak anlamlı bir fark olmadığı belirlendi (p>0,05).

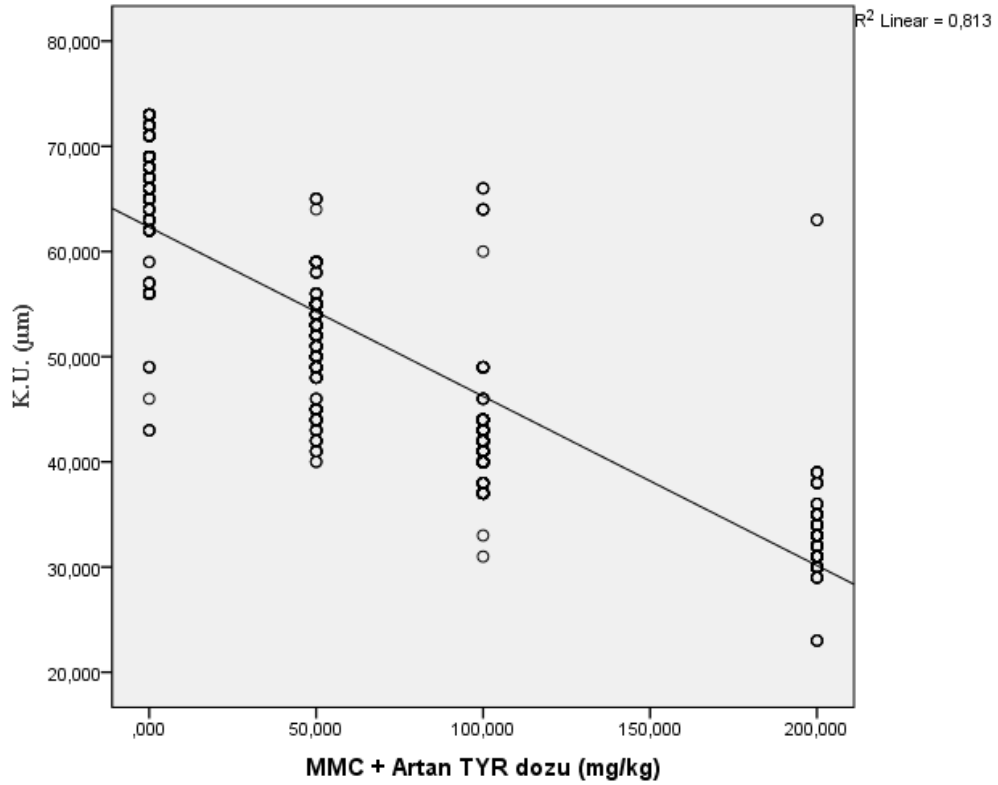
MMC + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulama gruplarında ortalama K.U. değerleri sırasıyla $51,620 \pm 4,772$; $42,223 \pm 4,675$ ve $32,807 \pm 3,191$ olarak belirlendi. Bu değerler MMC grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da MMC tarafından artırılmış olan K.U. değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K.U. değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).

SKF + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulama gruplarında ortalama K.U. değerleri sırasıyla $50,467 \pm 5,656$; $53,910 \pm 7,248$ ve $44,477 \pm 5,363$ olarak belirlendi. Bu değerler SKF grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da SKF tarafından artırılmış olan K.U. değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K.U. değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).

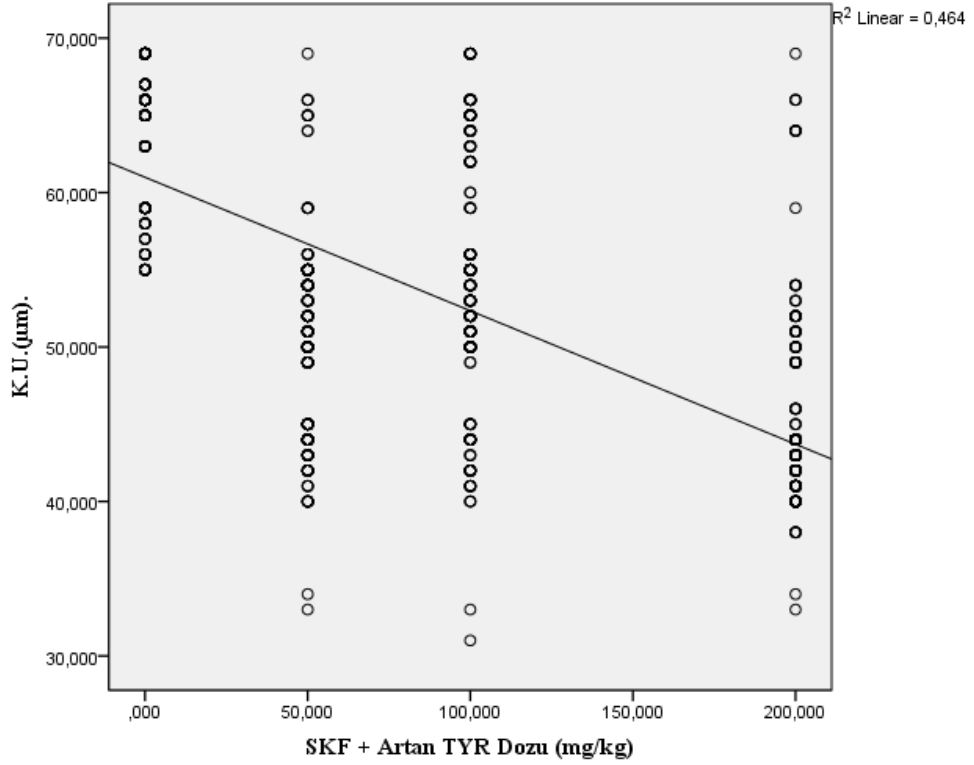


Şekil 4.17. *İn vivo* Komet testi Kuyruk Uzunluğu verileri. TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır **; $p \leq 0,001$.

Ayrıca MMC ve SKF tarafından arttırılan, Komet Kuyruk uzunluğu değerlerinin, MMC ve SKF + TYR uygulama gruplarında artan TYR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda MMC tarafından arttırılan kuyruk uzunluğu değerlerinin artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($R^2= 0,813$; $p\leq 0,001$). Denklemi; $y= 62,011- 0,181 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.18’de gösterilmiştir. Benzer şekilde Regresyon analizi sonunda SKF tarafından arttırılan K.U. değerlerinin de artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($R^2= 0,464$; $p\leq 0,001$). Denklemi; $y= 60,991 - 0,086 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.19’da gösterilmiştir.



Şekil 4.18. *In vivo*'da MMC tarafından indüklenen K.U. frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, K.U.; Kuyruk uzunluğu (µm).



Şekil 4.19. *İn vivo*'da SKF tarafından indüklenen K.U. frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. SKF; Siklofosfamid, K.U.; Kuyruk uzunluğu (µm).

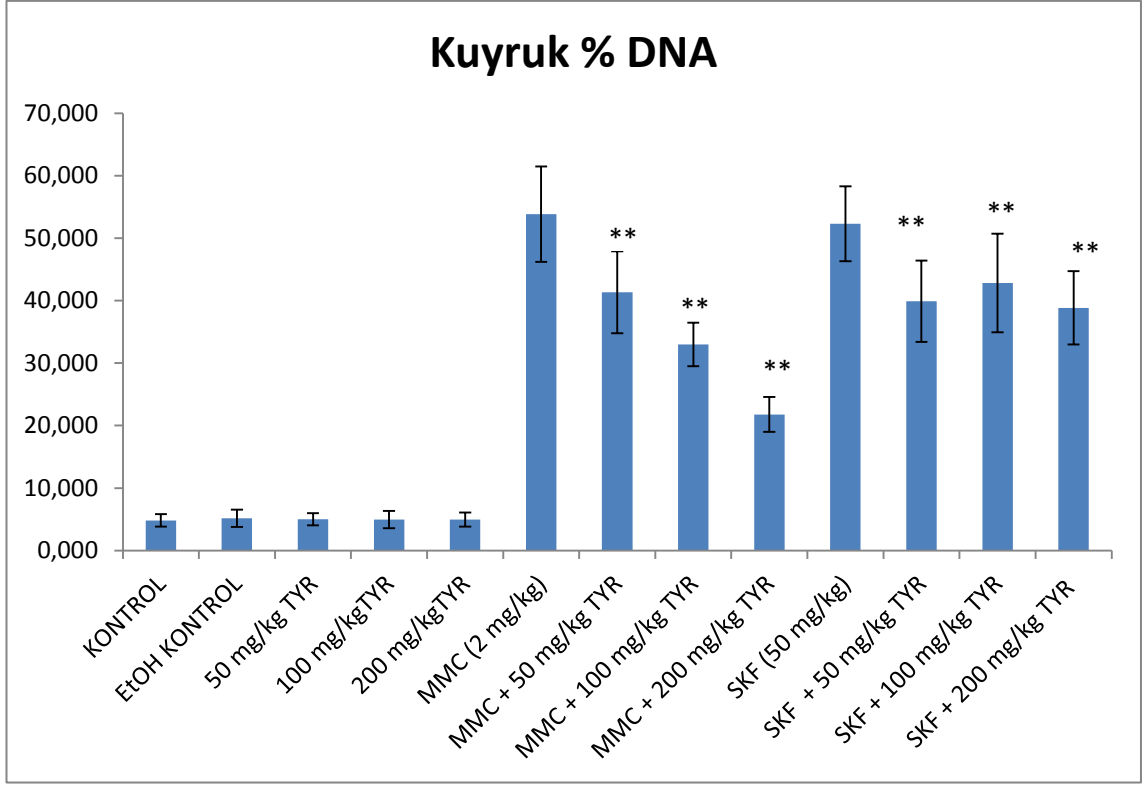
İn vivo komet testi sonunda değerlendirilen bir diğer parametre Kuyruk % DNA (K. % DNA) içeriği değerleridir. *İn vivo* komet testi sonunda elde edilen K. %DNA içeriği bulgularından hazırlanan grafik Şekil 4.20'de verilmiştir. K. %DNA içeriği değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama K. %DNA içeriği değeri kontrol grubunda $4,823 \pm 1,003$, EtOH grubunda ise $5,152 \pm 1,396$ olarak belirlendi. 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulamalarının ortalama K. %DNA içeriği değerleri sırasıyla $4,989 \pm 0,977$; $4,966 \pm 1,399$ ve $4,969 \pm 1,136$ olarak belirlendi. Bu beş grubun birbirleri ile olan istatistiksel karşılaştırılmalarında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenemedi ($p > 0,05$).

MMC ve SKF uygulama gruplarında ortalama K. %DNA içeriği değerleri sırasıyla $53,835 \pm 7,642$ ve $52,303 \pm 5,998$ olarak belirlendi. Bu değerler Kontrol, EtOH ve tek başına TYR uygulama gruplarının K. %DNA içeriği değerleri ile karşılaştırıldığında hem MMC hem de SKF'nin K. %DNA içeriği değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlendi ($p \leq 0,001$). MMC ve SKF gruplarının K. %DNA içeriği

değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında ise iki grup arasında anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ($p>0,05$).

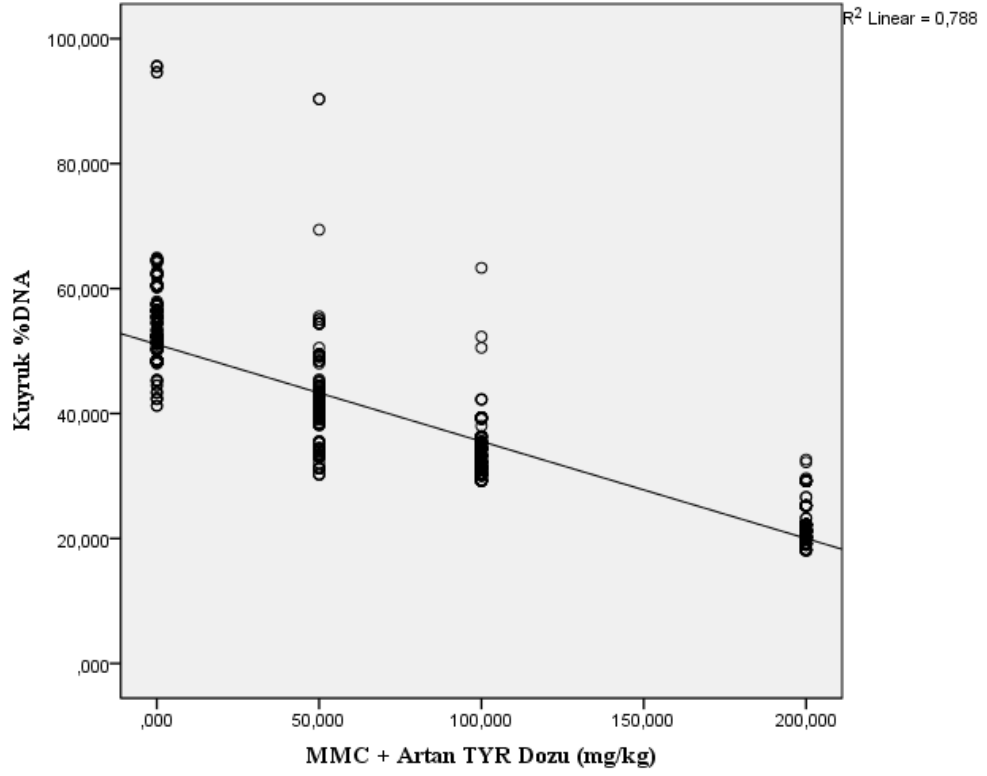
MMC + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR gruplarının K. %DNA içeriği değerleri sırasıyla $41,329 \pm 6,561$; $32,967 \pm 3,482$ ve $21,789 \pm 2,786$ olarak belirlendi. Bu değerler MMC grubunun K. %DNA içeriği değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da MMC tarafından artırılmış olan K. %DNA içeriği değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bu üç grup kendi aralarında karşılaştırıldığında da üçünün de birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K. %DNA içeriği değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).

SKF + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR gruplarının K. %DNA içeriği değerleri sırasıyla $39,902 \pm 6,500$; $42,839 \pm 7,882$ ve $38,836 \pm 5,873$ olarak belirlendi. Bu değerler SKF grubunun K. %DNA içeriği değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da SKF tarafından artırılmış olan K. %DNA içeriği değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bu üç grup kendi aralarında karşılaştırıldığında da üçünün de birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K. %DNA içeriği değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).

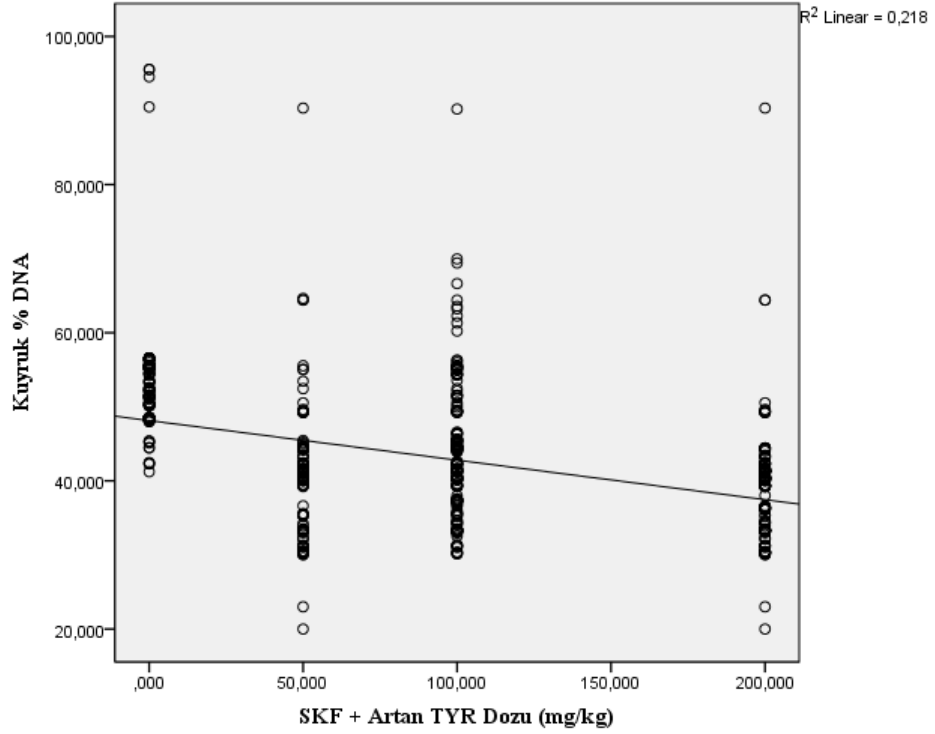


Şekil 4.20. *In vivo* komet testi Kuyruk % DNA içeriği verileri. TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır **; $p \leq 0,001$.

Ayrıca MMC ve SKF tarafından arttırılan, Kuyruk %DNA içeriğinin, MMC ve SKF + TYR uygulama gruplarında, artan TYR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda MMC tarafından arttırılan kuyruk %DNA içeriğinin artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($R^2 = 0,788$; $p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 51,068 - 0,155 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.21'de gösterilmiştir. Benzer şekilde Regresyon analizi sonunda SKF tarafından arttırılan kuyruk %DNA içeriğinin de artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($R^2 = 0,218$; $p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 48,143 - 0,053 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.22'de gösterilmiştir.



Şekil 4.21. *In vivo*'da MMC tarafından indüklenen K. %DNA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, K.; Kuyruk.



Şekil 4.22. *In vivo*'da SKF tarafından indüklenen K. %DNA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. SKF; Siklofosfamid, K.; Kuyruk.

İn vivo komet testi sonunda değerlendirilen son parametre OTM (Olive Tail Moment; Olive Kuyruk Momenti) değerleridir. *İn vivo* komet testi sonunda elde edilen OTM bulgularından hazırlanan grafik Şekil 4.23'te verilmiştir.

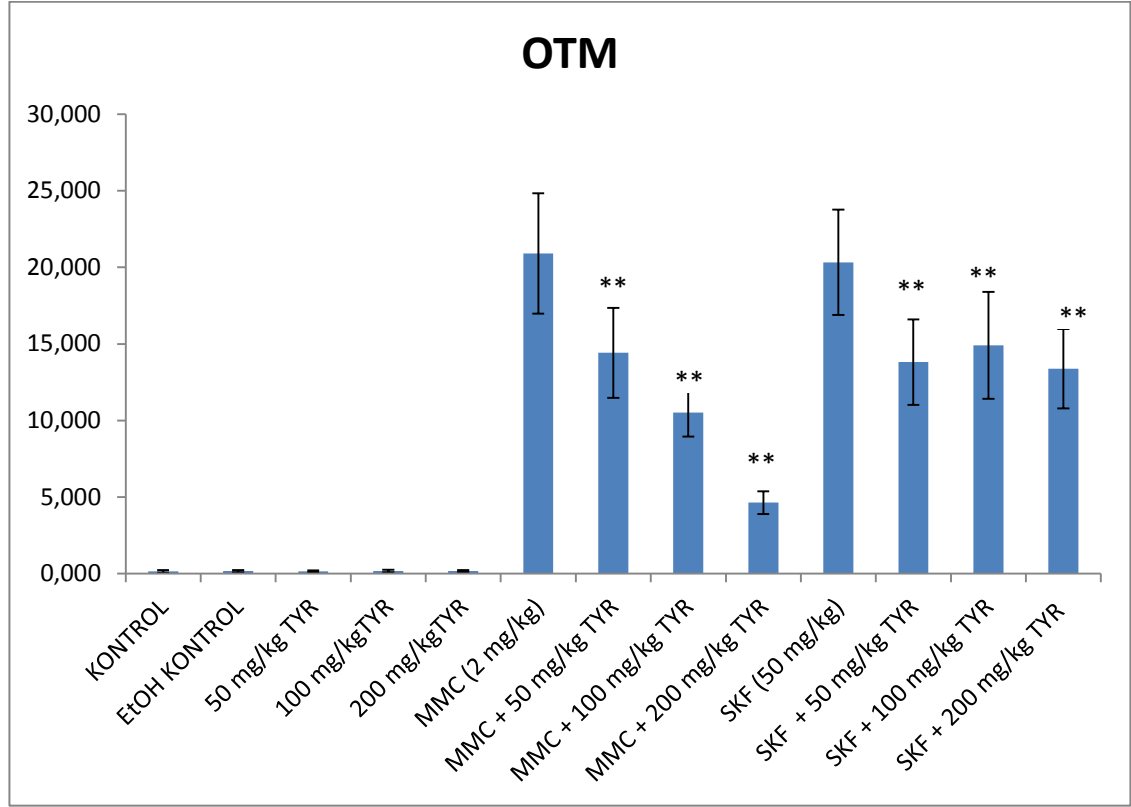
OTM değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama OTM değeri kontrol grubunda $0,156 \pm 0,078$ EtOH grubunda ise $0,166 \pm 0,073$ olarak belirlendi. 50, 100 ve 200 mg/kg TYR uygulamalarının ortalama OTM değerleri sırasıyla $0,160 \pm 0,064$; $0,172 \pm 0,077$ ve $0,167 \pm 0,063$ olarak belirlendi. Bu beş grubun birbirleri ile olan istatistiksel karşılaştırmalarında, gruplar arasında anlamlı bir farklılık belirlenemedi ($p > 0,05$).

MMC ve SKF uygulama gruplarında ortalama OTM değerleri sırasıyla $20,904 \pm 3,931$ ve $20,326 \pm 3,431$ olarak belirlendi. Bu değerler Kontrol, EtOH ve tek başına TYR uygulama gruplarının OTM değerleri ile karşılaştırıldığında hem MMC hem de SKF'nin OTM değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlendi ($p \leq 0,001$). MMC ve SKF gruplarının OTM değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında ise iki grup arasından anlamlı bir farklılık olmadığı belirlendi ($p > 0,05$).

MMC + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR gruplarının OTM değerleri sırasıyla $14,416 \pm 2,938$; $10,513 \pm 1,560$ ve $4,637 \pm 0,734$ olarak belirlendi. Bu değerler MMC grubunun OTM değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da MMC tarafından artırılmış olan OTM değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bu üç grup kendi aralarında karşılaştırıldığında da üçünün de birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun OTM değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).

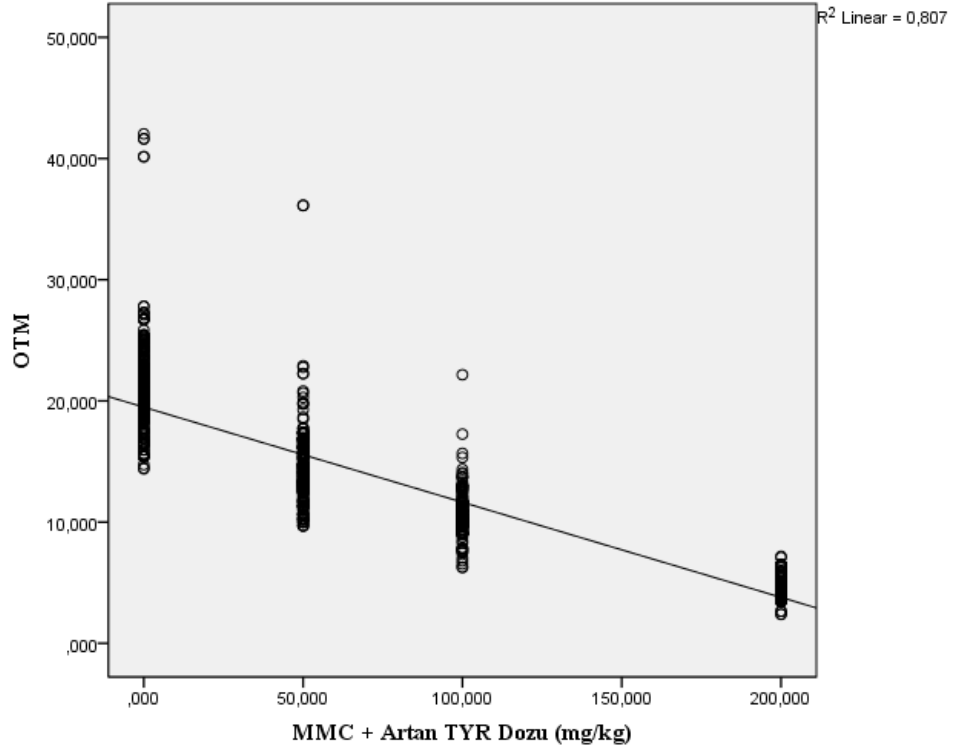
SKF + 50, 100 ve 200 mg/kg TYR gruplarının OTM değerleri sırasıyla $13,817 \pm 2,792$; $14,915 \pm 3,490$ ve $13,373 \pm 2,590$ olarak belirlendi. Bu değerler SKF grubunun OTM değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da SKF tarafından artırılmış olan OTM değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bu üç grup kendi aralarında karşılaştırıldığında da üçünün de birbirlerinden

istatistiksel olarak farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun OTM değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).

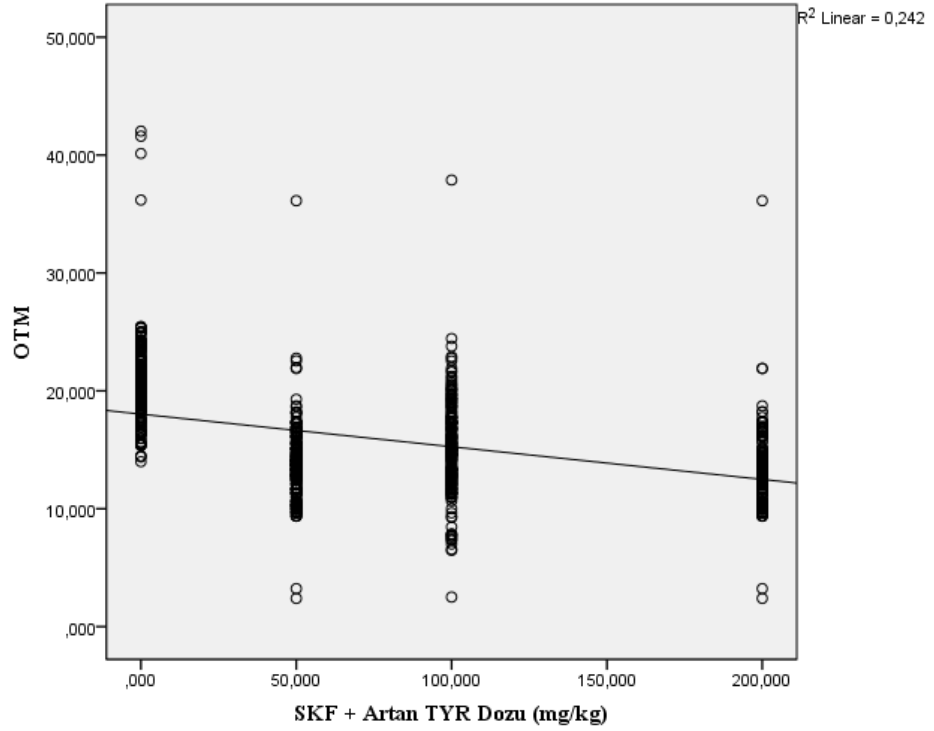


Şekil 4.23. *In vivo* komet testi OTM verileri. OTM; Olive Tail Moment (Olive Kuyruk Momenti) TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır **: $p \leq 0,001$.

Ayrıca MMC ve SKF tarafından arttırılan, OTM değerinin, MMC ve SKF + TYR uygulama gruplarında, artan TYR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Regresyon analizi sonunda MMC tarafından arttırılan OTM değerinin artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($R^2 = 0,807$; $p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 19,484 - 0,078 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi şekil 4.24'te gösterilmiştir. Benzer şekilde Regresyon analizi sonunda SKF tarafından arttırılan OTM değerinin de artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($R^2 = 0,242$; $p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 18,031 - 0,028 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.25'te gösterilmiştir.



Şekil 4.24. *In vivo*'da MMC tarafından indüklenen OTM frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. OTM; Olive Tail Moment



Şekil 4.25. *In vivo*'da SKF tarafından indüklenen OTM frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi OTM; Olive Tail Moment.

4.2. *İn vitro* Deneşlerin Bulguları

4.2.1. *İn vitro* doz denemeleri bulguları

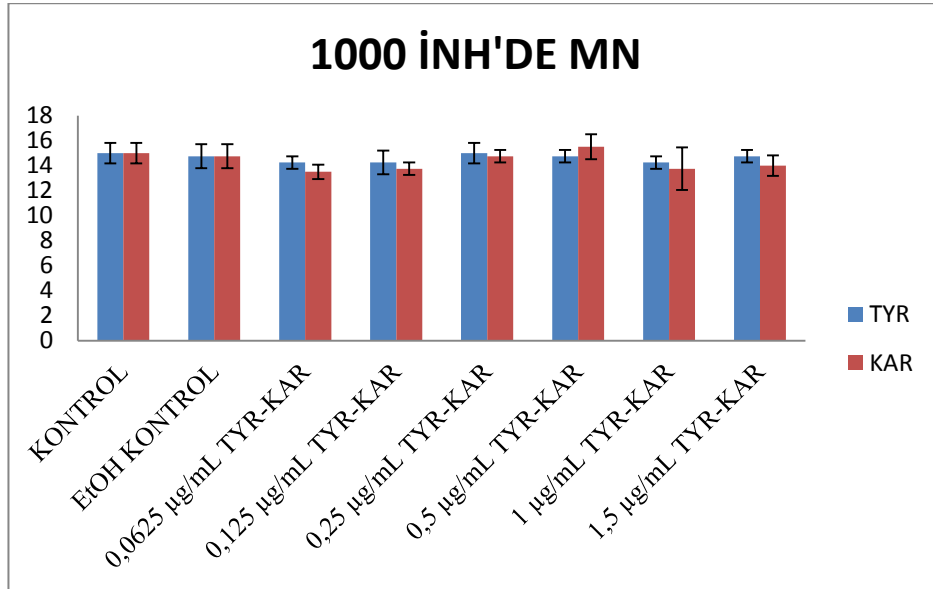
İn vitro doz denemelerinden elde edilen ortalama MN ve NDI değerleri izelge 4,7’de verilmiştir. Bu verilerden elde edilen MN grafiği Şekil 4.26 NDI grafiği ise 4.27’de verilmiştir.

İn vitro doz denemelerinin MN sonuçlarının istatistiksel analizi ANOVA ve Tukey HSD tetleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel karşılaştırmalarda, doz denemelerinde kullanılan tüm TYR ve KAR dozlarının MN frekansları ile Kontrol ve EtOH grubunun MN frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0,05$).

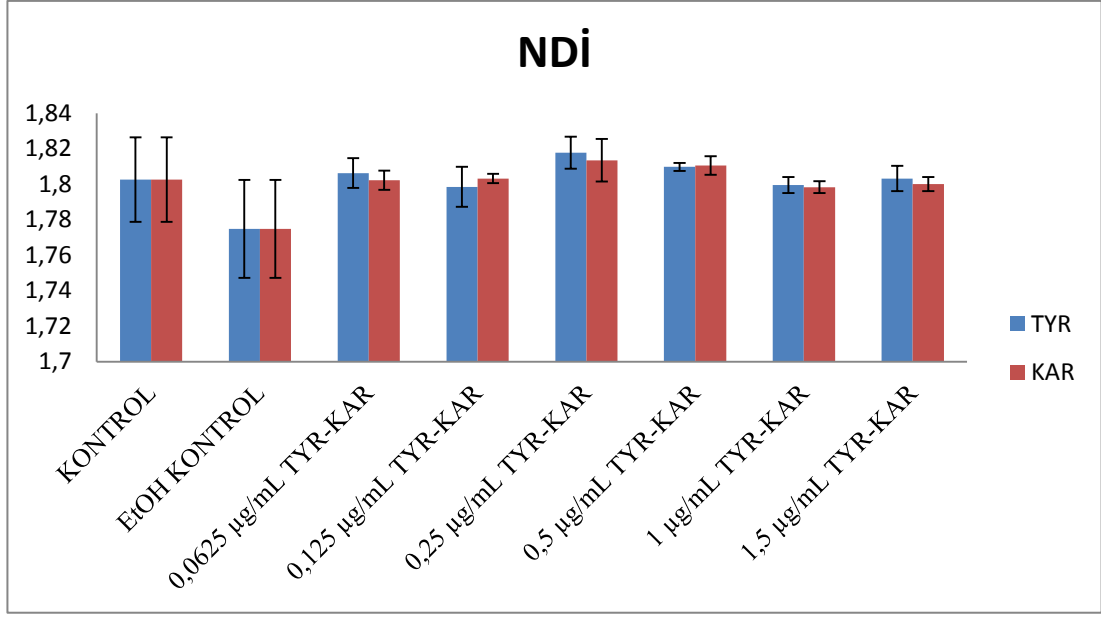
Benzer Şekilde NDI değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane’s T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. İstatistiksel karşılaştırmalarda, doz denemelerinde kullanılan tüm TYR ve KAR dozlarının NDI frekansları ile Kontrol ve EtOH grubunun NDI frekansları arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p>0,05$).

Çizelge 4.7. *In vitro* doz denemeleri bulguları. EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, KAR; Karnosik asit, NDI; Nükleus Bölünme indeksi, SS; Standart Sapma.

	MN ± SS	NDI ± SS
KONTROL	15 ± 0,816	1,803 ± 0,024
EtOH KONTROL	14,75 ± 0,957	1,652 ± 0,038
0,0625 µg/mL TYR	14,25 ± 0,5	1,803 ± 0,0239
0,125 µg/mL TYR	14,25 ± 0,957	1,775 ± 0,028
0,25 µg/mL TYR	15 ± 0,816	1,806 ± 0,008
0,5 µg/mL TYR	14 ± 0,5	1,799 ± 0,011
1 µg/mL TYR	14 ± 0,5	1,818 ± 0,009
1,5 µg/mL TYR	14,75 ± 0,5	1,810 ± 0,002
0,0625 µg/mL KAR	13,5 ± 0,577	1,802 ± 0,005
0,125 µg/mL KAR	13,75 ± 0,5	1,803 ± 0,003
0,25 µg/mL KAR	14,75 ± 0,5	1,814 ± 0,012
0,5 µg/mL KAR	15,5 ± 1	1,811 ± 0,005
1 µg/mL KAR	13,75 ± 1,708	1,798 ± 0,003
1,5 µg/mL KAR	14 ± 0,816	1,8 ± 0,004



Şekil 4.26. *In vitro* doz denemeleri MN bulguları. İNH; İki Nükleuslu Hücre, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, KAR; Karnosik asit,



Şekil 4.27. *In vitro* doz denemeleri NDI bulguları. NDI; Nükleus Bölünme İndeksi, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, KAR; Karnosik asit.

4.2.2. TYR uygulamaları için *In vitro* MN testi bulguları

TYR uygulamaları için *In vitro* MN testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskopik görüntülerden örnekler Şekil 4.28’de gösterilmiştir. *In vitro* MN testi sonunda elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.8, Şekil 4.29. ve Şekil 4.30’da gösterilmiştir.

1000 İNH başına düşen MN frekanslarının istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey HSD tetleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda 1000 İNH başına düşen MN frekansı $16,625 \pm 2,263$ bulunmuştur. Bu değer EtOH grubunda $20,125 \pm 3,603$ şeklindedir. 0,5 µg/mL TYR, 1 µg/mL TYR ve 2 µg/mL TYR gruplarında ise sırasıyla; $16,625 \pm 4,240$; $18,375 \pm 3,543$; $17,875 \pm 3,720$ şeklindedir. İstatistiki olarak değerlendirildiğinde Kontrol grubu ve EtOH grubu arasında herhangi bir istatistiki fark söz konusu değildir ($p > 0,05$). Aynı şekilde üç farklı TYR grubu ayrı ayrı kontrol grubu ve EtOH grubu ile karşılaştırıldığında da herhangi bir istatistiki fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Üç farklı TYR grubu kendi aralarında karşılaştırılınca da istatistiki olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$).

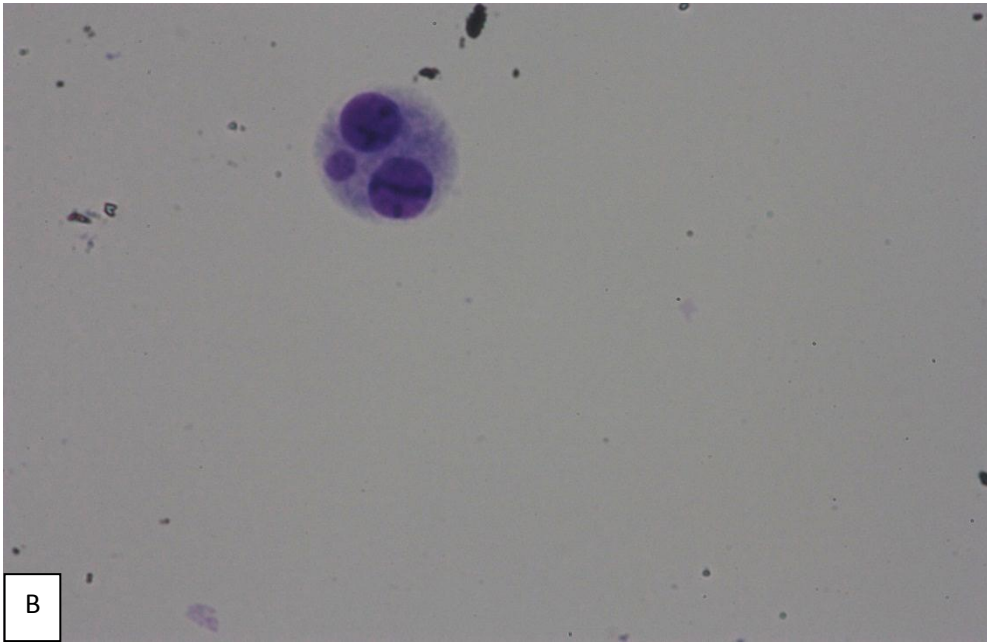
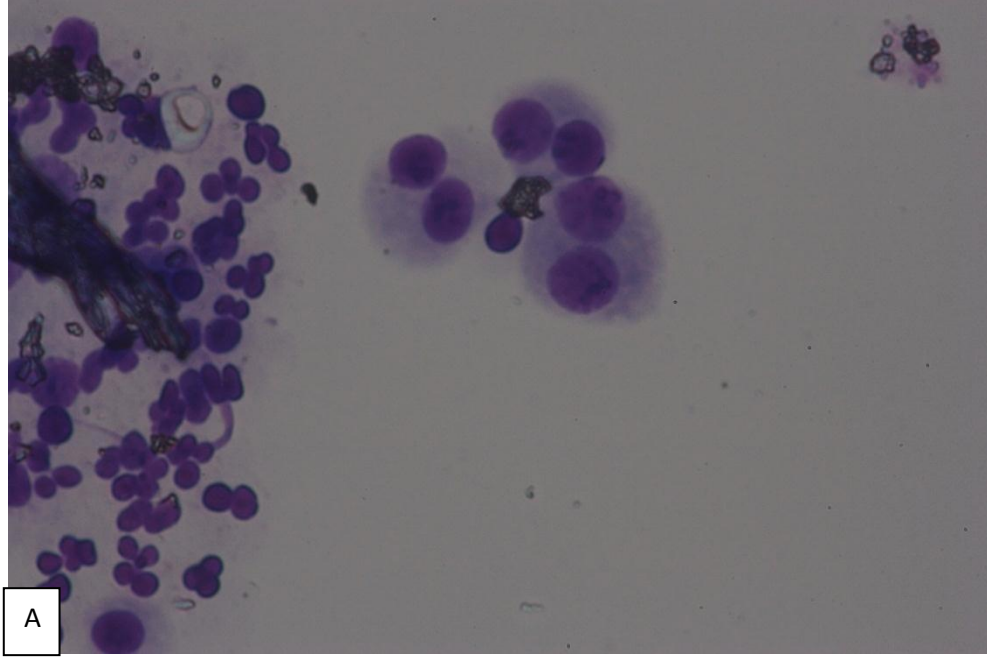
Yine 1000 İNH de MN frekansı açısından MMC grubunun değeri $74,500 \pm 5,682$, *SKF grubunun değeri ise $63,500 \pm 4,407$ şeklinde bulunmuştur. Bu değerler kontrol grubunun 1000 İNH de MN frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında hem MMC hem de *SKF uygulamalarının MN frekansını istatistiki olarak anlamlı bir düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalarda MMC+ 0,5 µg/mL TYR, MMC + 1 µg/mL TYR ve MMC+ 2 µg/mL TYR gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri ise sırasıyla; $26,125 \pm 1,885$; $24,000 \pm 3,505$; $20,000 \pm 5,398$ şeklindedir. Bu üç grubun değerleri ayrı ayrı MMC grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç doz TYR'nin de MMC tarafından arttırılmış olan MN frekanslarını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Üç farklı kombin uygulama (MMC+ 0,5 µg/mL TYR, MMC + 1 µg/mL TYR ve MMC+ 2 µg/mL TYR) gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında ise herhangi bir istatistiksel farklılık belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Aynı kombin grupların 1000 İNH deki MN frekansı değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da sadece MMC + 2 µg/mL TYR uygulama grubunun MN frekans değerleri ile kontrol grubunun MN frekans değerleri arasında bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Diğer iki grubun MN frekans değerleri ise kontrol grubunun MN frekans değerlerine oranla istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p \leq 0,001$).

Yine kombin uygulamalarda *SKF+ 0,5 µg/mL TYR, *SKF + 1 µg/mL TYR ve *SKF + 2 µg/mL TYR gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri ise sırasıyla; $21,500 \pm 4,598$; $21,375 \pm 2,973$; $19,750 \pm 3,991$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler *SKF uygulanan grubun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç doz TYR'nin de *SKF tarafından arttırılmış MN frekansını istatistiki olarak anlamlı bir düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Üç farklı kombin uygulama (*SKF+ 0,5 µg/mL TYR, *SKF + 1 µg/mL TYR ve *SKF + 2 µg/mL TYR) gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında herhangi bir istatistiksel farklılık belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Aynı kombin grupların 1000 İNH deki MN frekansı değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da istatistiki olarak bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$).

NDİ (Nükleus bölünme indeksi) değerlerinin istatistiksel analizleri de ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. NDİ değerleri açısından bulgularımıza baktığımızda, kontrol grubu ve EtOH grubu için NDİ değeri sırasıyla $1,798 \pm 0,016$ ve $1,649 \pm 0,029$ şeklinde belirlenmiştir. $0,5 \mu\text{g/mL}$ TYR, $1 \mu\text{g/mL}$ TYR, $2 \mu\text{g/mL}$ TYR uygulamaları için NDİ değerleri sırasıyla; $1,780 \pm 0,032$; $1,784 \pm 0,035$; $1,781 \pm 0,031$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler ayrı ayrı kontrol grubunun NDİ değeri ile karşılaştırıldığında EtOH grubunun NDİ değeri kontrol grubundan istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Üç farklı doz TYR uygulaması ile kontrol grubunun NDİ değerleri arasında istatistiki olarak bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). MMC ve *SKF uygulamalarının NDİ değerleri sırasıyla; $1,548 \pm 0,034$; $1,756 \pm 0,021$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler kontrol grubunun NDİ değerleri ile karşılaştırıldığında MMC ve *SKF uygulamalarının NDİ değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$ ve $p \leq 0,05$). Kombin uygulamaların NDİ değerleri kontrol grubunun NDİ değeri ile karşılaştırıldığında ise sadece *SKF + $1 \mu\text{g/mL}$ TYR uygulamasının NDİ değerini istatistik olarak anlamlı düzeyde indirgediği belirlenmiştir ($p \leq 0,05$).

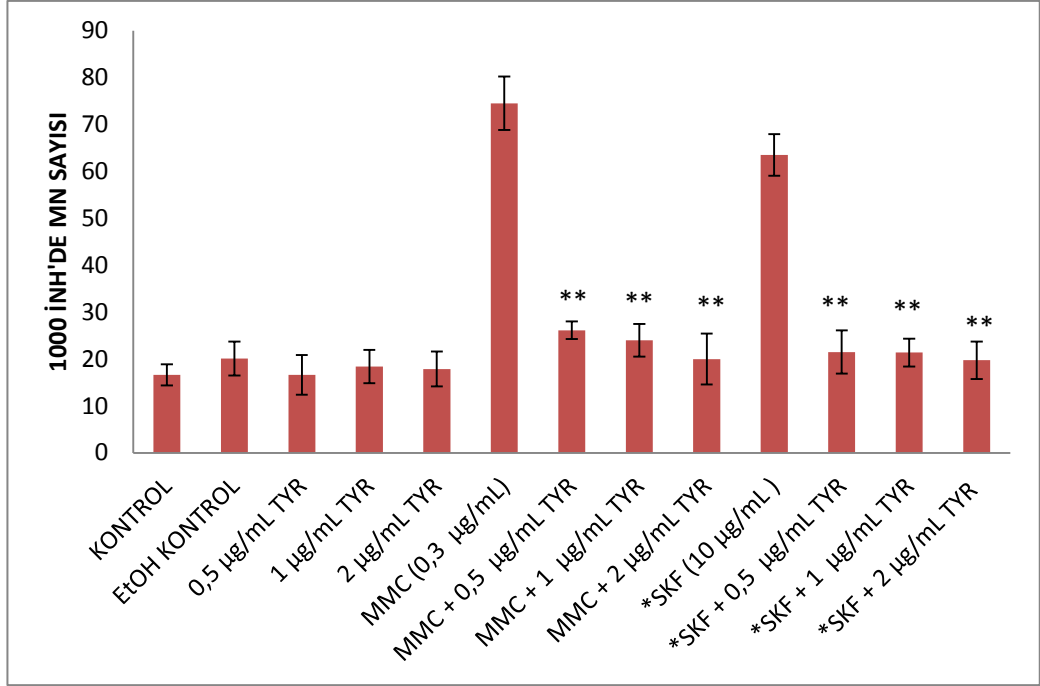
Ayrıca MMC ve *SKF tarafından arttırılan, 1000 İNH'de MN frekansının, MMC ve *SKF + TYR uygulama gruplarında artan TYR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Regresyon analizi sonunda MMC tarafından arttırılan 1000 İNH'de MN frekansının, artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($R^2 = 0,547$; $p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 55,950 - 22,621 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.31'de gösterilmiştir. Benzer şekilde, regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan 1000 İNH'de MN frekansının da istatistiksel olarak, artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($R^2 = 0,482$; $p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 47,025 - 17,707 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.32'de gösterilmiştir.



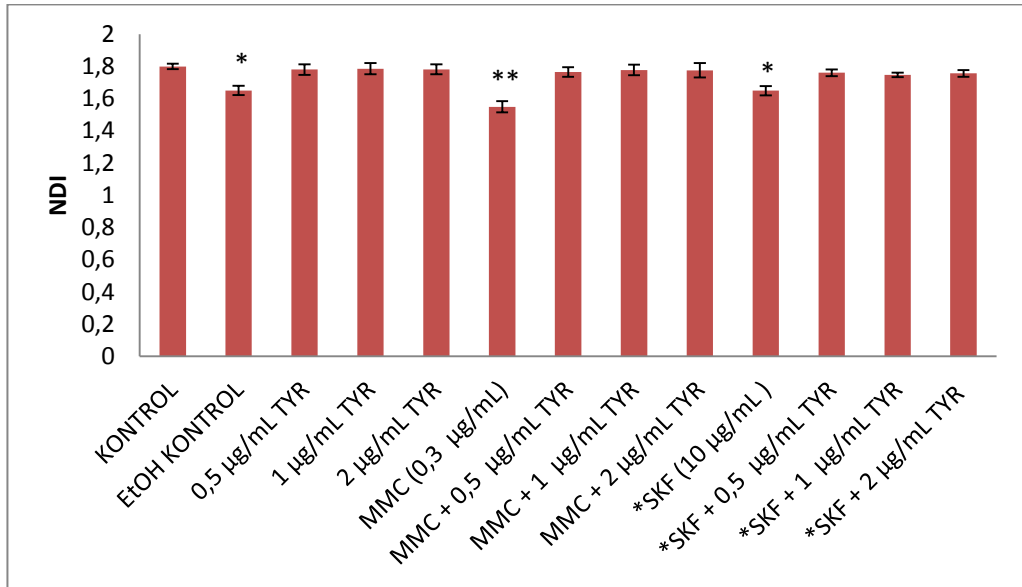
Şekil 4. 28. TYR için *in vitro* MN testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği (X40) A) 1 µg/mL TYR uygulama grubundan elde edilen İNH'ler B) MMC + 2 µg/mL TYR uygulama grubundan elde edilen MN içeren İNH. MN; Mikronükleus İNH; İki nükleuslu Hücre.

Çizelge 4.8. TYR uygulamalarının *in vitro* MN testi sonuçlarının ortalamaları. BNH; Bir Nükleuslu Hücre, İNH; İki Nükleuslu Hücre, ÜNH; Üç Nükleuslu Hücre, DNH; Dört Nükleuslu Hücre, MN; Mikronükleus, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; Siklofosamid, SS; Standart Sapma. ^a: Kendi kontro grubu olan MMC ile karşılaştırılmıştır ^b; kendi kontrol grubu olan *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır. (p≤0,001)

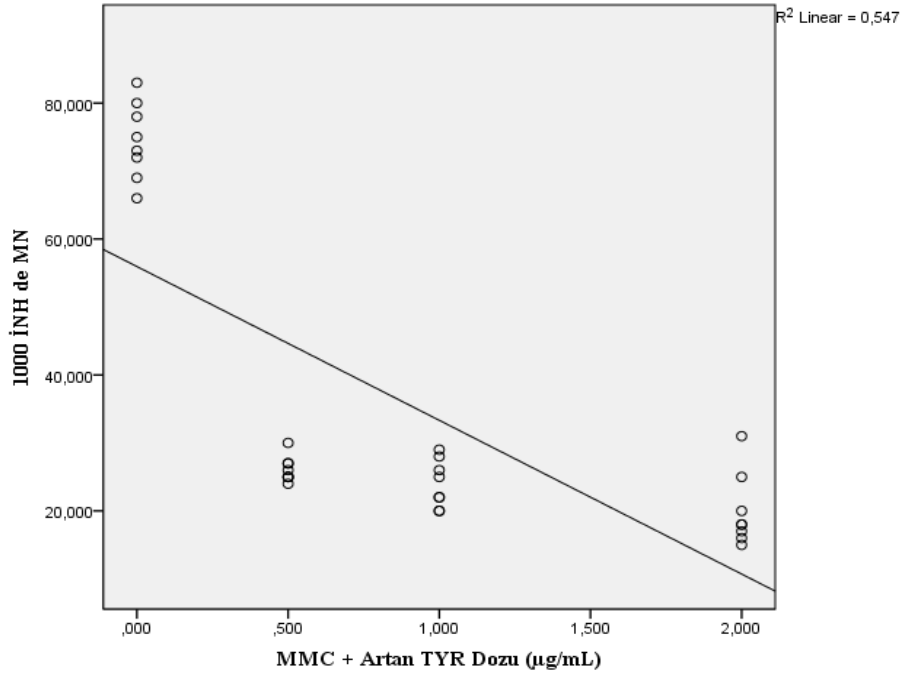
	BNH ± SS	İNH ± SS	ÜNH ± SS	DNH ± SS	1000 İNH'DE MN ± SS	NDI ± SS
KONTROL	905,625 ± 16,851	750,500 ± 30,104	189,625 ± 26,153	156,750 ± 23,674	16,625 ± 2,263	1,798 ± 0,016
EtOH KONTROL	1033,125 ± 42,823	714,500 ± 59,039	172,000 ± 41,648	80,375 ± 10,027	20,125 ± 3,603	1,649 ± 0,029
0,5 µg/mL TYR	930,250 ± 21,691	732,250 ± 21,868	184,375 ± 22,903	153,125 ± 14,095	16,625 ± 4,240	1,780 ± 0,032
1 µg/mL TYR	933,625 ± 17,020	720,375 ± 30,900	188,375 ± 24,436	157,500 ± 21,380	18,375 ± 3,543	1,784 ± 0,035
2 µg/mL TYR	931,750 ± 10,166	724,250 ± 33,057	193,250 ± 31,417	150,750 ± 14,038	17,875 ± 3,720	1,781 ± 0,031
MMC (0,3 µg/mL)	1113,250 ± 27,834	744,250 ± 43,193	74,125 ± 18,848	68,375 ± 23,384	74,500 ± 5,682	1,548 ± 0,034
MMC + 0,5 µg/mL TYR	938,125 ± 12,123	729,250 ± 26,558	198,375 ± 33,165	134,750 ± 14,270	26,125 ± 1,885 ^a	1,764 ± 0,029
MMC + 1 µg/mL TYR	936,000 ± 9,039	717,875 ± 40,115	202,125 ± 41,107	144,000 ± 12,806	24,000 ± 3,505 ^a	1,777 ± 0,032
MMC + 2 µg/mL TYR	937,125 ± 26,952	725,375 ± 16,655	186,000 ± 12,761	150,875 ± 29,589	20,000 ± 5,398 ^a	1,775 ± 0,045
*SKF (10 µg/mL)	1125,125 ± 8,887	581,375 ± 29,403	164,125 ± 16,779	129,375 ± 20,825	63,500 ± 4,407	1,648 ± 0,029
*SKF + 0,5 µg/mL TYR	947,125 ± 17,414	725,625 ± 17,557	186,375 ± 20,797	140,875 ± 14,106	21,500 ± 4,598 ^b	1,760 ± 0,020
*SKF + 1 µg/mL TYR	947,750 ± 14,743	746,625 ± 22,057	168,750 ± 13,593	136,875 ± 10,842	21,375 ± 2,973 ^b	1,747 ± 0,014
*SKF + 2 µg/mL TYR	948,375 ± 23,433	736,375 ± 23,488	170,250 ± 6,649	145,125 ± 14,406	19,750 ± 3,991 ^b	1,756 ± 0,021



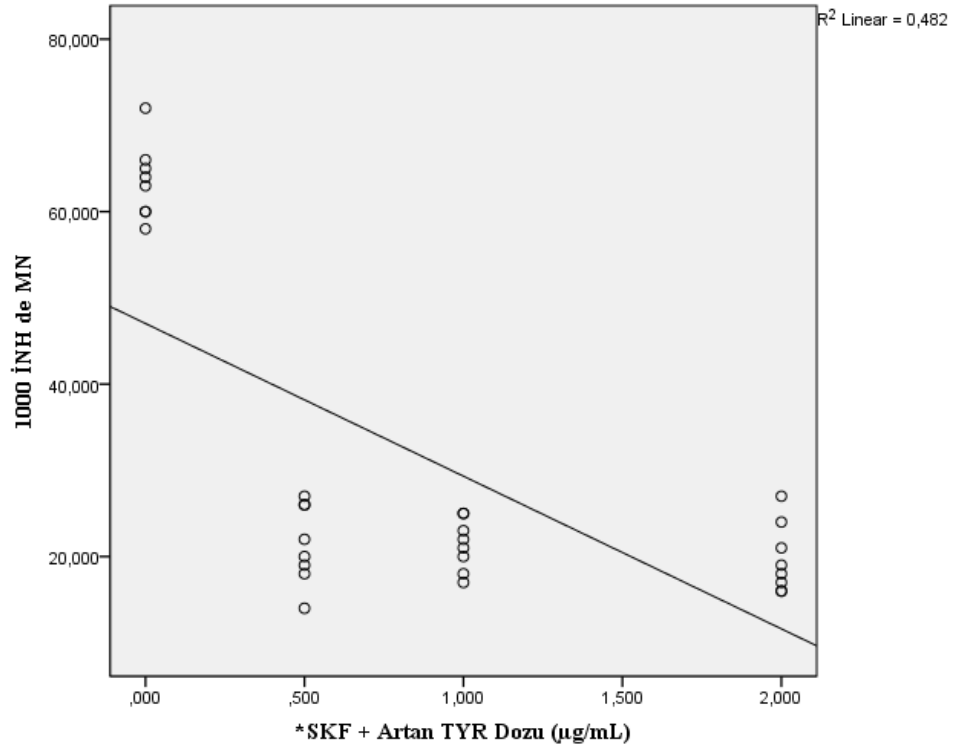
Şekil 4.29. TYR uygulamalarının *in vitro* MN deneyinde 1000 İNH 'de ki MN frekans değerleri. İNH: İki Nükleuslu Hücre, MN: Mikronükleus, EtOH: Etanol, TYR: Tyrosolt, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 Hidroperoksisiklofosfamid, SS: Standart Sapma. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır **: $p \leq 0,001$.



Şekil 4.30. TYR uygulamalarının *in vitro* MN deneyinde NDI değerleri. NDI: Nükleer bölünme indeksi, EtOH: Etanol, TYR: Tyrosol, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 HidroperoksiSiklofosfamid. Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. *: $p \leq 0,05$, **: $p \leq 0,001$.



Şekil 4.31. *In vitro*da MMC tarafından indüklenen 1000 İNH’de MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, İNH; İki Nükleuslu Hücre, MN; Mikronükleus.



Şekil 4.32. *In vitro*’da *SKF tarafından indüklenen 1000 İNH’de MN frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. *SKF; 4 Hidroperoksisiklofosfamid, İNH; İki Nükleuslu Hücre, MN; Mikronükleus.

4.2.3. KAR uygulamaları için *İn vitro* MN testi bulguları

KAR uygulamaları için *İn vitro* MN testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskopik görüntülerden örnekler Şekil 4.33'te gösterilmiştir. *İn vitro* MN testi sonunda elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.9, Şekil 4.34. ve Şekil 4.35 'te gösterilmiştir.

1000 İNH başına düşen MN frekanslarının istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda 1000 İNH başına düşen MN frekansı $16,000 \pm 2,507$ bulunmuştur. Bu değer EtOH grubunda $18,875 \pm 2,031$ şeklindedir. 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR gruplarında ise sırasıyla; $14,875 \pm 1,552$; $15,875 \pm 1,959$; $15,500 \pm 2,449$ şeklindedir. İstatistiki olarak değerlendirildiğinde Kontrol grubu ve EtOH grubu arasında her hangi bir istatistiki fark söz konusu değildir ($p > 0,05$). Aynı şekilde üç farklı KAR grubu ayrı ayrı kontrol grubu ve EtOH grubu ile karşılaştırıldığında da her hangi bir istatistiki fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Üç farklı KAR grubu kendi aralarında karşılaştırılınca da istatistiki olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$).

Yine 1000 İNH de MN frekansı açısından MMC grubunun değeri $72,625 \pm 4,274$, *SKF grubunun değeri ise $64,875 \pm 3,482$ şeklinde bulunmuştur. Bu değerler kontrol ve EtOH grubunun 1000 İNH de MN frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında hem MMC hem de *SKF uygulamalarının MN frekansını istatistiki olarak anlamlı bir düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalarda MMC+ 0,5 µg/mL KAR, MMC + 1 µg/mL KAR ve MMC + 2 µg/mL KAR gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri ise sırasıyla; $26,625 \pm 3,961$; $23,500 \pm 2,449$; $20,250 \pm 3,845$ şeklindedir. Bu üç grubun değerleri ayrı ayrı MMC grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç doz KAR'ın da MMC tarafından artırılmış olan MN frekanslarını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Üç farklı kombin uygulama (MMC+ 0,5 µg/mL KAR, MMC + 1 µg/mL KAR ve MMC+ 2 µg/mL KAR) gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında ise MMC + 0,5 µg/mL KAR grubu ile MMC

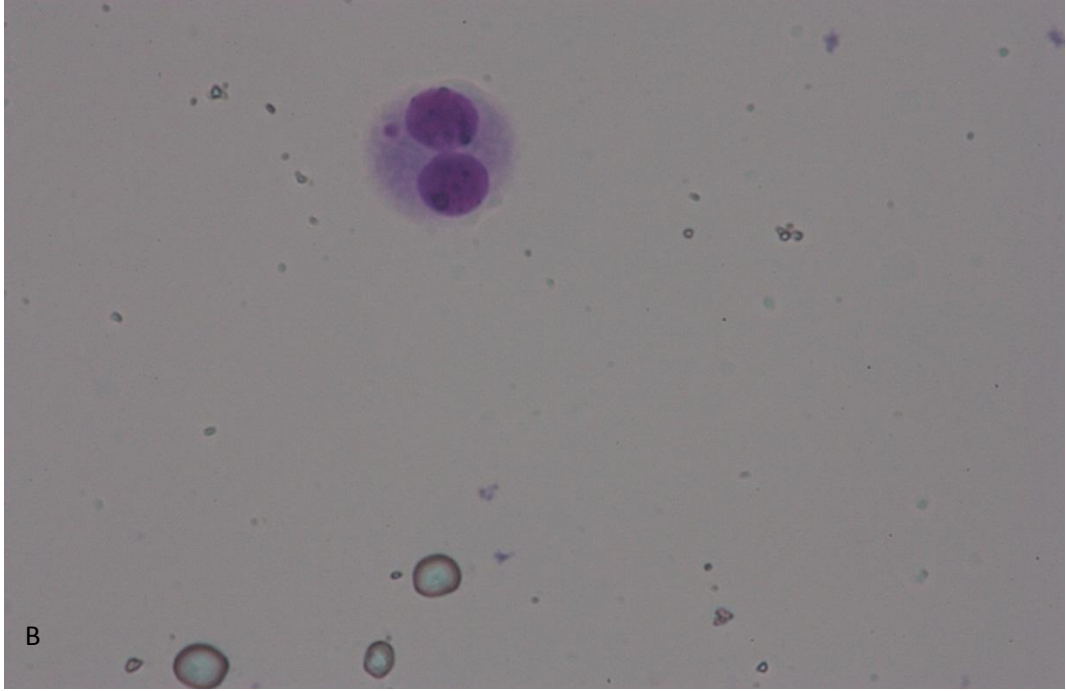
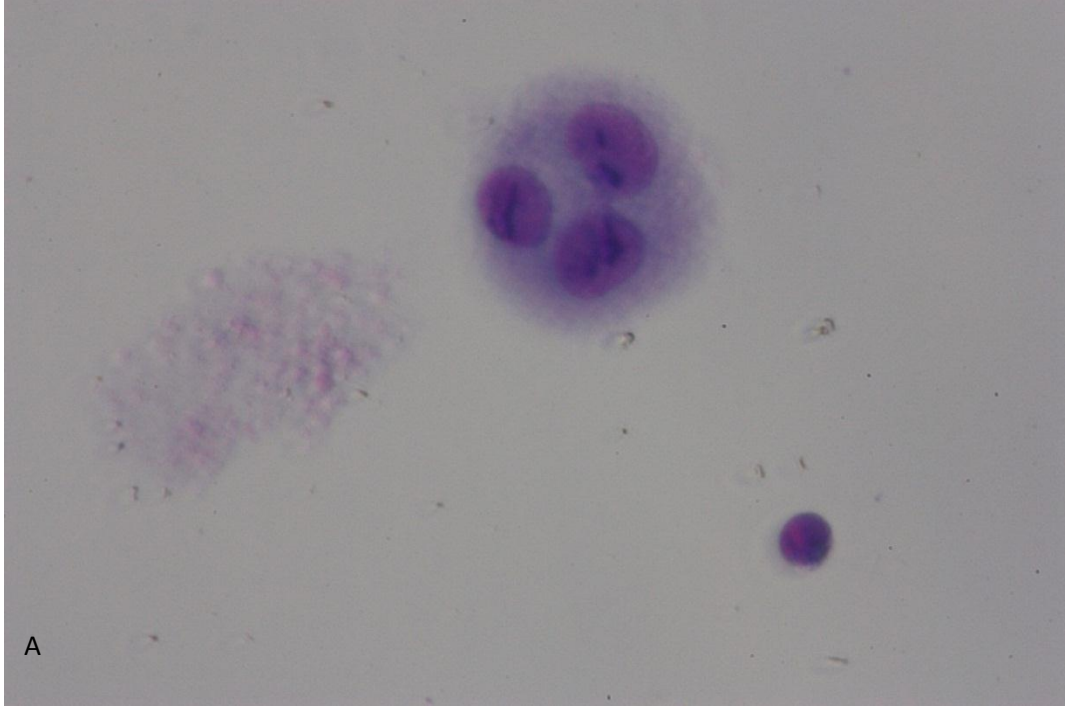
+ 2 µg/mL KAR grubunun istatistiksel olarak birbirlerinden anlamlı düzeyde farklı oldukları belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bunun dışında MMC ile kombinlenmiş üç grubunların arasında herhangi bir istatistiksel farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Aynı kombin grupların 1000 İNH deki MN frekansı değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da sadece MMC + 2 µg/mL KAR uygulama grubunun MN frekans değerleri ile kontrol grubunun MN frekans değerleri arasında bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$). Diğer iki grubun MN frekans değerleri ise kontrol grubunun MN frekans değerlerine oranla istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksektir ($p \leq 0,001$).

Yine kombin uygulamalarda *SKF+ 0,5 µg/mL KAR, *SKF + 1 µg/mL KAR ve *SKF + 2 µg/mL KAR gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri ise sırasıyla; $20,250 \pm 1,388$; $19,125 \pm 1,807$; $18,750 \pm 2,314$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler *SKF uygulanan grubun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç doz KAR'ın da *SKF tarafından arttırılmış MN frekansını istatistiki olarak anlamlı bir düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Üç farklı kombin uygulama (*SKF + 0,5 µg/mL KAR, *SKF + 1 µg/mL KAR ve *SKF + 2 µg/mL KAR) gruplarının 1000 İNH deki MN frekansı değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında herhangi bir istatistiksel farklılık belirlenmemiştir ($p>0,05$). Aynı kombin grupların 1000 İNH deki MN frekansı değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında da istatistiki olarak bir fark belirlenmemiştir ($p>0,05$). Bu nedenle kullandığımız üç farklı KAR dozu *SKF tarafından arttırılmış MN frekansını azaltmış, hatta kontrol düzeyine kadar geriletmiştir.

NDİ frekanslarının istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda NDİ değeri $1,787 \pm 0,011$, EtOH grubunda ise $1,665 \pm 0,025$ olarak belirlenmiştir. 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR, 2 µg/mL KAR uygulama grupları için ortalama NDİ değeri sırasıyla $1,758 \pm 0,017$; $1,756 \pm 0,017$; $1,763 \pm 0,007$ olarak belirlenmiştir. MMC uygulama grubu için ortalama NDİ değeri $1,538 \pm 0,028$ olarak belirlenmiştir. MMC + 0,5, 1, 2 µg/mL KAR uygulamaları için ortalama NDİ değerleri sırasıyla $1,743 \pm 0,012$; $1,752 \pm 0,009$ ve $1,749 \pm 0,017$ olarak belirlenmiştir. *SKF uygulama grubunda ortalama NDİ değeri ise $1,644 \pm 0,031$ olarak belirlenmiştir. *SKF + 0,5, 1, 2 µg/mL KAR uygulamalarının ortalama NDİ değerleri ise sırasıyla $1,739 \pm 0,022$; $1,741 \pm 0,016$ ve $1,743 \pm 0,018$ olarak belirlenmiştir.

İstatistiksel olarak sadece 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR uygulama grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark belirlenmemiştir (p >0,05). Diğer uygulamaların hepsi NDİ ortalama değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürmüştür (p ≤ 0,05).

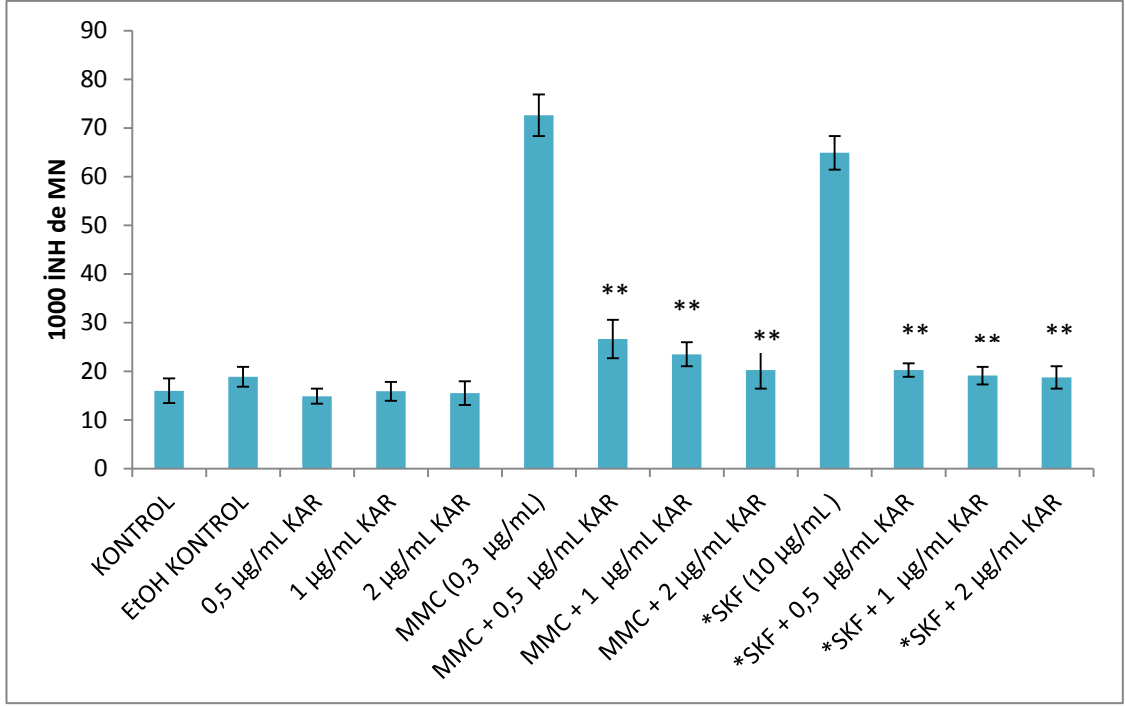
Ayrıca MMC ve *SKF tarafından arttırılan, 1000 İNH'de MN frekansının, MMC ve *SKF + KAR uygulama gruplarında artan KAR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirilmiştir. Regresyon analizi sonunda MMC tarafından arttırılan 1000 İNH'de MN frekansının, artan KAR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($R^2= 0,556$; $p\leq 0,001$). Denklemi; $y= 54,875- 21,857 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.36'da gösterilmiştir. Benzer şekilde regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan 1000 İNH'de MN frekansının da istatistiksel olarak, artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($R^2= 0,485$; $p\leq 0,001$). Denklemi; $y= 47,1- 18,686 * \text{Doz}$ olan regresyon eğrisi Şekil 4.37'de gösterilmiştir.



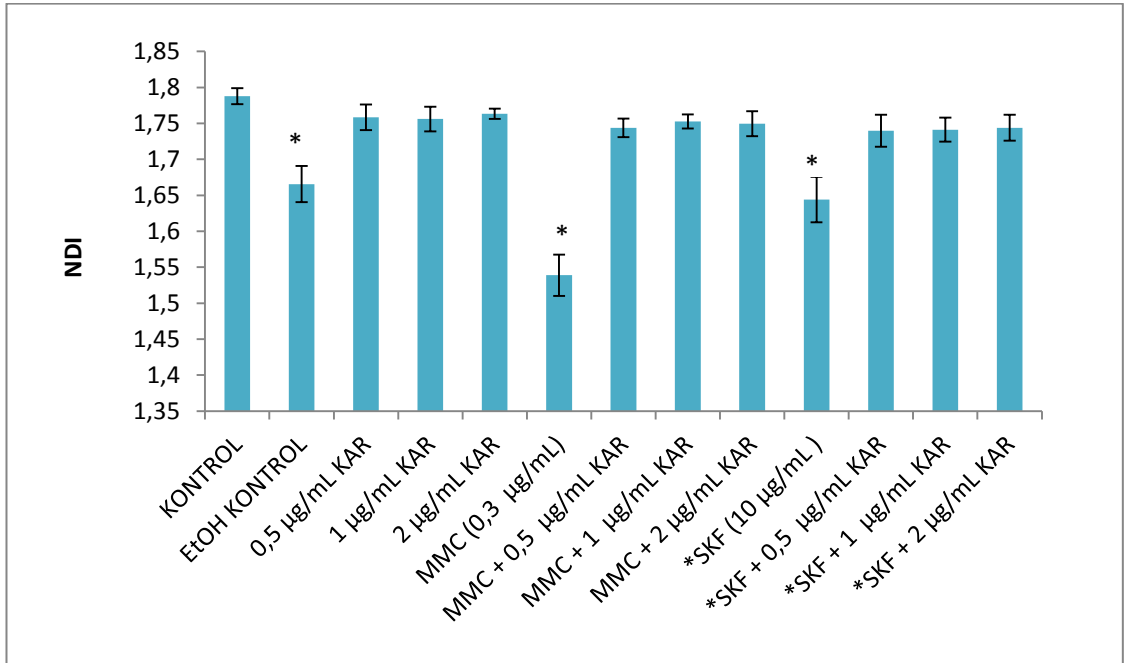
Şekil 4. 33. KAR için *in vitro* MN testi sonunda hazırlanan preperatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği (X40) A) 0,5 µg/mL KAR uygulama grubundan elde edilen ÜNH görüntüsü B) *SKF + 1 µg/mL KAR uygulama grubundan elde edilen MN içeren İNH. KAR; Karnosik asit, MN; Mikronükleus, İNH; İki nükleuslu Hücre, ÜNH; Üç nükleuslu Hücre.

Çizelge 4.9. KAR uygulamaları için *in vitro* MN testi sonuçlarının ortalamaları. BNH; Bir Nükleuslu Hücre, İNH; İki Nükleuslu Hücre, ÜNH; Üç Nükleuslu Hücre, DNH; Dört Nükleuslu Hücre, MN; Mikronükleus, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperekisiklofosamid, SS: Standart Sapma. a; Kendi kontrol grubu olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır, b; Kendi kontrol grubu olan *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır (p≤0,001).

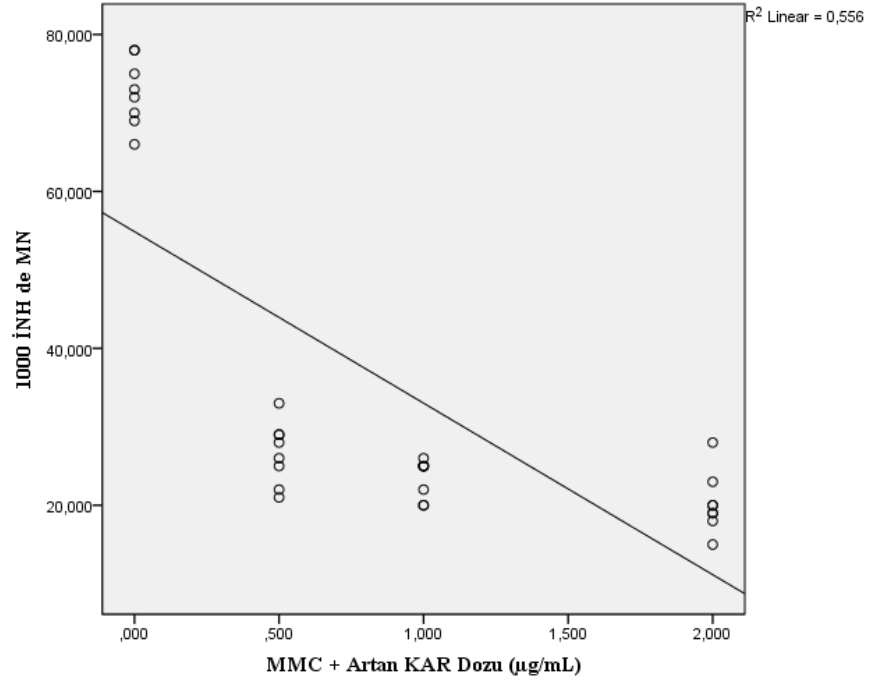
	BNH ± SS	İNH ± SS	ÜNH ± SS	DNH ± SS	1000 İNH'DE MN ± SS	NDI ± SS
KONTROL	908,875 ± 17,947	759,250 ± 19,499	184,875 ± 27,627	149,500 ± 17,460	16,000 ± 2,507	1,787 ± 0,011
EtOH KONTROL	1008,125 ± 12,472	736,625 ± 30,113	171,500 ± 41,286	83,750 ± 8,464	18,875 ± 2,031	1,665 ± 0,025
0,5 µg/mL KAR	943,375 ± 18,360	739,500 ± 11,019	173,875 ± 5,890	143,250 ± 10,819	14,875 ± 1,552	1,758 ± 0,017
1 µg/mL KAR	945,375 ± 8,034	736,875 ± 20,890	178,125 ± 10,868	139,625 ± 19,108	15,875 ± 1,959	1,756 ± 0,017
2 µg/mL KAR	939,875 ± 10,815	737,000 ± 15,061	179,750 ± 14,048	143,250 ± 5,725	15,500 ± 2,449	1,763 ± 0,007
MMC (0,3 µg/mL)	1124,375 ± 37,788	741,250 ± 48,133	66,750 ± 14,260	67,6250 ± 22,487	72,625 ± 4,274	1,538 ± 0,028
MMC + 0,5 µg/mL KAR	947,500 ± 10,419	742,625 ± 5,553	185,125 ± 17,049	124,750 ± 11,695	26,625 ± 3,961 ^a	1,743 ± 0,012
MMC + 1 µg/mL KAR	943,625 ± 3,997	742,250 ± 12,197	179,125 ± 12,483	134,875 ± 9,745	23,500 ± 2,449 ^a	1,752 ± 0,009
MMC + 2 µg/mL KAR	952,000 ± 17,212	732,250 ± 14,973	180,375 ± 8,765	135,375 ± 12,258	20,250 ± 3,845 ^a	1,749 ± 0,017
*SKF (10 µg/mL)	1129,625 ± 9,303	580,000 ± 28,370	163,125 ± 17,626	127,250 ± 21,704	64,875 ± 3,482	1,644 ± 0,031
*SKF + 0,5 µg/mL KAR	958,125 ± 21,087	734,125 ± 12,744	178,000 ± 16,089	129,750 ± 19,270	20,250 ± 1,388 ^b	1,739 ± 0,022
*SKF + 1 µg/mL KAR	958,000 ± 16,457	737,125 ± 9,0780	169,750 ± 8,713	135,250 ± 10,053	19,125 ± 1,807 ^b	1,741 ± 0,016
*SKF + 2 µg/mL KAR	960,500 ± 15,865	729,375 ± 13,211	172,125 ± 5,083	138,000 ± 13,627	18,750 ± 2,314 ^b	1,743 ± 0,018



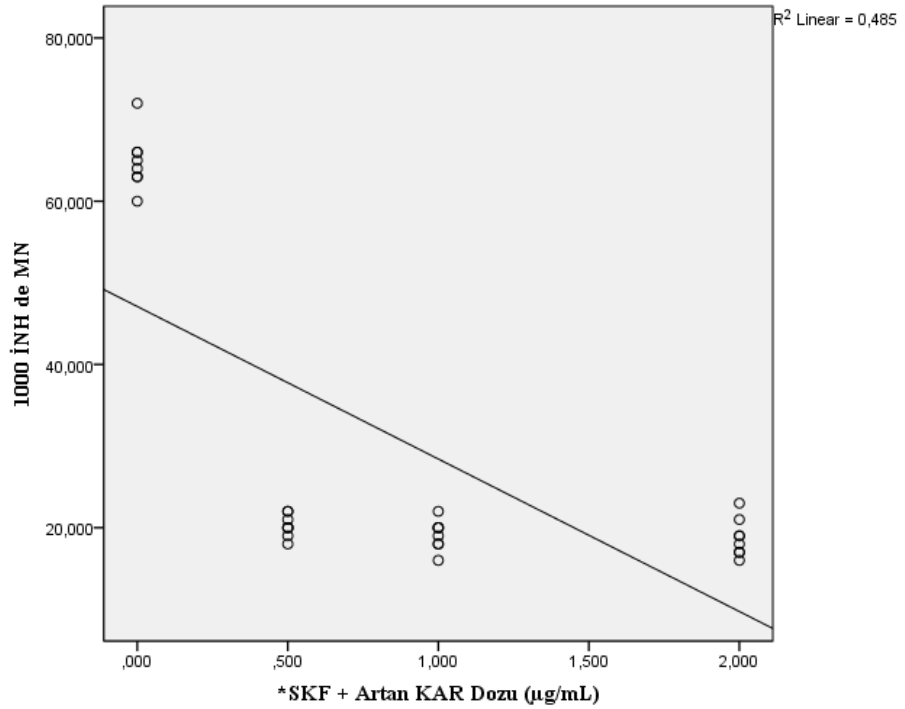
Şekil 4.34. KAR uygulamalarının *in vitro* MN deneyinde 1000 İNH 'de ki MN frekans değerleri. İNH; İki Nükleuslu Hücre, MN; Mikronükleus, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **; $p \leq 0,001$.



Şekil 4.35. KAR uygulamalarının *in vitro* MN deneyinde NDI değerleri. NDI; Nükleer bölünme indeksi, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. *; $p \leq 0,05$.



Şekil 4.36. MMC tarafından indüklenen 1000 İNH’de MN frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, KAR; Karnosik asit, MN; Mikronükleus.



Şekil 4.37. *SKF tarafından indüklenen 1000 İNH’de MN frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, KAR; Karnosik asit, MN; Mikronükleus.

4.2.4. TYR uygulamaları için *İn vitro* CA testi bulguları

TYR uygulamalarının gerçekleştirildiği *in vitro* CA testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntülerden örnekler Şekil 4.38'de gösterilmiştir. TYR uygulamaları için *in vitro* CA testi sonunda elde edilen bulgular Çizelge 4.10' da gösterilmiştir. Toplam Aberasyon (TA) ortalamaları ve Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon (TA-(G+P)) ortalamaları Çizelge 4.11' de bunlara ait grafikler ise Şekil 4.39 ve Şekil 4.40'ta gösterilmiştir.

TYR uygulamaları için gerçekleştirilen CA testinden elde edilen ortalama TA verilerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunun ortalama TA değeri $1,25 \pm 0,707$ olarak belirlenmiştir. Bu değer EtOH grubunda $1,38 \pm 0,916$ olarak belirlenmiştir. $0,5 \mu\text{g/mL}$ TYR, $1 \mu\text{g/mL}$ TYR ve $2 \mu\text{g/mL}$ TYR uygulama gruplarında belirlenen ortalama TA değerleri sırasıyla, $1,50 \pm 0,926$; $1,13 \pm 1,126$ ve $1,00 \pm 0,756$ olarak belirlenmiştir. Her üç grup da istatistiksel olarak kontrol grubu ile karşılaştırıldığında anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$).

MMC grubu için ortalama TA değeri $16,25 \pm 1,488$ olarak, *SKF grubu için ise $14,50 \pm 1,309$ olarak belirlenmiştir. Her iki uygulama grubunun da TA değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, her iki uygulamanın da TA değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$ TYR, MMC + $1 \mu\text{g/mL}$ TYR ve MMC + $2 \mu\text{g/mL}$ TYR uygulamaları için ortalama TA değerleri sırasıyla, $7,50 \pm 0,926$; $7,00 \pm 1,414$ ve $4,50 \pm 0,926$ olarak belirlenmiştir. Her üç uygulama grubunun TA değerleri MMC uygulama grubunun TA değerleri ile karşılaştırıldığında, üç TYR dozunun da MMC tarafından arttırılmış TA değerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde azaltmıştır ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte, bu üç uygulama grubunun TA değerlerinin, kontrol grubunun TA değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Üç, kombin uygulama grubu birbirleri ile karşılaştırıldığında ise sadece MMC + 2

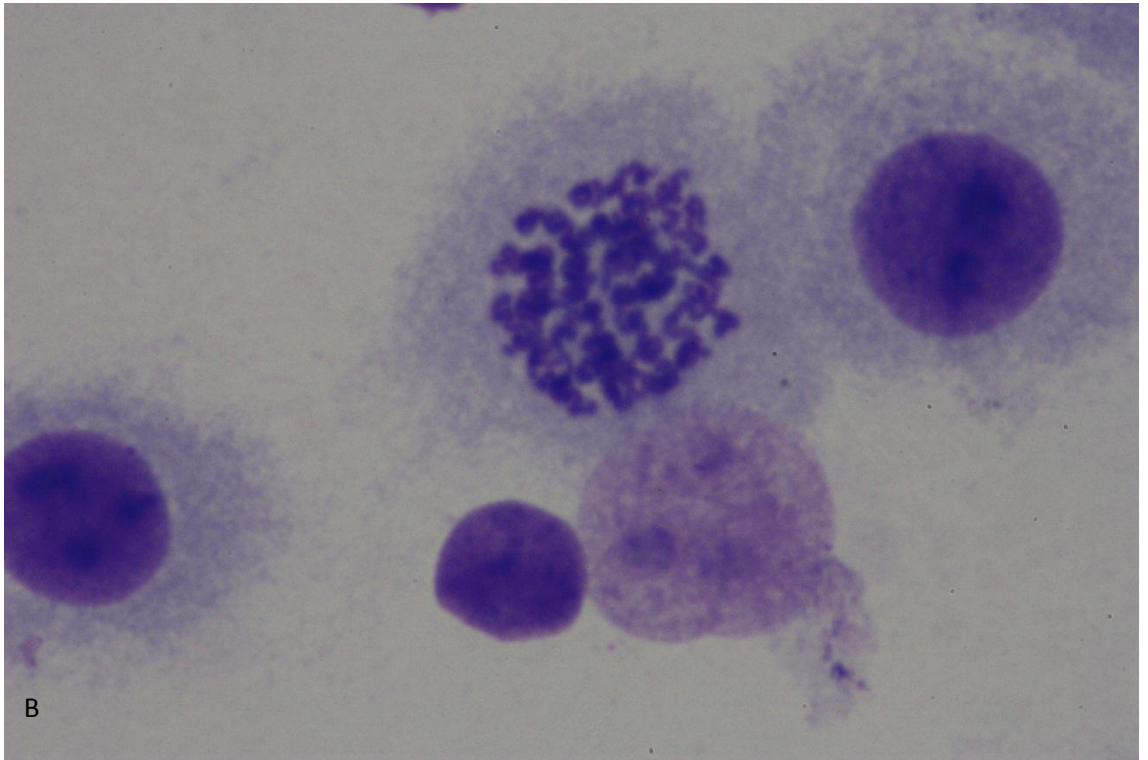
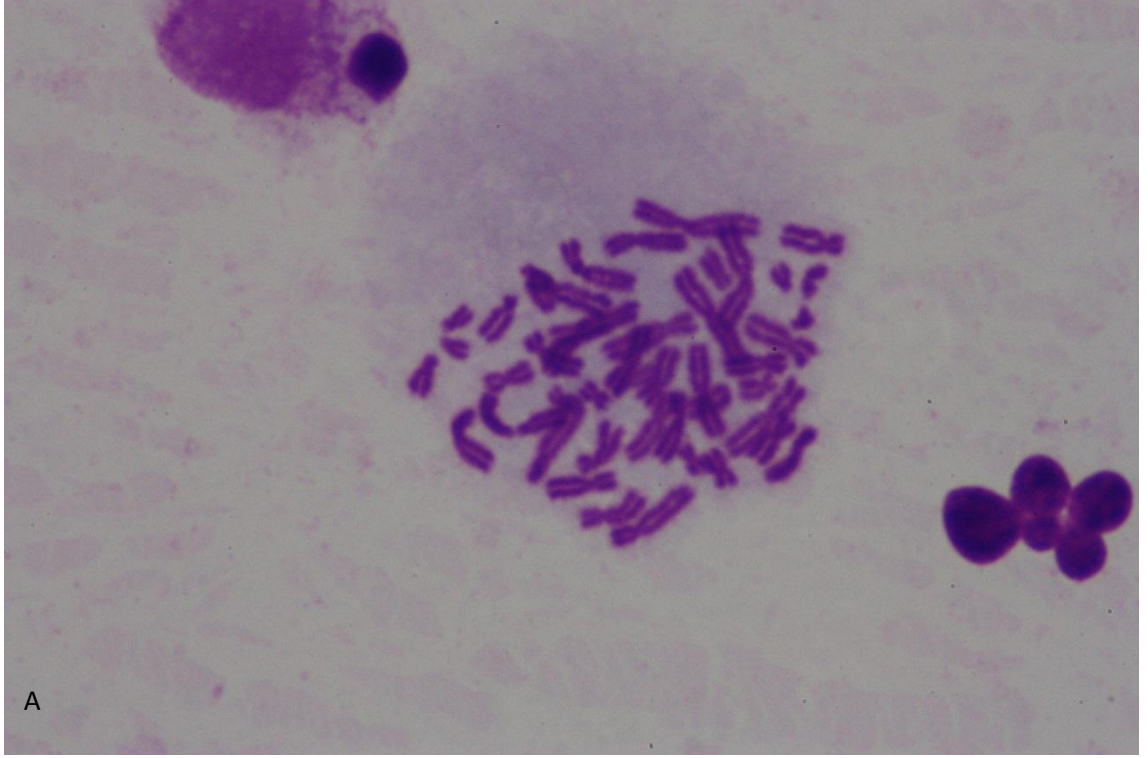
$\mu\text{g/mL}$ TYR grubunun TA deęerinin, dięer iki uygulama grubunun TA deęerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde dūřuk olduęu belirlendi ($p \leq 0,001$).

*SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, *SKF + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve *SKF + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulamaları için ortalama TA değerleri ise sırasıyla, $7,75 \pm 0,886$; $5,50 \pm 0,926$ ve $2,88 \pm 1,126$ olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde her u TYR dozu da *SKF tarafından arttırılmış olan TA değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte, bu u uygulama grubunun TA değerlerinin, kontrol grubunun TA değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yūksək olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,005$). U, kombin uygulama grubu birbirleri ile karşılaştırıldığında ise uünün de istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$).

TYR uygulamaları için gerçekleştirilen CA testinden elde edilen ortalama TA-(G+P) verilerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol, EtOH, 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama gruplarında TA-(G+P) değerleri $0,00 \pm 0,000$ olarak belirlenmiştir. 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grubunda ise $0,13 \pm 0,354$ olarak belirlenmiştir. MMC ve *SKF uygulama gruplarında ise TA-(G+P) değerleri sırasıyla $7,50 \pm 0,926$ ve $7,50 \pm 0,756$ olarak belirlenmiştir.

MMC + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama gruplarında TA-(G+P) değerleri sırasıyla $3,13 \pm 0,835$; $2,75 \pm 0,886$ ve $1,75 \pm 0,707$ bu değerler MMC grubunun TA-(G+P) değerleri ile karşılaştırıldığında. Her u TYR uygulamasının da MMC tarafından arttırılmış TA-(G+P) değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise u grubun da birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama gruplarında TA-(G+P) değerleri sırasıyla $4,00 \pm 0,926$; $2,50 \pm 0,756$ ve $1,25 \pm 0,886$ olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde Her u TYR uygulamasının da *SKF tarafından arttırılmış TA-(G+P) değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Ayrıca *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama gruplarından sadece *SKF

+ 2 µg/mL TYR uygulama grubunun TA-(G+P) değerinin, *SKF + 0,5 µg/mL TYR uygulama grubunun TA-(G+P) değerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$).



Şekil 4.38. TYR için *in vitro* CA testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskobik görüntü örneği (X100) A) 2µg/mL TYR preparatından elde edilmiş bir normal metafaz görüntüsü B) MMC + 1 µg/mL TYR preparatından elde edilmiş bir pulverize metafaz görüntüsü.

Çizelge 4.10. TYR uygulamalarının *In vitro* CA testinin bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	D	T	Metafa z Sayısı	Kr. Kırık	İzoKr. Çap	İzoKr. Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromoz	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon - (G+P)
Kontrol	1	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	4	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	7	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	8	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
Ortalama	50	0,750 (0,015)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,25 (0,025)	0(0)
EtOH Kontrol	1	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	3	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	4	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
Ortalama	50	0,875 (0,017)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,375 (0,027)	0(0)
	1	50	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	2	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	4	50	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
0,5 µg/ mL TYR	6	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	7	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	8	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	Ortalama	50	0,75 (0,015)	0(0)	0,75 (0,015)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,5 (0,03)	0(0)

Çizelge 4.10 . Devamı. TYR uygulamalarının *In vitro* CA testinin bulguları D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; Siklofosamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	D	T	Metafa Z Sayısı	Kr. Gap	Kr. Kırık	İzo Kr. Gap	İzo Kr. Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon (G+P)
1 µg/ mL TYR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	1(0,02)
	2	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	4	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	5	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	6	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	7	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	8	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Ortalama	50	0,5 (0,01)	0,125 (0,002)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,125 (0,022)	0,125 (0,002)
2 µg/ mL TYR	1	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	4	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
Ortalama	50	0,5 (0,01)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
MMC 0,3 µg/ mL	1	50	5(0,1)	4(0,08)	4(0,08)	1(0,02)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	16(0,32)	7(0,14)
	2	50	5(0,1)	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	15(0,3)	7(0,14)
	3	50	5(0,1)	5(0,1)	5(0,1)	4(0,08)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	19(0,38)	9(0,18)
	4	50	6(0,12)	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	16(0,32)	7(0,14)
	5	50	5(0,1)	4(0,08)	4(0,08)	2(0,04)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	16(0,32)	7(0,14)
	6	50	4(0,08)	4(0,08)	4(0,08)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	18(0,36)	9(0,18)
	7	50	6(0,12)	4(0,08)	4(0,08)	2(0,04)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	15(0,3)	7(0,14)
	8	50	4(0,08)	2(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	15(0,3)	7(0,14)
Ortalama	50	5 (0,1)	3,625 (0,072)	3,25 (0,065)	2,125 (0,042)	0,5 (0,01)	0,625 (0,012)	0,5 (0,01)	0,125 (0,002)	0,5 (0,01)	0,5 (0,01)	0,5 (0,01)	16,25 (0,325)	7,5 (0,15)

Çizelge 4.10. Devamı. TYR uygulamalarının *In vitro* CA testinin bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	D	T	Meta faz	Kr. Gap	Kr. Kırk	İzo Kr. Gap	İzo Kr. Kırk	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromoz	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon – (G+P)
MMC+ 0,5 µg/ mL TYR	1	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	2(0,04)
	2	50	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
	3	50	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	2(0,04)
	4	50	3(0,06)	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	4(0,08)
	5	50	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	4(0,08)
	6	50	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	4(0,08)
	7	50	3(0,06)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	3(0,06)
	8	50	3(0,06)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
Ortalama	50	2,75 (0,055)	1,875 (0,037)	1,5 (0,03)	1,125 (0,022)	0,125 (0,002)	0,125 (0,002)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7,5 (0,15)	3,125 (0,062)
MMC+ 1 µg/ mL TYR	1	50	2(0,04)	2(0,04)	4(0,08)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	2(0,04)
	2	50	2(0,04)	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	4(0,08)
	3	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	2(0,04)
	4	50	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	2(0,04)
	5	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
	6	50	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	5(0,1)	2(0,04)
	5	50	3(0,06)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
	6	50	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	4(0,08)
Ortalama	50	2,5 (0,03)	1,75 (0,02)	1,500 (0,025)	0,875 (0,015)	0,25 (0,002)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0,125 (0,002)	7(0,14)	2,750 (0,035)
MMC + 2 µg/ mL TYR	1	50	0(0)	1(0,02)	3(0,06)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	2	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	3	50	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	2(0,04)
	4	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	5	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	1(0,02)
	7	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	8	50	2(0,04)	22(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	3(0,06)
Ortalama	50	1,5 (0,03)	1 (0,02)	1,25 (0,025)	0,75 (0,015)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4,5 (0,09)	1,75 (0,035)

Çizelge 4.10. Devamı. TYR uygulamalarının *In vitro* CA testinin bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

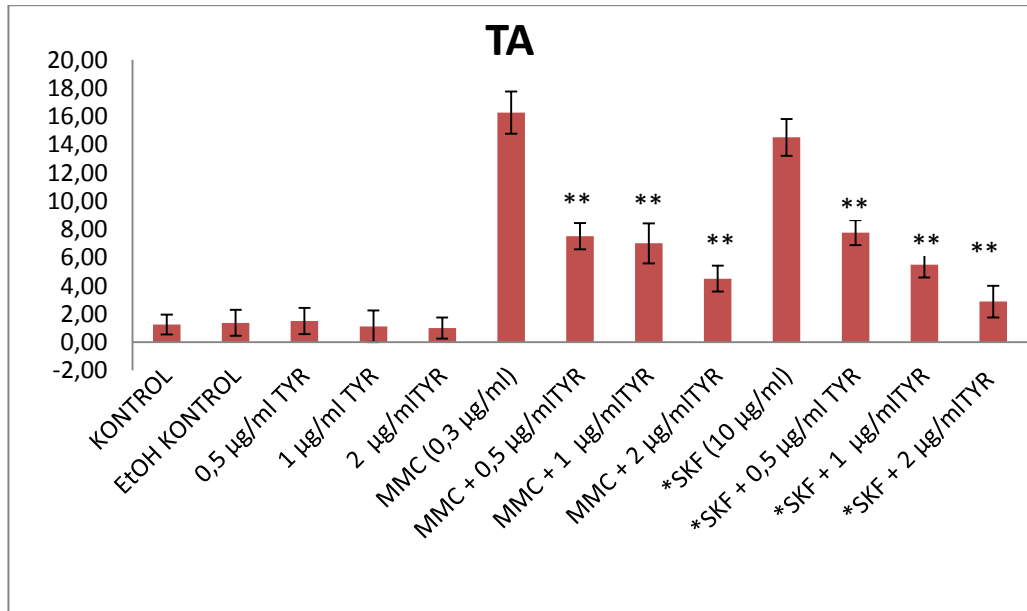
Gruplar	D	T	Metafa Z Sayısı	Kr.Gap	Kr.Kırk	İzoKr. Gap	İzo Kr. Kırk	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromoz	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon – (G+P)
*SKF + 10 µg/ mL	1	50	4(0,08)	3(0,06)	3(0,06)	3(0,06)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	15(0,3)	8(0,16)
	2	50	5(0,1)	4(0,08)	1(0,02)	4(0,08)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	16(0,32)	9(0,18)
	3	50	4(0,08)	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	14(0,28)	8(0,16)
	4	50	4(0,08)	3(0,06)	3(0,06)	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	15(0,3)	7(0,14)
	5	50	5(0,1)	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	14(0,28)	7(0,14)
	6	50	4(0,08)	4(0,08)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	12(0,24)	7(0,14)
	7	50	6(0,12)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	16(0,32)	7(0,14)
	8	50	4(0,08)	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	14(0,28)	7(0,14)
Ortalama	50		4,5 (0,09)	3,125 (0,062)	2,125 (0,042)	2,375 (0,047)	0,375 (0,007)	0,75 (0,015)	0,25 (0,005)	0,625 (0,0125)	0,375 (0,007)	14,5 (0,29)	7,5 (0,15)	
*SKF + 0,5 µg/ mL TYR	1	50	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	7(0,14)	4(0,08)
	2	50	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	7(0,14)	4(0,08)
	3	50	0(0)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	8(0,16)	6(0,12)
	4	50	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
	5	50	4(0,08)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	3(0,06)
	6	50	4(0,08)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	9(0,18)	4(0,08)
	7	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	0	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	9(0,18)	4(0,08)
	8	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	7(0,14)	4(0,08)
Ortalama	50		2,625 (0,052)	1,75 (0,035)	1 (0,02)	0,875 (0,017)	0,125 (0,002)	0,5 (0,01)	0(0)	0,5 (0,01)	0,375 (0,007)	7,75 (0,155)	4 (0,08)	
*SKF + 1 µg/ mL TYR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	5(0,1)	3(0,06)
	2	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	3(0,06)
	3	50	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	5(0,1)	3(0,06)
	4	50	3(0,06)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	5	50	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	6	50	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	6(0,12)	3(0,06)
	7	50	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	1(0,02)	6(0,12)	3(0,06)
	8	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	7(0,14)	2(0,04)
Ortalama	50		2,5 (0,05)	0,875 (0,017)	0,5 (0,01)	0,5 (0,01)	0(0)	0,25 (0,005)	0(0)	0,5 (0,01)	0,375 (0,007)	5,5 (0,11)	2,5 (0,05)	

Çizelge 4.10. Devamı. TYR uygulamalarının *In vitro* CA testinin bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Parantez içerisinde Hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

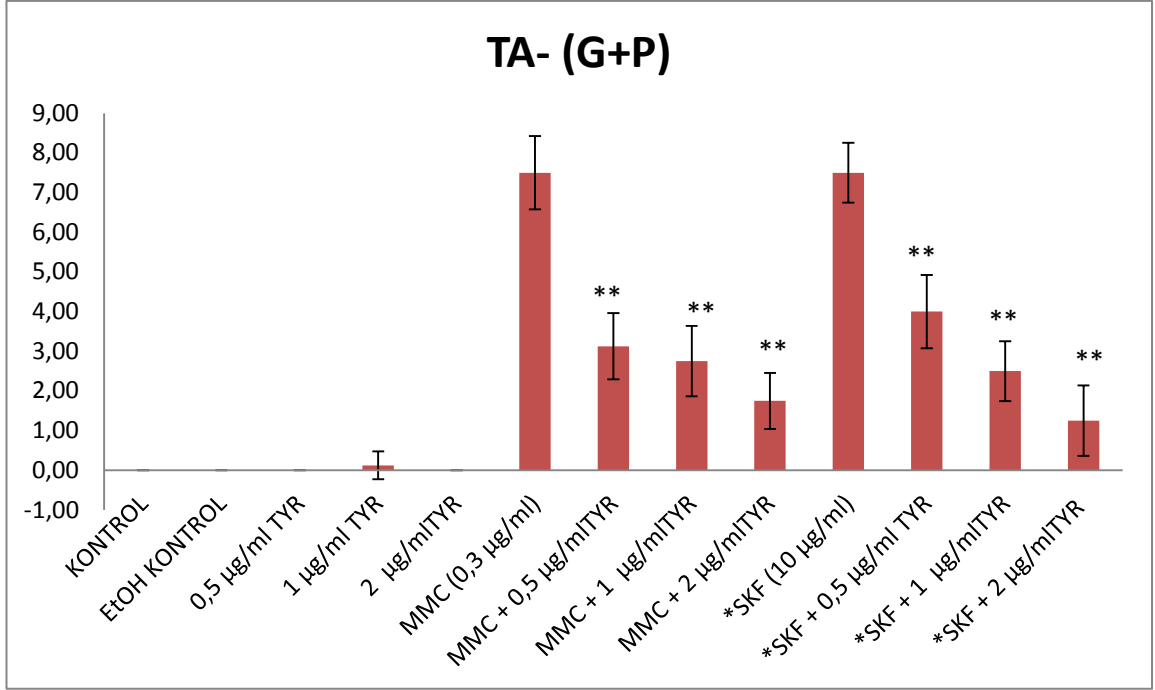
Gruplar	D	T	Meta faz	Kr. Gap	Kr. Kırk	İzoKr. Gap	İzoKr. Kırk	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromoz	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	TA- (G+P)
*SKF + 2 µg/ mL TYR	1	50	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	1(0,02)
	2	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	3	50	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	2(0,04)
	4	50	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	2(0,04)
	5	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	3(0,06)	2(0,04)
	6	50	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	2(0,04)
	7	50	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	8	50	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)
Ortalama	50		1,375 (0,027)	0,625 (0,012)	0,25 (0,005)	0,25 (0,005)	0,25 (0,005)	0(0)	0,125 (0,022)	0,125 (0,022)	0,125 (0,022)	0(0)	2,875 (0,057)	1,25 (0,022)

Çizelge 4.11. TYR uygulamalarının *in vitro* CA testi ortalamaları. TA; Toplam Aberasyon TA-(G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, SS; Standart Sapma, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. ^a; Kendi kontrolü olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır, ^b; Kendi kontrolü olan *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır, ($p \leq 0,001$).

	ORTALAMA \pm SS	
	TA \pm SS	TA - (G+P) \pm SS
KONTROL	1,25 \pm 0,707	0,00 \pm 0,000
EtOH KONTROL	1,38 \pm 0,916	0,00 \pm 0,000
0,5 μg/mL TYR	1,50 \pm 0,926	0,00 \pm 0,000
1 μg/ mL TYR	1,13 \pm 1,126	0,13 \pm 0,354
2 μg/ mL TYR	1,00 \pm 0,756	0,00 \pm 0,000
MMC (0,3 μg/ mL)	16,25 \pm 1,488	7,50 \pm 0,926
MMC + 0,5 μg/ mL TYR	7,50 \pm 0,926 ^a	3,13 \pm 0,835 ^a
MMC + 1 μg/ mL TYR	7,00 \pm 1,414 ^a	2,75 \pm 0,886 ^a
MMC + 2 μg/ mL TYR	4,50 \pm 0,926 ^a	1,75 \pm 0,707 ^a
*SKF (10 μg/ mL)	14,50 \pm 1,309	7,50 \pm 0,756
*SKF + 0,5 μg/ mL TYR	7,75 \pm 0,886 ^b	4,00 \pm 0,926 ^b
*SKF + 1 μg/ mL TYR	5,50 \pm 0,926 ^b	2,50 \pm 0,756 ^b
*SKF + 2 μg/ mL TYR	2,88 \pm 1,126 ^b	1,25 \pm 0,886 ^b

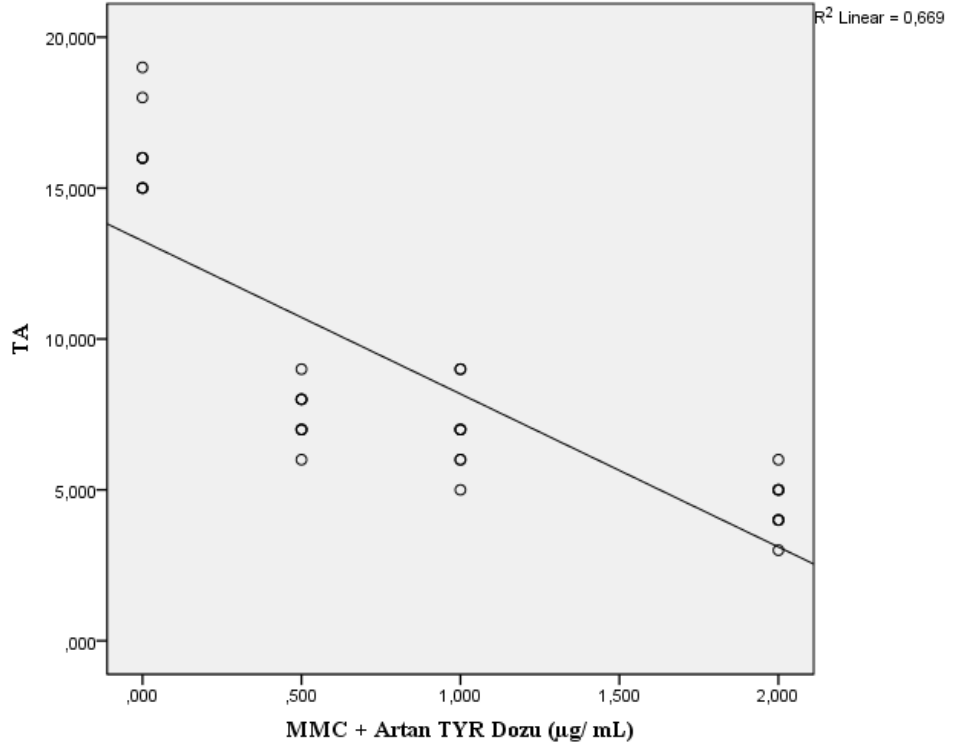


Şekil 4.39. TYR için *in vitro* CA Deneylerinden elde edilen ortalama TA değerleri. TA; Toplam Aberasyon, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

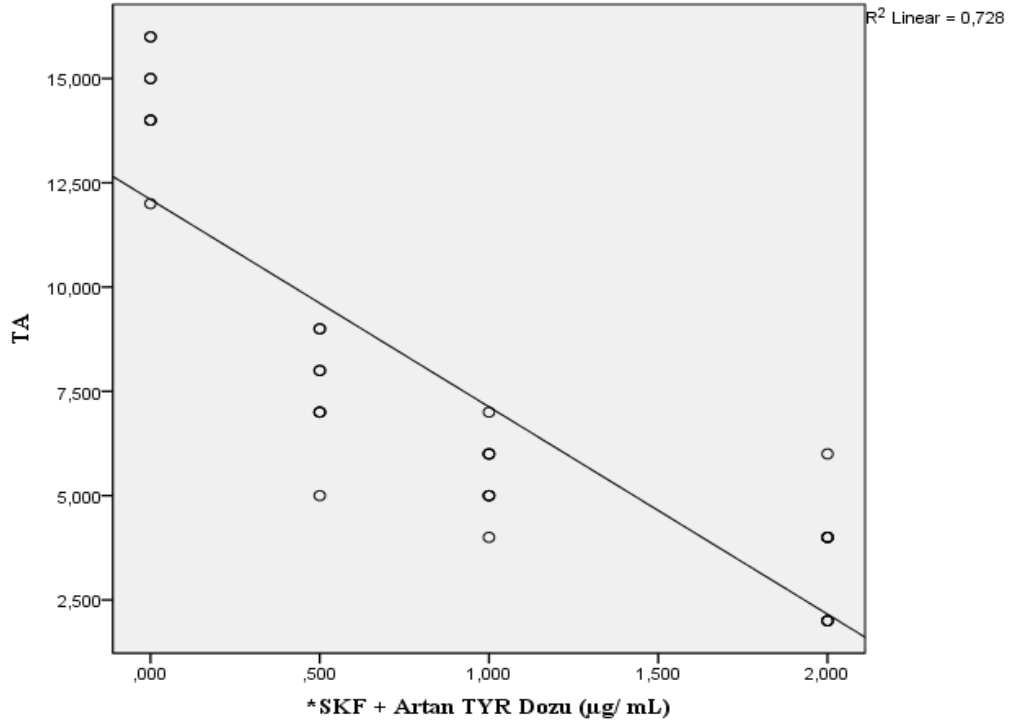


Şekil 4.40. TYR için *in vitro* CA Deneylerinden elde edilen ortalama TA- (G+P) değerleri. TA- (G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **; $p \leq 0,001$.

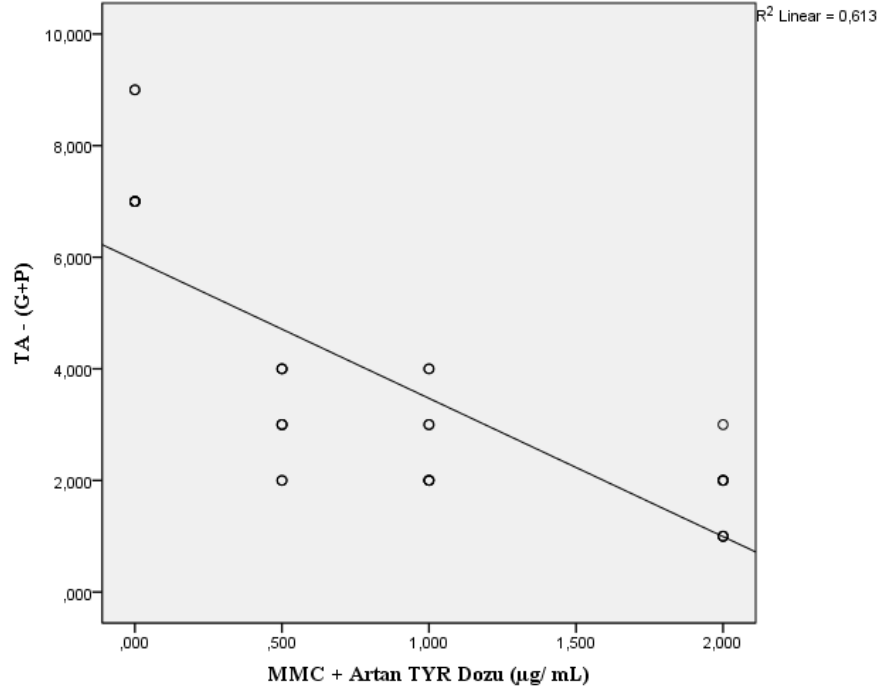
Ayrıca MMC ve *SKF tarafından indüklenen TA frekansının TYR tarafından indirgenmesinde artan TYR dozlarının etkisi regresyon analizi ile incelenmiştir. Sonuç olarak MMC ve *SKF tarafından indüklenen TA frekansının artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + TYR dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.41’de gösterilmiştir bu eğrinin denklemi ise $y = 13,25 - 5,071 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,669$) şeklinde belirlenmiştir. *SKF + TYR dozları için elde edilen regresyon eğrisi ise Şekil 4.42’de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise $y = 12,1 - 4,971 * \text{Doz}$ şeklinde belirlenmiştir ($R^2 = 0,728$; $p \leq 0,001$). Aynı zamanda, MMC ve *SKF tarafından indüklenmiş olan TA - (G+P) frekansının da artan TYR dozu ile azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC tarafından indüklenen TA - (G+P) frekansına, artan TYR dozlarının etkisi Şekil 4.43’te verilmiştir, bu eğrinin denklemi $y = 5,95 - 2,479 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,613$) olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde *SKF tarafından indüklenen TA - (G+P) frekansı da artan TYR dozuna bağlı olarak azalmaktadır. Denklemi $y = 4,375 - 1,607 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,722$) olan regresyon eğrisinin grafiği ise Şekil 4.44’te verilmiştir.



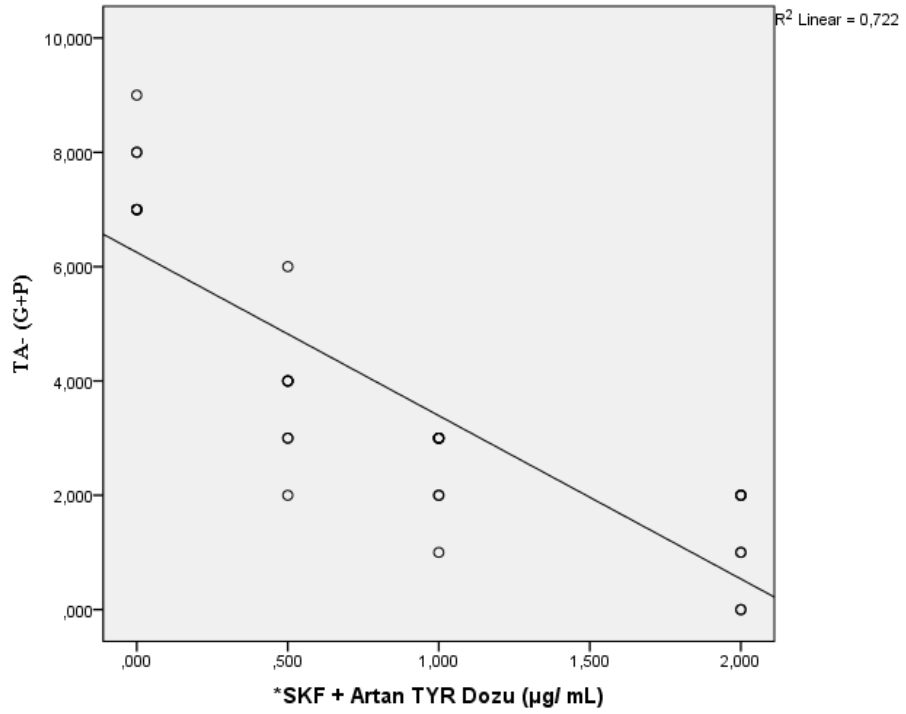
Şekil 4.41. MMC tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. TA; Toplam Aberasyon, TYR; Tyrosol.



Şekil 4.42. *SKF tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. TA; Toplam Aberasyon, TYR; Tyrosol, *SKF; 4 Hidroperoksisiklofosamid.



Şekil 4.43. MMC tarafından indüklenen T –(G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. TA – (G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon, TYR; Tyrosol.

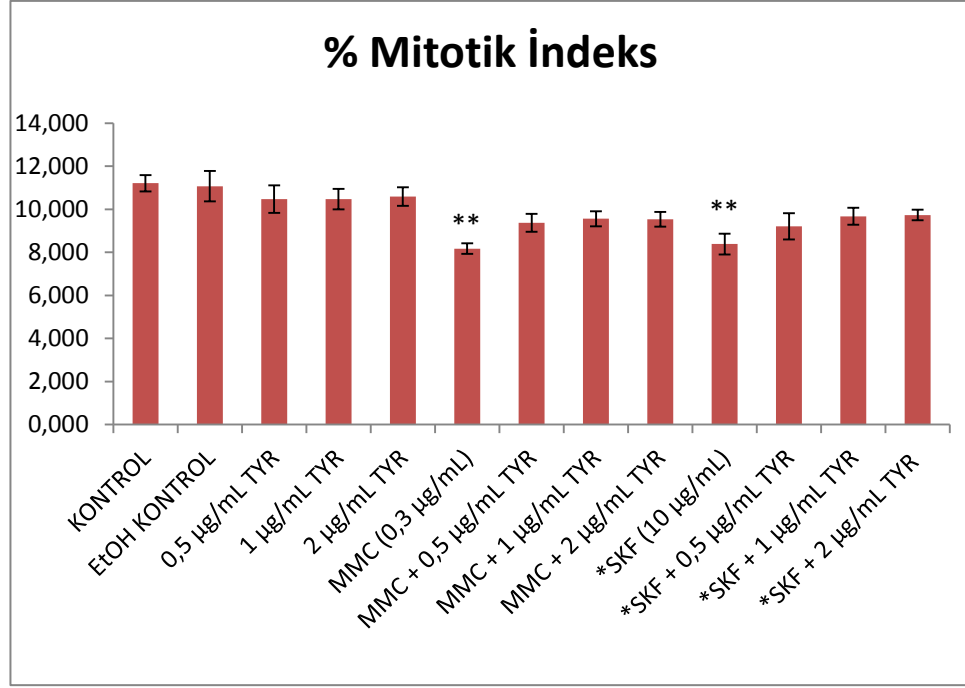


Şekil 4.44. *SKF tarafından indüklenen TA – (G+P) frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. TA – (G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon, TYR; Tyrosol, *SKF; 4 Hidroperoksisiklofosfamid.

Bunların dışında *in vitro* CA testinde değerlendirilen bir diğer parametre ise % Mİ değeridir. TYR uygulamaları için *in vitro* CA testinden elde edilen % Mİ değerleri Çizelge 4.12 ve Şekil 4.45'te verilmiştir. TYR uygulamaları için *in vitro* CA testinden elde edilen % Mİ değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri ile gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunun %Mİ değeri, $11,213 \pm 0,376$ olarak belirlenirken EtOH grubunun %Mİ değeri ise $11,075 \pm 0,705$ olarak belirlenmiştir. 0,5 µg/mL TYR, 1 µg/mL TYR ve 2 µg/mL TYR uygulamalarının %Mİ değerleri ise sırasıyla; $10,475 \pm 0,636$; $10,475 \pm 0,480$ ve $10,588 \pm 0,432$ olarak belirlenmiştir. Üç farklı doz TYR uygulamasının %Mİ değerleri ile kontrol grubunun %Mİ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). %Mİ değeri $8,175 \pm 0,249$ olan MMC uygulaması ve %Mİ değeri $8,388 \pm 0,488$ olan *SKF uygulaması, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında %Mİ değerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + 0,5 µg/mL TYR, MMC + 1 µg/mL TYR ve MMC + 2 µg/mL TYR uygulamalarının %Mİ değerleri sırasıyla, $9,375 \pm 0,417$; $9,563 \pm 0,350$ ve $9,538 \pm 0,342$ olarak belirlenmiştir. MMC uygulamasıyla düşmüş olan %Mİ değerinin her üç TYR dozu tarafından da istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yükseltildiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). *SKF + 0,5 µg/mL TYR, *SKF + 1 µg/mL TYR ve *SKF + 2 µg/mL TYR uygulamalarının %Mİ değerleri sırasıyla, $9,213 \pm 0,613$; $9,675 \pm 0,396$ ve $9,738 \pm 0,250$ olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde üç TYR dozunun da, *SKF tarafından düşürülmüş olan %Mİ değerlerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükseltildiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Çizelge 4.12. TYR uygulamalarının *In vitro* CA testi % Mİ değerleri. Mİ: Mitotik İndeks, EtOH: Etanol, TYR: Tyrosol, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosfamid, SS: Standart Sapma. ^a; Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır, ^b; MMC grubu ile karşılaştırılmıştır, ^c; *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,001).

	1.Dönör		2. Donör		3.Dönör		4.Dönör		Ortalama ± SS	
	1.T.	2. T.	1.T.	2. T.	1.T.	2. T.	1.T.	2. T.		
KONTROL	11,2	11,5	11,7	11	11,2	11,6	11,2	10,9	10,6	11,213 ±0,376
EtOH KONTROL	11,5	11,7	11	11,2	11,7	11,5	11,7	10	10	11,075 ±0,705
0,5 µg/mL TYR	11	9,9	10	10,3	11,5	9,8	11,5	11,1	10,2	10,475 ±0,636
1 µg/ mL TYR	10	10,5	9,8	11	10,2	11,0	10,2	10,3	11	10,475 ±0,480
2 µg/ mL TYR	11	10	11	10	10,8	10,9	10,8	10,5	10,4	10,588 ±0,432
MMC (0,3 µg/ mL)	8	8,5	8,2	8,3	7,8	8,1	7,8	8,5	8	8,175 ±0,249 ^a
MMC + 0,5 µg/ mL TYR	8,8	9	9,2	10	9,1	9,6	9,1	9,8	9,5	9,375 ±0,417 ^b
MMC + 1 µg/ mL TYR	9,1	9,2	9,3	9,8	10	9,6	10	9,5	10	9,563 ±0,350 ^b
MMC + 2 µg/ mL TYR	9,9	9,3	9,9	8,9	9,8	9,5	9,8	9,6	9,4	9,538 ±0,342 ^b
*SKF (10 µg/ mL)	8,1	9,2	8	8,8	8,7	8,5	8,7	8,0	7,8	8,388 ±0,488 ^a
*SKF + 0,5 µg/ mL TYR	9,3	10	8,5	9,6	8,5	8,8	8,5	9,0	10	9,213 ±0,613 ^c
*SKF + 1 µg/ mL TYR	9,9	9,5	9,6	9,8	9,8	10	9,8	8,8	10	9,675 ±0,396 ^c
*SKF + 2 µg/ mL TYR	9,3	9,8	10	9,6	9,9	9,5	9,9	10	9,8	9,738 ±0,250 ^c



Şekil 4. 45. TYR için *in vitro* CA Deneylelerinden elde edilen ortalama %Mİ değerleri. EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, SS; Standart Sapma, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

4.2.5. KAR uygulamaları için *In vitro* CA deneyi bulguları

KAR uygulamalarının gerçekleştirildiği *in vitro* CA testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntülerden örnekler Şekil 4.46'da gösterilmiştir. KAR uygulamaları için *in vitro* CA testi sonunda elde edilen bulgular Çizelge 4.13' te gösterilmiştir. Toplam Aberasyon (TA) ortalamaları ve Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon (TA-(G+P)) ortalamaları Çizelge 4.14' te bunlara ait grafikler ise Şekil 4.47 ve Şekil 4.48'de gösterilmiştir.

KAR uygulamaları için gerçekleştirilen CA testinden elde edilen ortalama TA verilerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunun ortalama TA değeri $1,13 \pm 0,83$ olarak belirlenmiştir.

Bu değer EtOH grubunda $1,25 \pm 0,886$ olarak belirlenmiştir. $0,5 \mu\text{g/mL}$ KAR, $1 \mu\text{g/mL}$ KAR ve $2 \mu\text{g/mL}$ KAR uygulama gruplarında belirlenen ortalama TA değerleri sırasıyla, $1,25 \pm 0,886$; $1,50 \pm 1,126$ ve $1,63 \pm 0,744$ şekindedir. Her üç, KAR uygulama grubu da kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p > 0,05$).

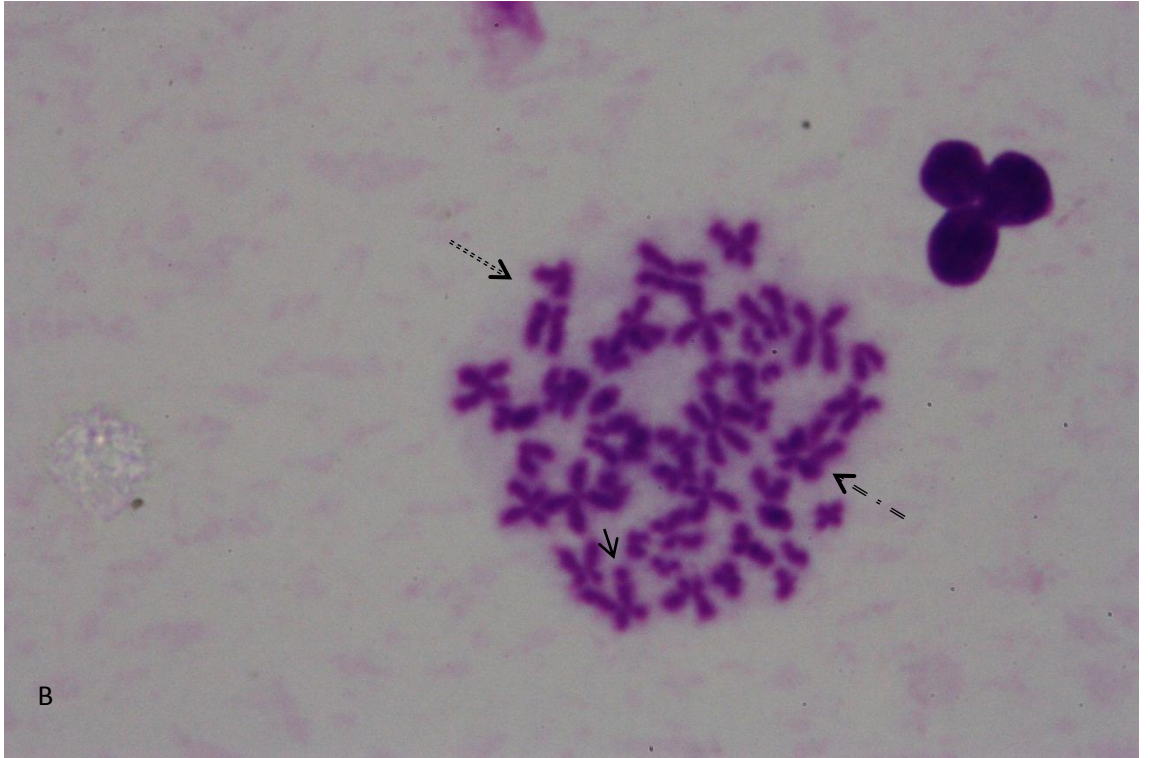
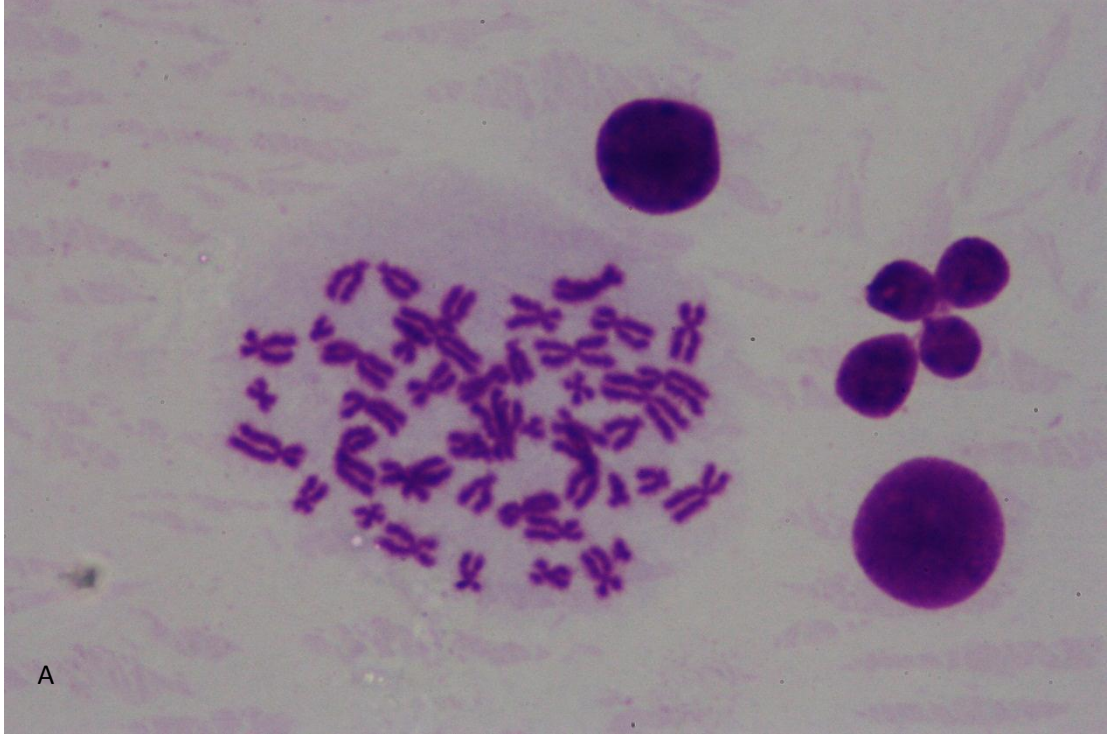
MMC grubu için ortalama TA değeri $17,25 \pm 1,982$ olarak, *SKF grubu için ise $15,13 \pm 2,167$ olarak belirlenmiştir. Her iki uygulama grubunun da TA değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında, her iki uygulamanın da TA değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde arttırdığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$ KAR, MMC + $1 \mu\text{g/mL}$ KAR ve MMC + $2 \mu\text{g/mL}$ KAR uygulamaları için ortalama TA değerleri sırasıyla, $7,25 \pm 1,832$; $7,63 \pm 1,996$ ve $5,38 \pm 2,134$ olarak belirlenmiştir. Her üç uygulama grubunun TA değerleri MMC uygulama grubunun TA değerleri ile karşılaştırıldığında, üç KAR dozunun da MMC tarafından arttırılmış TA değerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte, bu üç uygulama grubunun TA değerlerinin, kontrol grubunun TA değerlerinden istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu da belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Üç, kombin uygulama grubu birbirleri ile karşılaştırıldığında ise üç grubun da istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).

*SKF + $0,5 \mu\text{g/mL}$ KAR, *SKF + $1 \mu\text{g/mL}$ KAR ve *SKF + $2 \mu\text{g/mL}$ KAR uygulamaları için ortalama TA değerleri ise sırasıyla, $7,63 \pm 1,408$; $6,75 \pm 1,832$ ve $4,00 \pm 2,138$ olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde her üç KAR dozu da *SKF tarafından arttırılmış olan TA değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azaltmıştır ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte, bu üç uygulama grubunun TA değerlerinin, kontrol grubunun TA değerleri karşılaştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,005$). Üç, kombin uygulama grubu birbirleri ile karşılaştırıldığında ise üçünün de istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).

KAR uygulamaları için gerçekleştirilen CA testinden elde edilen ortalama TA-(G+P) verilerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol, EtOH ve 0,5 µg/mL KAR uygulama gruplarında TA-(G+P) değerleri $0,00 \pm 0,000$ olarak belirlenmiştir. 1 ve 2 µg/mL KAR uygulama grubunda ise $0,13 \pm 0,354$ olarak belirlenmiştir. MMC ve *SKF uygulama gruplarında ise TA-(G+P) değerleri sırasıyla, $8,00 \pm 1,069$ ve $7,88 \pm 1,356$ olarak belirlenmiştir.

MMC + 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR uygulama gruplarında TA-(G+P) değerleri sırasıyla $3,00 \pm 1,414$; $3,38 \pm 1,408$ ve $2,13 \pm 0,835$ olarak belirlenmiştir. Bu değerler MMC grubunun TA-(G+P) değerleri ile karşılaştırıldığında. Her üç KAR uygulamasının da MMC tarafından arttırılmış TA-(G+P) değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR uygulama grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında ise üç grubun da birbirlerinden istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). *SKF + 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR uygulama gruplarında TA-(G+P) değerleri sırasıyla $3,63 \pm 1,061$; $3,63 \pm 1,302$ ve $1,63 \pm 1,408$ olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde her üç KAR uygulamasının da *SKF tarafından arttırılmış TA-(G+P) değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Ayrıca *SKF + 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR uygulama grupları birbirleri ile karşılaştırıldığında üç grubun da TA-(G+P) değerlerinin istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$).



Şekil.4.46. KAR için *in vitro* CA testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği (X100). A) 2µg/mL KAR preparatından elde edilmiş normal bir metafaz görüntüsü B) MMC + 0,5 µg/mL KAR preparatından elde edilmiş bir kromatid kırık(---->), Exchange figür (= =>) ve kromatid gap (—>) içeren metafaz görüntüsü.

Çizelge 4.13 . KAR uygulamalarının *In vitro* CA testi bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	D	T	Metafa z Sayısı	Kr. Kırık	İzoKr. Çap	İzoKr. Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromoz	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon - (G+P)
Kontrol	1	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	2	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	4	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	7	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	8	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
Ortalama	50	0,75 (0,015)	0(0)	0,375 (0,007)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,125 (0,022)	0(0)
EtOH Kontrol	1	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	4	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
0,5 µg/ mL KAR	5	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	Ortalama	50	0,75 (0,015)	0(0)	0,5 (0,01)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,25 (0,025)	0(0)
	1	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	3	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
4	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	
5	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	
6	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	
7	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	
8	50	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	0(0)	
Ortalama	50	0,625 (0,012)	0(0)	0,625 (0,012)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,25 (0,025)	0(0)

Çizelge 4.13.Devamı. KAR uygulamalarının *In vitro* CA testi bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Parantez içerisinde Hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	D	T	Meta faz	Kr. Kırık	İzo Kr. Gap	İzo Kr. Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon – (G+P)
1 µg/ mL KAR	1	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	3	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	4	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	5	50	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,02)	0(0)
	6	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	1(0,02)
	7	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	8	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
Ortalama	50	0,75 (0,015)	0,125 (0,002)	0,625 (0,012)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,5 (0,03)	0,125 (0,002)
2 µg/ mL KAR	1	50	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)
	2	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	3	50	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	1(0,02)
	4	50	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)
	5	50	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	5	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
	6	50	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	2(0,04)	0(0)
Ortalama	50	0,875 (0,017)	0,125 (0,002)	0,625 (0,012)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1,625 (0,0325)	0,125 (0,002)	
MMC 0,3 µg/ mL	1	50	6(0,12)	5(0,1)	4(0,08)	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	19(0,38)	9(0,18)
	2	50	7(0,14)	5(0,1)	4(0,08)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	20(0,4)	9(0,18)
	3	50	5(0,1)	5(0,1)	4(0,08)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	19(0,38)	9(0,18)
	4	50	6(0,12)	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	16(0,32)	7(0,14)
	5	50	5(0,1)	4(0,08)	4(0,08)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	16(0,32)	7(0,14)
	6	50	4(0,08)	4(0,08)	4(0,08)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	18(0,36)	9(0,18)
	7	50	6(0,12)	4(0,08)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	15(0,3)	7(0,14)
	8	50	4(0,08)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	15(0,3)	7(0,14)
Ortalama	50	5,375 (0,107)	4 (0,08)	3,375 (0,067)	2 (0,04)	0,5 (0,01)	0,75 (0,015)	0,125 (0,002)	0,625 (0,012)	0,5 (0,01)	17,25 (0,345)	8 (0,16)	

Çizelge 4.13.Devami. KAR uygulamalarının *In vitro* CA testi bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

Gruplar	D	T	Meta faz	Kr. Kırk	Kr. Kırk	İzo Kr. Gap	İzo Kr. Kırk	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromozom	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon – (G+P)
MMC+ 0,5 µg/ mL KAR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	7(0,14)	3(0,06)
	2	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	3	50	4(0,08)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	3(0,06)
	4	50	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	4(0,08)
	5	50	1(0,02)	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	5(0,1)
	6	50	2(0,04)	0(0)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	1(0,02)
	7	50	4(0,08)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	3(0,06)
	8	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	3(0,06)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	9(0,18)	4(0,08)
Ortalama	50	2,5 (0,05)	1,5 (0,03)	1,625 (0,032)	1,125 (0,022)	0,125 (0,022)	0,25 (0,005)	0(0)	0(0)	0(0)	0,125 (0,002)	7,25 (0,145)	3 (0,06)	
MMC+ 1 µg/ mL KAR	1	50	3(0,06)	1(0,02)	3(0,06)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	8(0,16)	2(0,04)
	2	50	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	3	50	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	10(0,2)	4(0,08)
	4	50	1(0,02)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	7(0,14)	4(0,08)
	5	50	2(0,04)	3(0,06)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	3(0,06)
	6	50	2(0,04)	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	9(0,18)	6(0,12)
MMC+ 2 µg/ mL KAR	1	50	4(0,08)	3(0,06)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	10(0,2)	4(0,08)
	2	50	2(0,04)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	2(0,02)
	3	50	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	4	50	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
	5	50	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
	6	50	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
Ortalama	50	2,375 (0,047)	2,250 (0,045)	1,625 (0,032)	0,875 (0,0175)	0,25 (0,005)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0,125 (0,002)	7,625 (0,152)	3,375 (0,067)	
MMC+ 2 µg/ mL KAR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	4(0,08)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	9(0,18)	3(0,06)
	2	50	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	1(0,02)
	3	50	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
	4	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	7(0,14)	3(0,06)
	5	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
	6	50	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
	7	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
	8	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	4(0,08)	3(0,06)
Ortalama	50	1,5 (0,03)	1 (0,02)	1,625 (0,032)	1 (0,02)	0,125 (0,002)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0,125 (0,002)	5,375 (0,107)	2,125 (0,042)	

Çizelge 4.13. Devamı. KAR uygulamalarının *In vitro* CA testi bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, G; Gap, P; Pulverizasyon, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Parantez içerisinde Hücre başına düşen sayılar verilmiştir.

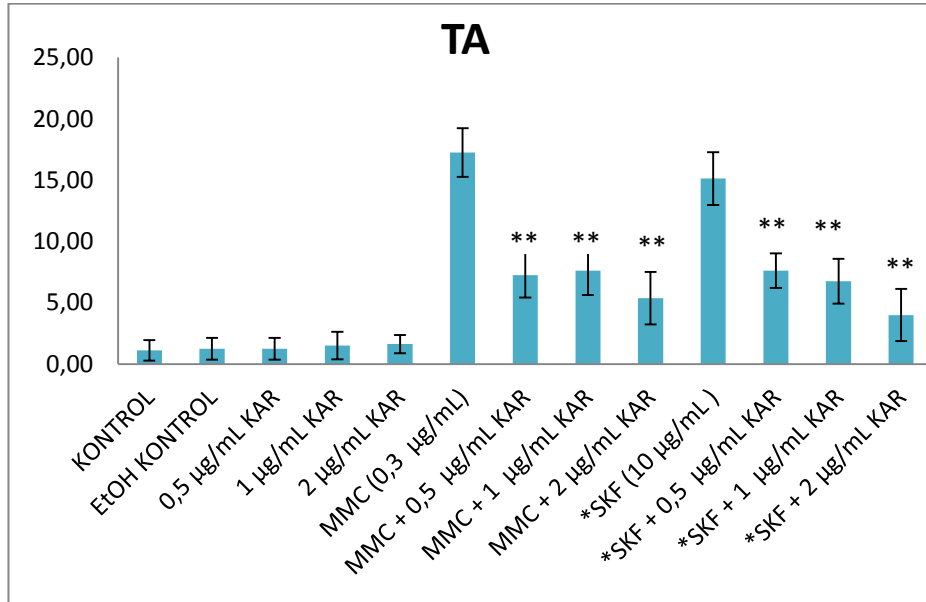
Gruplar	D	T	Metafa	Kr.Gap	Kr.Kırık	İzoKr. Gap	İzo Kr. Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Kromoz	Disentrik Kromozom	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon (G+P)
*SKF + 10 µg/ mL	1	50	6	4(0,08)	2(0,04)	4(0,08)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	19(0,38)	10(0,2)
	2	50	5	4(0,08)	1(0,02)	4(0,08)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	17(0,34)	10(0,2)
	3	50	4(0,08)	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	14(0,28)	8(0,16)
	4	50	4(0,08)	3(0,06)	3(0,06)	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	15(0,3)	7(0,14)
	5	50	5	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	14(0,28)	7(0,14)
	6	50	4(0,08)	4(0,08)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	12(0,24)	7(0,14)
	7	50	6	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	16(0,32)	7(0,14)
	8	50	4(0,08)	3(0,06)	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0	1(0,02)	0(0)	14(0,28)	7(0,14)
Ortalama	50		4,75 (0,09)	3,25 (0,065)	2 (0,04)	2,5 (0,05)	0,5 (0,01)	0,75 (0,015)	0,375 (0,007)	0,625 (0,012)	0,375 (0,007)	15,125 (0,302)	7,875 (0,157)	
*SKF + 0,5 µg/ mL KAR	1	50	4(0,08)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	8(0,16)	2(0,04)
	2	50	3(0,06)	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	1(0,02)	10(0,2)	5(0,1)
	3	50	1(0,02)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	7(0,14)	4(0,08)
	4	50	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	6(0,12)	4(0,08)
	5	50	3(0,06)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	6(0,12)	2(0,04)
	6	50	3(0,06)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	8(0,16)	4(0,08)
	5	50	3(0,06)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	9(0,18)	4(0,08)
	6	50	2(0,04)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	0(0)	7(0,14)	4(0,08)
Ortalama	50		2,625 (0,052)	1,5 (0,03)	1,25 (0,025)	0,625 (0,012)	0,125 (0,002)	0,5 (0,01)	0(0)	0,5 (0,01)	0,5 (0,01)	7,625 (0,152)	3,625 (0,072)	
*SKF + 1 µg/ mL KAR	1	50	3(0,06)	0(0)	1(0,02)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	8(0,16)	4(0,08)
	2	50	3(0,06)	2(0,04)	0(0)	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	8(0,16)	5(0,1)
	3	50	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	0(0)	7(0,14)	5(0,1)
	4	50	2(0,04)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	3(0,06)	1(0,02)
	5	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	6(0,12)	3(0,06)
	6	50	4(0,08)	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	9(0,18)	4(0,08)
	7	50	2(0,04)	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	6(0,12)	4(0,08)
	8	50	3(0,06)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	1(0,02)	1(0,02)	7(0,14)	3(0,06)
Ortalama	50		2,5 (0,05)	1 (0,02)	0,625 (0,012)	0,875 (0,017)	0(0)	0,375 (0,007)	0(0)	0,75 (0,015)	0,625 (0,012)	6,75 (0,135)	3,625 (0,072)	

Çizelge 4.13. Devamı. KAR uygulamalarının *In vitro* CA testi bulguları. D; Donör, T; Tekrar, Kr; Kromatid, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, G; Gap, Krom.; Kromozom,MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid.Parantez içerisinde hücre başına düşen sayılar

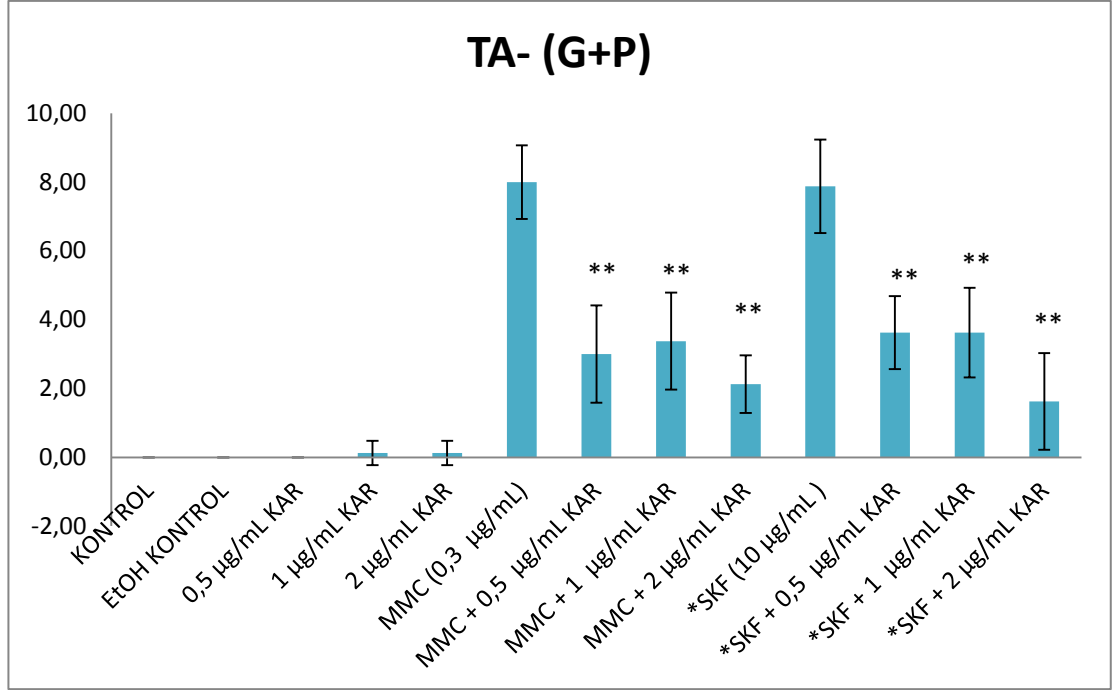
Gruplar	D	T	Meta faz	Kr. Gap	Kr. Kırık	İzoKr. Gap	İzoKr. Kırık	Pulverize Metafaz	Exchange	Halka Krom.	Disentrik Krom.	Asentrik Fragment	Toplam Aberasyon	Toplam aberasyon - (G+P)
*SKF + 2 µg/mL KAR	1	50	2(0,04)	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	8(0,16)	3(0,06)
	2	50	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	0(0)
	3	50	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	2(0,04)
	4	50	1(0,02)	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	6(0,12)	4(0,08)
	5	50	2(0,04)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	1(0,02)
	6	50	2(0,04)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	5(0,1)	2(0,04)
	7	50	2(0,04)	0(0)	1(0,02)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	3(0,06)	0(0)
	8	50	1(0,02)	0(0)	0	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	0(0)	1(0,02)	0(0)	2(0,04)	1(0,02)
Ortalama	50	1,5	0,75	0,75	0,375	0,125	0,125	0,002	0(0)	0,125	0,25	0,125	4	1,625
		(0,03)	(0,015)	(0,015)	(0,007)	(0,002)	(0,002)			(0,002)	(0,005)	(0,002)	(0,08)	(0,032)

Çizelge 4.14. KAR uygulamalarının *in vitro* CA testi ortalamaları. TA; Toplam Aberasyon, TA-(G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç toplam aberasyon, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, SS; Standart Sapma, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. ^a; Kendi kontrolü olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır, ^b; Kendi kontrolü olan *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır ($p \leq 0,001$).

	ORTALAMA \pm SS	
	TA \pm SS	TA - (G+P) \pm SS
KONTROL	1,13 \pm 0,83	0,00 \pm 0,00
EtOH KONTROL	1,25 \pm 0,886	0,00 \pm 0,00
0,5 μg/mL KAR	1,25 \pm 0,886	0,00 \pm 0,00
1 μg/mL KAR	1,50 \pm 1,126	0,13 \pm 0,354
2 μg/mL KAR	1,63 \pm 0,744	0,13 \pm 0,354
MMC (0,3 μg/mL)	17,25 \pm 1,982	8,00 \pm 1,069
MMC + 0,5 μg/mL KAR	7,25 \pm 1,832 ^a	3,00 \pm 1,414 ^a
MMC + 1 μg/mL KAR	7,63 \pm 1,996 ^a	3,38 \pm 1,408 ^a
MMC + 2 μg/mL KAR	5,38 \pm 2,134 ^a	2,13 \pm 0,835 ^a
*SKF (10 μg/mL)	15,13 \pm 2,167	7,88 \pm 1,356
*SKF + 0,5 μg/mL KAR	7,63 \pm 1,408 ^b	3,63 \pm 1,061 ^b
*SKF + 1 μg/mL KAR	6,75 \pm 1,832 ^b	3,63 \pm 1,302 ^b
*SKF + 2 μg/mL KAR	4,00 \pm 2,138 ^b	1,63 \pm 1,408 ^b

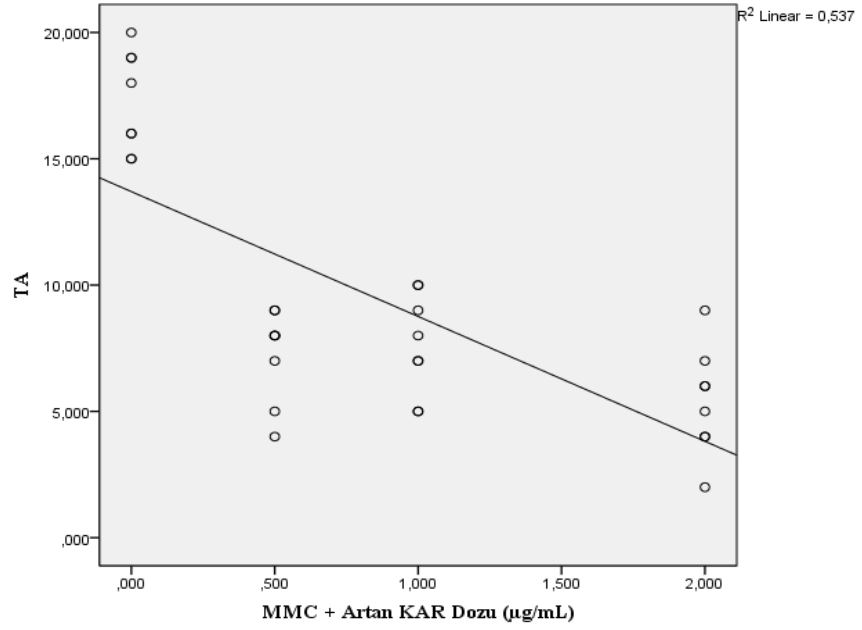


Şekil 4.47. KAR için *in vitro* CA Deneylerinden elde edilen ortalama TA değerleri. TA; Toplam Aberasyon, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, SS; Standart Sapma, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

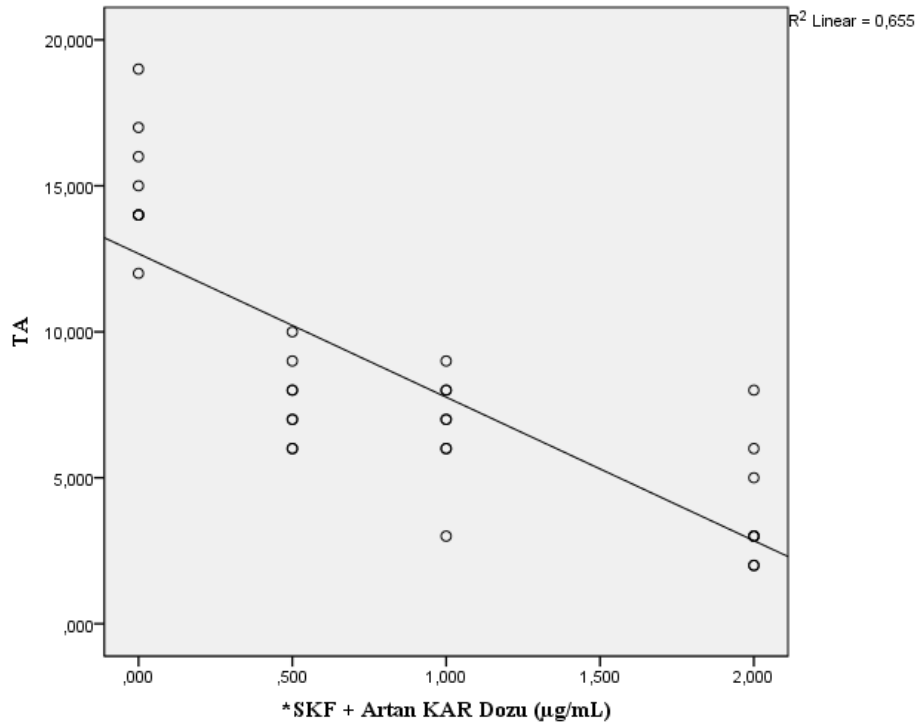


Şekil 4.48. KAR için *in vitro* CA Deneylelerinden elde edilen ortalama TA – (G+P) değerleri. TA; toplam Aberasyon, EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, SS; Standart Sapma, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **, $p \leq 0,001$.

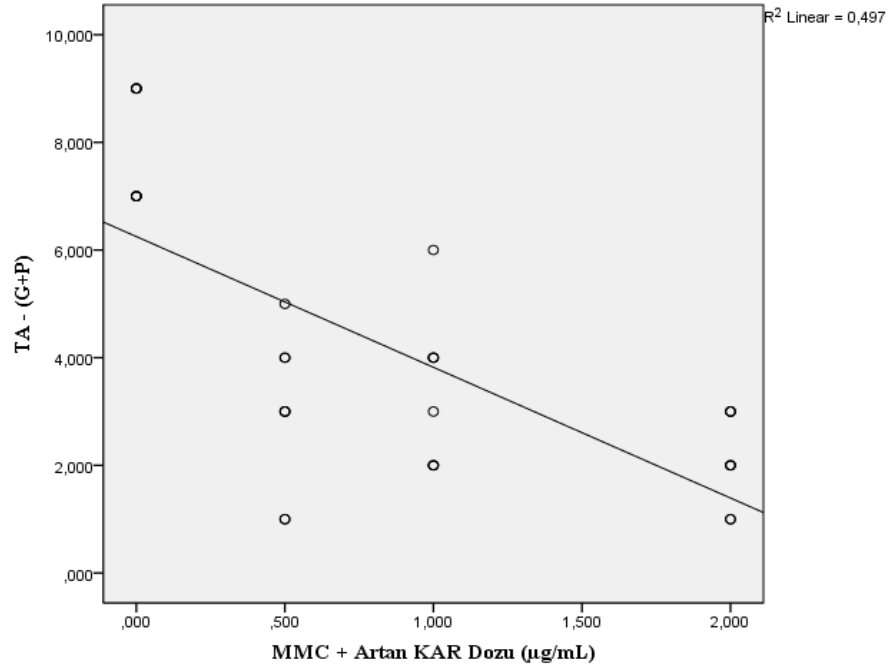
Ayrıca MMC ve *SKF tarafından indüklenen TA frekansının KAR tarafından indirgenmesinde artan KAR dozlarının etkisi regresyon analizi ile incelenmiştir. Sonuç olarak MMC ve *SKF tarafından indüklenen TA frekansının artan KAR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + KAR dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.49’da gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise $y = 13,7 - 4,943 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,537$) şeklinde belirlenmiştir. *SKF + KAR dozları için elde edilen regresyon eğrisi ise Şekil 4.50’de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi ise $y = 12,675 - 4,914 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,655$) şeklinde belirlenmiştir. Aynı zamanda, MMC ve *SKF tarafından indüklenmiş olan TA - (G+P) frekansının da artan KAR dozu ile azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC tarafından indüklenen TA – (G+P) frekansı için artan KAR dozlarının etkisinin regresyon eğrisi Şekil 4.51’de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi $y = 6,250 - 2,429 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,497$) şeklinde belirlenmiştir. *SKF + Artan KAR dozunun TA - (G+P) frekansına etkisinin regresyon grafiği ise Şekil 4.52’de gösterilmiştir. Bu eğrinin denklemi $y = 6,575 - 2,729 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,612$) şeklinde belirlenmiştir.



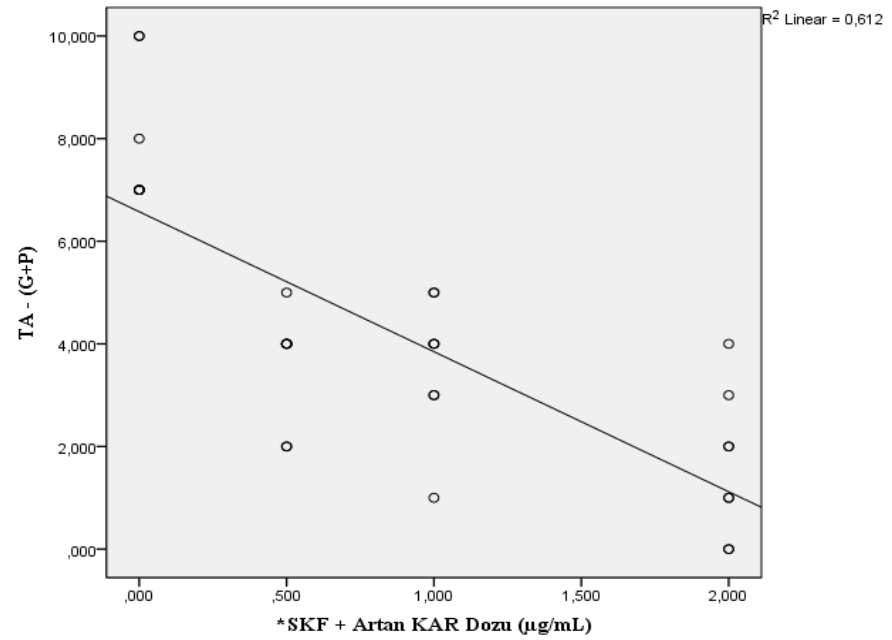
Şekil 4.49. MMC tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. TA; Toplam Aberasyon, MMC; Mitomisin C, KAR; Karnosik Asit.



Şekil 4. 50. *SKF tarafından indüklenen TA frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. TA; Toplam Aberasyon, KAR; Karnosik Asit. *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid.



Şekil 4. 51. MMC tarafından indüklenen TA – (G+P) frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. TA – (G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon, MMC; Mitomisin C, KAR; Karnosik Asit.



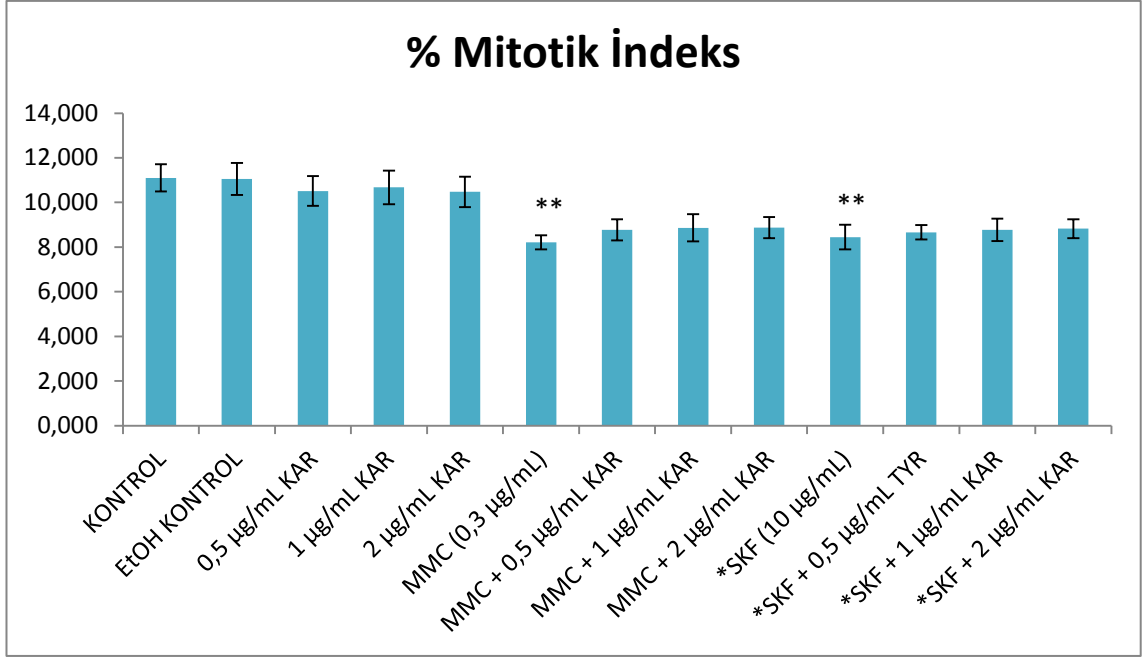
Şekil 4. 52. *SKF tarafından indüklenen TA – (G+P) frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. TA – (G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç Toplam Aberasyon, KAR; Karnosik Asit. *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid.

Bunların dışında *in vitro* CA testinde değerlendirilen bir diğer parametre ise % Mİ değeridir. KAR uygulamaları için *in vitro* CA testinden elde edilen % Mİ değerleri Çizelge 4.15 ve Şekil 4.53'te verilmiştir. KAR uygulamaları için *in vitro* CA testinden elde edilen % Mİ değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey HSD testleri ile gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunun %Mİ değeri, $11,100 \pm 0,612$ olarak belirlenirken EtOH grubunun %Mİ değeri ise $11,050 \pm 0,715$ olarak belirlenmiştir.

0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR uygulamalarının %Mİ değerleri ise sırasıyla; $10,513 \pm 0,666$; $10,675 \pm 0,757$ ve $10,475 \pm 0,678$ olarak belirlenmiştir. Üç farklı doz KAR uygulamasının %Mİ değerleri ile kontrol grubunun %Mİ değerleri arasında istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). %Mİ değeri $8,213 \pm 0,318$ olan MMC uygulaması ve %Mİ değeri $8,450 \pm 0,553$ olan *SKF uygulaması, kontrol grubu ile karşılaştırıldığında MMC ve *SKF'nin %Mİ değerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + 0,5 µg/mL KAR, MMC + 1 µg/mL KAR ve MMC + 2 µg/mL KAR uygulamalarının %Mİ değerleri sırasıyla, $8,775 \pm 0,474$; $8,863 \pm 0,609$ ve $8,875 \pm 0,471$ olarak belirlenmiştir. MMC uygulamasıyla karşılaştırılan Kombine KAR uygulamalarının MMC tarafından düşürülen %Mİ değerine istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde etki etmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$). *SKF + 0,5 µg/mL KAR, *SKF + 1 µg/mL KAR ve *SKF + 2 µg/mL KAR uygulamalarının %Mİ değerleri ise sırasıyla, $8,663 \pm 0,320$; $8,775 \pm 0,501$ ve $8,825 \pm 0,423$ olarak belirlenmiştir. Aynı şekilde üç KAR dozunun da, *SKF tarafından düşürülmüş olan %Mİ değerlerine istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde etki etmediği belirlenmiştir ($p > 0,05$).

Çizelge 4.15. KAR uygulamalarının *In vitro* CA testi % Mİ değerleri. Mİ: Mitotik İndeks, EtOH: Etanol, KAR; Karnosik asit, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosamid, SS: Standart Sapma.^a; Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,001)

	1.Donör		2. Donör		3.Donör		4.Donör		Ortalama ± SS
	1.T.	2. T.	1.T.	2. T.	1.T.	2. T.	1.T.	2. T.	
KONTROL	11,8	10	11,7	11	11,2	11,6	10,9	10,6	11,100 ±0,612
EtOH KONTROL	10	11,9	11	11,2	11,7	11,5	11,1	10	11,050±0,715
0,5 µg/mL KAR	11,6	11	11,2	10	10,1	10,4	9,8	10	10,513±0,666
1 µg/mL KAR	11,5	11,1	10	11,5	10	10,7	11,1	9,5	10,675±0,757
2 µg/mL KAR	11,6	10,4	10	9,8	10,9	11,2	9,9	10	10,475±0,678
MMC (0,3 µg/mL)	8	8,8	8,2	8,3	7,8	8,1	8,5	8	8,213±0,318 ^a
MMC + 0,5 µg/mL KAR	8,8	9,5	8,4	8,8	8	8,5	9	9,2	8,775±0,474
MMC + 1 µg/mL KAR	9,1	9,5	9,5	8	8,5	8,3	8,5	9,5	8,863±0,609
MMC + 2 µg/mL KAR	9,5	9	8,8	8,5	8,5	8,3	8,8	9,6	8,875±0,471
*SKF (10 µg/mL)	8,3	9,5	8	8,8	8,7	8,5	8	7,8	8,450±0,553 ^a
*SKF + 0,5 µg/mL KAR	8,8	8,5	8,9	8	8,5	8,8	9	8,8	8,663±0,320
*SKF + 1 µg/mL KAR	8	8	8	9,5	8,3	8,6	9	9	8,775±0,501
*SKF + 2 µg/mL KAR	9	8,8	8,5	8,6	8,2	8,8	9,1	9,6	8,825±0,423



Şekil 4.53. KAR için *in vitro* CA Deneylerinden elde edilen ortalama %Mİ değerleri. EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

4.2.6. TYR uygulamaları için *in vitro* SCE testi bulguları

TYR uygulamaları için *in vitro* SCE testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntülerden örnekler Şekil 4.54'te gösterilmiştir. *In vitro* SCE testi sonunda elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.16, Şekil 4.55 ve Şekil 4.56'da gösterilmiştir.

Hücre başına SCE frekansı değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda hücre başına SCE frekansı $4,925 \pm 0,901$ olarak belirlenmiştir. Hücre başına SCE frekansı değeri EtOH grubu için $5,067 \pm 1,258$ olarak belirlenmiştir. 0,5 µg/mL TYR, 1 µg/mL TYR ve 2 µg/mL TYR gruplarında hücre başına SCE frekansları ise sırasıyla $4,583 \pm 0,623$; $5,058 \pm 0,376$; $4,742 \pm 0,449$ şeklindedir. EtOH grubu ve üç farklı TYR uygulama grupları ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücre başına düşen SCE değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark belirlenememiştir ($p > 0,05$).

Yine hücre başına düşen SCE frekansı açısından MMC grubunun değeri $32,404 \pm 1,886$, *SKF grubunun değeri ise $27,558 \pm 1,661$ şeklinde bulunmuştur. Bu değerler, kontrol grubunun hücre başına düşen SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında, hem MMC hem de *SKF uygulamalarının hücre başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalardan MMC+ 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, MMC + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve MMC + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarının hücre başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla; $24,583 \pm 0,483$; $21,208 \pm 0,293$; $21,396 \pm 1,525$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler tek başına MMC uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR dozunun da MMC tarafından arttırılmış SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu üç kombin uygulama dozlarının hücre başına düşen SCE frekansları değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında ise, MMC + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grubunun SCE frekansının, hem MMC + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR hem de MMC+ 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grubunun SCE frekansından istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu üç kombin uygulama grubunun SCE frekansı değerleri kontrol grubunun SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında ise her üç grubun da SCE değerlerinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalardan *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, *SKF + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve *SKF + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarının hücre başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla; $16,263 \pm 0,965$; $14,079 \pm 0,524$; $13,654 \pm 0,400$ olarak belirlenmiştir. Bu değerler tek başına *SKF uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR dozunun da *SKF tarafından arttırılmış SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu üç kombin uygulama dozlarının hücre başına düşen SCE frekansları değerleri birbirleri ile de karşılaştırılmıştır. *SKF + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve *SKF + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarının hücre başına düşen SCE frekansı değerlerinin *SKF+ 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulamasının SCE frekansı değerlerinden istatistiki olarak anlamlı düzeyde az olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte *SKF + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve *SKF + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarının hücre başına düşen SCE frekansı değerleri açısından aralarında istatistiki bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Bu üç kombin

uygulamanın hücre başına SCE frekansı değerleri kontrol grubu ile de karşılaştırılmıştır. Bu üç kombin uygulamanın üçünün de SCE frekansları, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ($p \leq 0,001$).

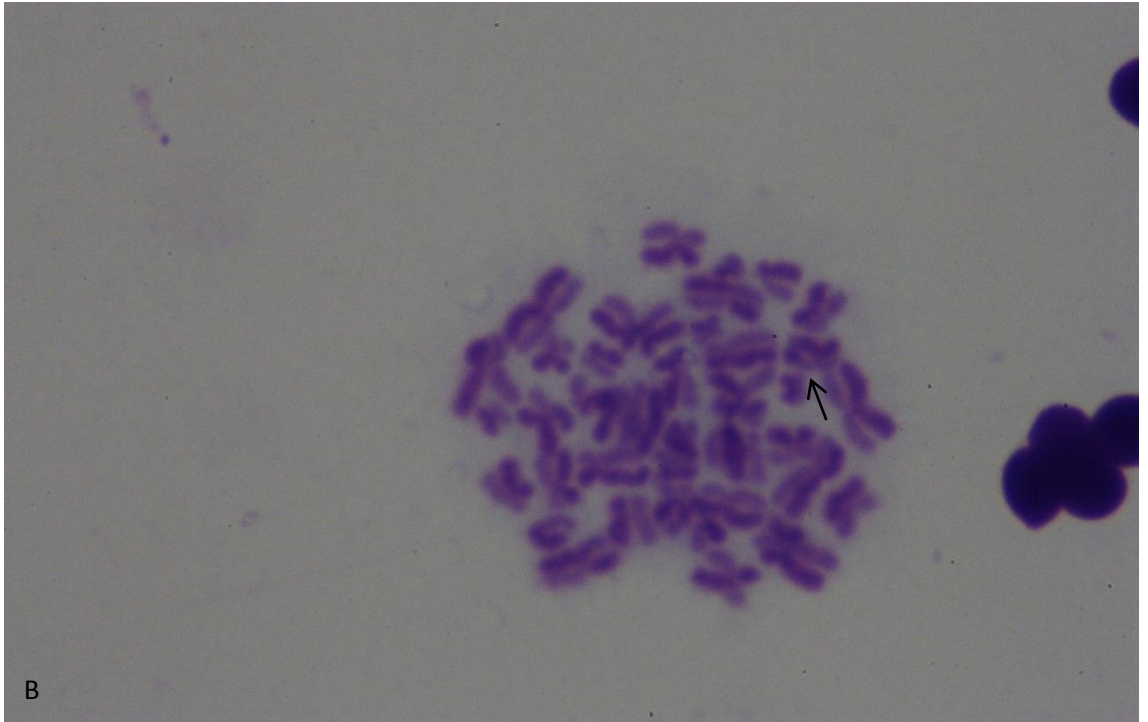
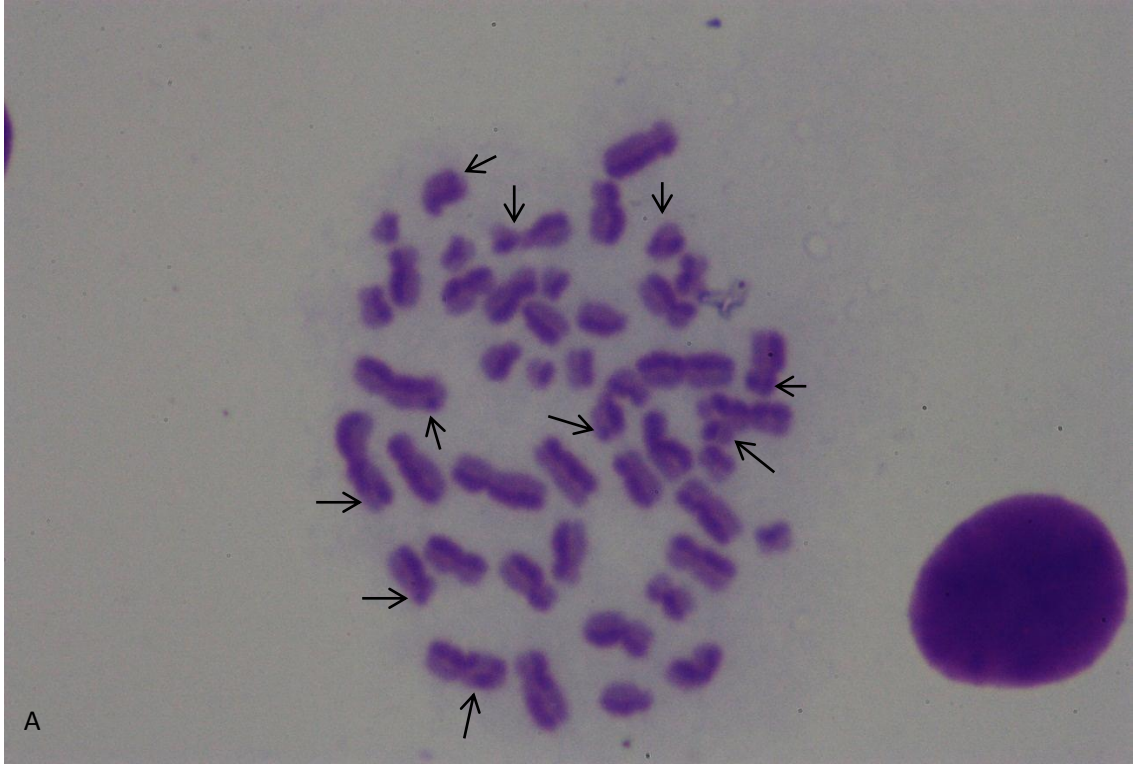
Bulgular kromozom başına düşen SCE frekansları açısından da değerlendirilmiştir. Kromozom başına düşen SCE frekansı değerlerinin istatistiki analizleri ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda kromozom başına SCE frekansı $0,107 \pm 0,020$ olarak belirlenmiştir. EtOH grubu için aynı parametrenin değeri ise $0,110 \pm 0,027$ olarak belirlenmiştir. $0,5 \mu\text{g/mL}$ TYR, $1 \mu\text{g/mL}$ TYR ve $2 \mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında kromozom başına SCE frekansları ise sırasıyla $0,100 \pm 0,014$; $0,110 \pm 0,008$; $0,103 \pm 0,010$ olarak belirlenmiştir. EtOH grubu ve üç farklı TYR uygulama grupları ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kromozom başına düşen SCE değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$).

Yine kromozom başına düşen SCE frekansı açısından MMC grubunun değeri $0,704 \pm 0,041$ *SKF grubunun değeri ise $0,599 \pm 0,036$ şeklinde bulunmuştur. Bu değerler, kontrol grubunun kromozom başına düşen SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında, hem MMC hem de *SKF uygulamalarının kromozom başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Kombin uygulamalardan MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$ TYR, MMC + $1 \mu\text{g/mL}$ TYR ve MMC+ $2 \mu\text{g/mL}$ TYR gruplarının kromozom başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla; $0,534 \pm 0,011$; $0,461 \pm 0,006$; $0,465 \pm 0,033$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler tek başına MMC uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR dozunun da MMC tarafından arttırılmış kromozom başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu üç kombin uygulama dozlarının, kromozom başına düşen SCE frekanslarının değerleri birbirleri ile de karşılaştırılmıştır. MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grubunun kromozom başına SCE frekansının, hem MMC+ $1 \mu\text{g/mL}$ TYR hem de MMC+ $2 \mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grubunun kromozom başına SCE frekansından istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,005$). MMC+ $1 \mu\text{g/mL}$ TYR ve MMC+ $2 \mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grupları ise, aynı parametre açısından istatistiki olarak birbirlerinden farklı olmadığı belirlenmiştir

($p > 0,05$). Bu üç kombin uygulama grubunun, kromozom başına SCE frekansı değerleri, kontrol grubunun SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında ise her üç grubun da SCE değerlerinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalardan *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR, *SKF + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR ve *SKF + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarının kromozom başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla $0,354 \pm 0,021$; $0,306 \pm 0,011$; $0,297 \pm 0,009$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler tek başına *SKF uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR dozunun da *SKF tarafından arttırılmış kromozom başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu üç kombin uygulama dozlarının, kromozom başına düşen SCE frekanslarının değerleri birbirleri ile de karşılaştırılmıştır.

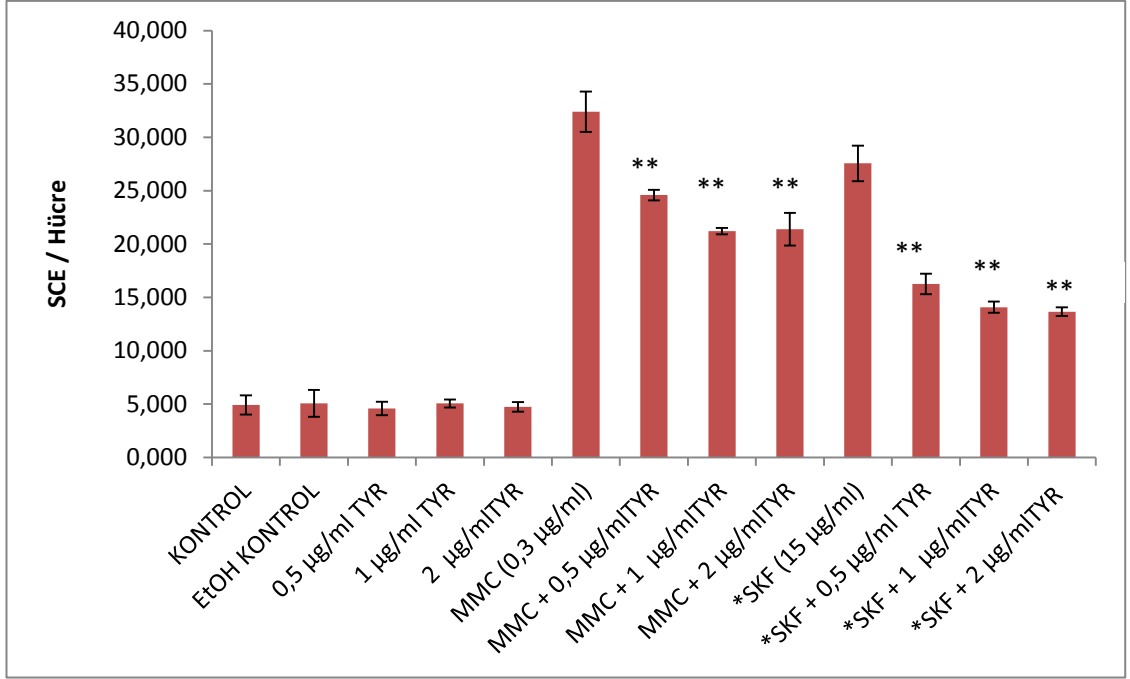
*SKF + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR uygulama grubunun kromozom başına SCE frekansının, *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR grubunun kromozom başına SCE frekansından istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Bu kombin grupların birbirleri ile olan diğer karşılaştırmalarında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Bu üç kombin uygulama grubunun, kromozom başına SCE frekansı değerleri, kontrol grubunun SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında ise her üç grubun da SCE değerlerinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).



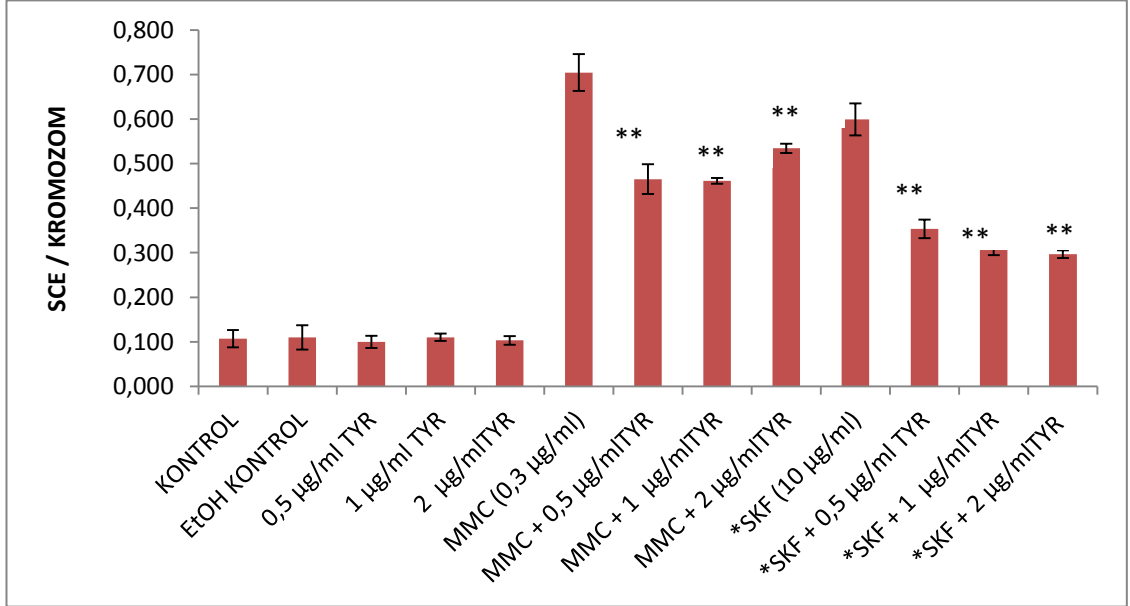
Şekil 4. 54. TYR için *in vitro* SCE testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntü örneği (X100). A) *SKF + 2 µg/mL TYR preparatından elde edilmiş bir görüntü B) 2 µg/mL TYR preparatından elde edilmiş bir görüntü. Oklar SCE'leri işaret etmektedir.

Çizelge 4.16. TYR uygulamaların *in vitro* SCE testi bulguları. SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, EtOH: Etanol, TYR: Tyrosol, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosamid, SS: Standart sapma. ^a; Kendi kontrolü olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır ^b; Kendi kontrolü olan *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır ($p \leq 0,001$).

	Donör 1 ± SS	Donör 2 ± SS	Donör 3 ± SS	Donör 4 ± SS	SCE / Hücre ortalama ± SS	SCE/ kromozom ortalama ± SS
KONTROL	3,983 ± 1,408	6,017 ± 1,490	5,267 ± 1,745	4,433 ± 0,909	4,925 ± 0,901	0,107 ± 0,020
EtOH KONTROL	3,500 ± 1,033	6,450 ± 2,135	5,583 ± 1,720	4,733 ± 1,376	5,067 ± 1,258	0,110 ± 0,027
0,5 µg/mL TYR	3,733 ± 1,313	4,833 ± 2,430	4,567 ± 2,053	5,200 ± 2,032	4,583 ± 0,623	0,100 ± 0,014
1 µg/mL TYR	5,033 ± 1,746	5,217 ± 1,757	4,550 ± 1,567	5,433 ± 2,601	5,058 ± 0,376	0,110 ± 0,008
2 µg/mL TYR	4,400 ± 2,117	4,717 ± 1,718	4,467 ± 2,071	5,383 ± 1,984	4,742 ± 0,449	0,103 ± 0,010
MMC (0,3 µg/mL)	32,433 ± 7,134	34,667 ± 6,286	32,467 ± 5,973	30,050 ± 5,835	32,404 ± 1,886	0,704 ± 0,041
MMC + 0,5 µg/mL TYR	25,050 ± 2,825	24,850 ± 3,384	24,483 ± 2,843	23,950 ± 3,132	24,583 ± 0,483 ^a	0,534 ± 0,011 ^a
MMC + 1 µg/mL TYR	20,917 ± 4,420	21,000 ± 3,430	21,417 ± 3,175	21,500 ± 2,926	21,208 ± 0,293 ^a	0,461 ± 0,006 ^a
MMC + 2 µg/mL TYR	23,550 ± 3,938	20,533 ± 4,370	20,133 ± 3,985	21,367 ± 4,182	21,396 ± 1,525 ^a	0,465 ± 0,033 ^a
*SKF (10 µg/mL)	29,817 ± 6,627	26,733 ± 4,532	27,700 ± 4,659	25,983 ± 5,163	27,558 ± 1,661	0,599 ± 0,036
*SKF + 0,5 µg/mL TYR	16,667 ± 4,066	14,817 ± 3,122	16,783 ± 3,395	16,783 ± 3,889	16,263 ± 0,965 ^b	0,354 ± 0,021 ^b
*SKF + 1 µg/mL TYR	14,550 ± 2,368	13,333 ± 2,735	14,150 ± 1,735	14,283 ± 1,795	14,079 ± 0,524 ^b	0,306 ± 0,011 ^b
*SKF + 2 µg/mL TYR	13,833 ± 3,082	13,217 ± 2,394	14,117 ± 3,350	13,450 ± 4,220	13,654 ± 0,400 ^b	0,297 ± 0,009 ^b

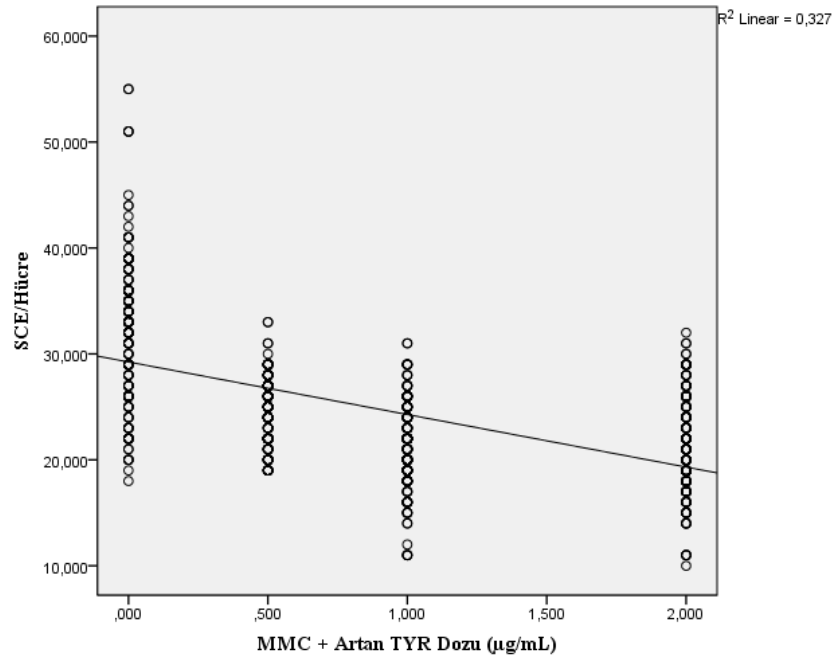


Şekil 4.55. TYR için *in vitro* SCE deneylerinde hücre başına düşen ortalama SCE frekansları. SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, EtOH: Etanol, TYR: Tyrosol, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

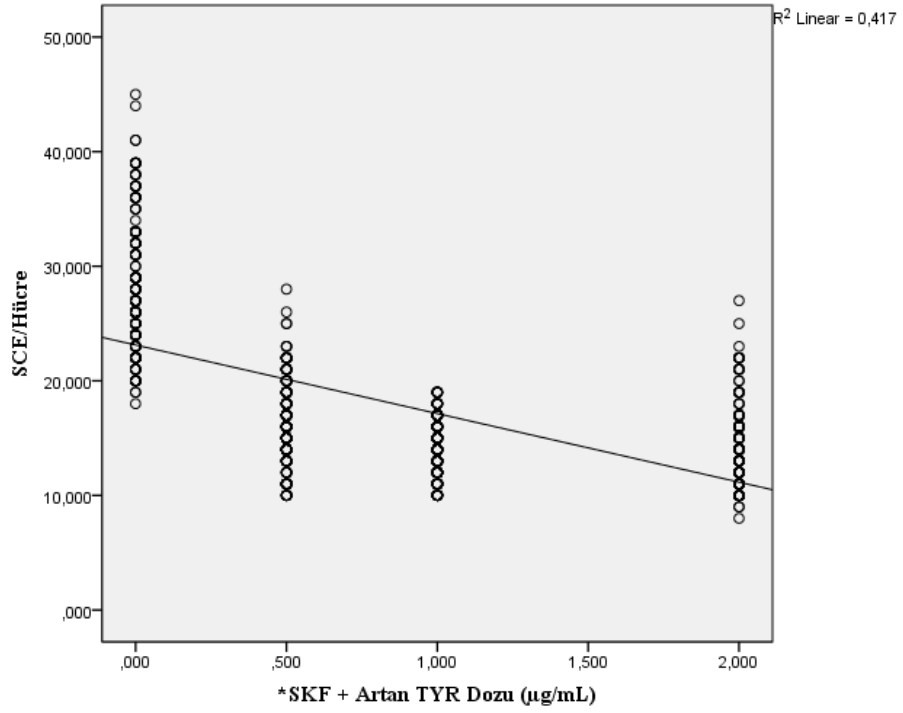


Şekil 4.56. TYR için *in vitro* SCE deneylerinde Kromozom başına düşen ortalama SCE frekansları. SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, EtOH: Etanol, TYR: Tyrosol, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

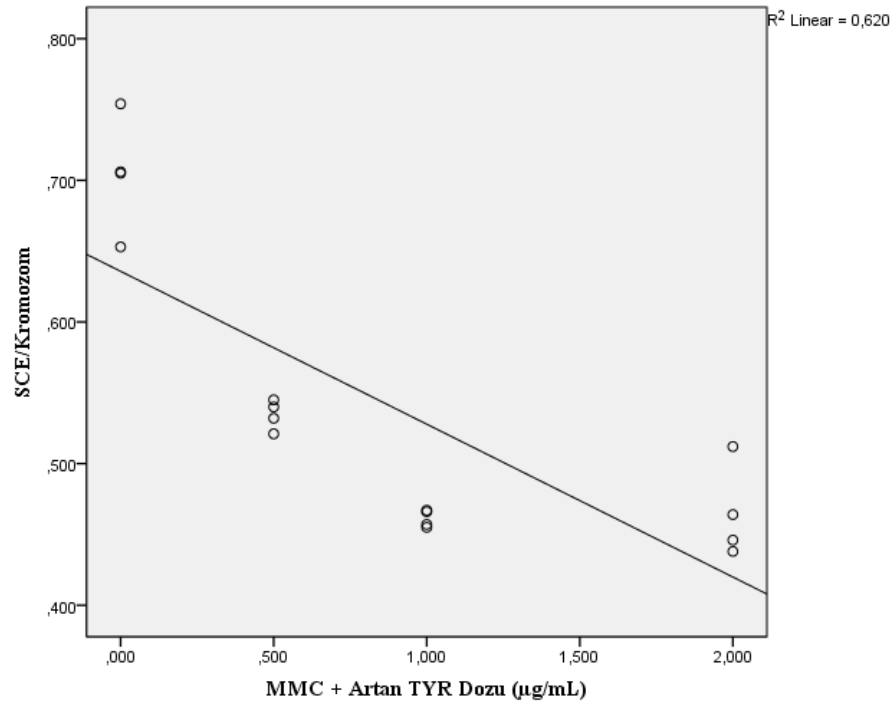
Ayrıca MMC ve *SKF tarafından indüklenen hücre başına SCE frekanslarının TYR tarafından indirgenmesinde artan TYR dozlarının etkisi regresyon analizi ile incelenmiştir. Sonuç olarak MMC ve *SKF tarafından indüklenen hücre başına SCE frekanslarının artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + TYR dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.57’de gösterilmiştir, bu eğrinin denklemi $y = 29,238 - 4,96 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,327$) şeklinde belirlenmiştir. *SKF + TYR dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.58’de gösterilmiştir bu eğrinin denklemi ise $y = 23,125 - 5,985 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,417$) şeklinde belirlenmiştir. Benzer olarak MMC ve *SKF tarafından indüklenen Kromozom başına SCE frekanslarının da artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Kromozom başına SCE frekansları açısından MMC + TYR dozlarının regresyon eğrisi Şekil 4.59’da gösterilmiştir. Bu eğrinin denklemi $y = 0,636 - 0,108 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,620$) şeklinde belirlenmiştir. Yine kromozom başına SCE frekansları açısından *SKF + TYR dozlarının regresyon eğrisi ise Şekil 4.60’ta gösterilmiştir. Bu eğrinin denklemi ise $y = 0,503 - 0,130 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,595$) şeklinde belirlenmiştir.



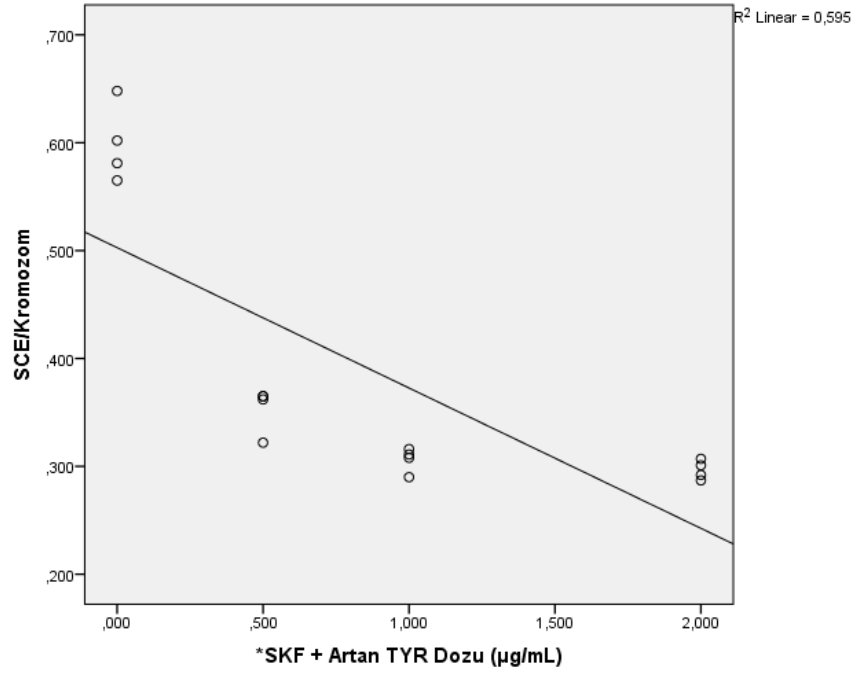
Şekil 4.57. MMC tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, TYR; Tyrosol, SCE; Kardeş Kromatid Değişimi.



Şekil 4.58. *SKF tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, TYR; Tyrosol, SCE; Kardeş Kromatid Değişimi.



Şekil 4.59. MMC tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, TYR; Tyrosol, SCE; Kardeş Kromatid Değişimi.



Şekil 4.60. *SKF tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan TYR dozunun etkisi. *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, TYR; Tyrosol, SCE; Kardeş Kromatid Değişimi.

In vitro SCE uygulamalarının bulguları içerisinde bulunan bir diğer parametre ise replikatif indeks (Rİ) değeridir. Ortalama Rİ bulguları Çizelge 4.17 ve Şekil 4.61’de özetlenmiştir.

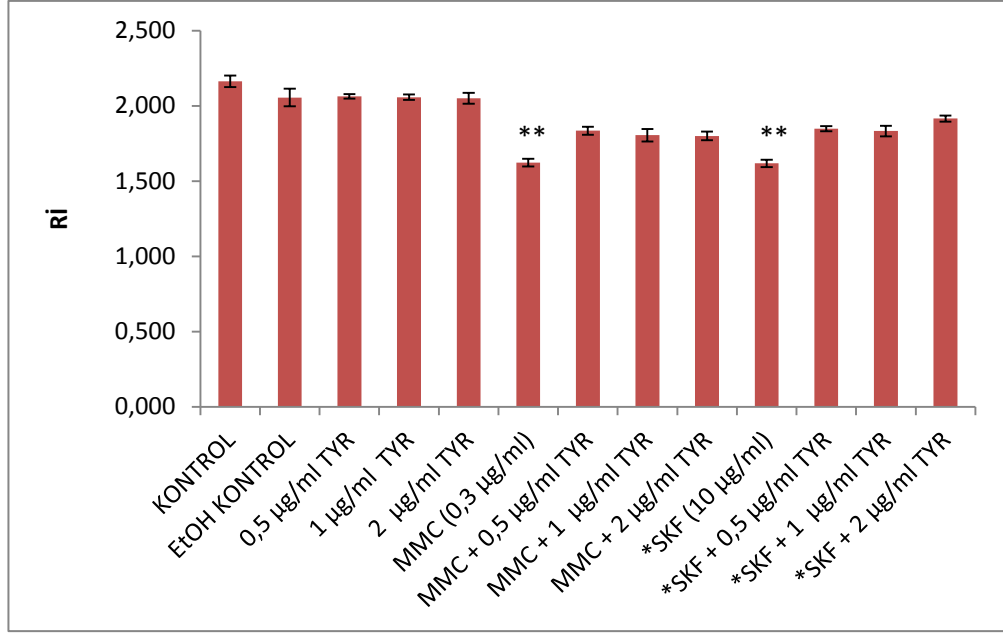
Rİ değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane’s T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre kontrol grubunun Rİ değeri $2,163 \pm 0,039$ olarak belirlenmiştir. EtOH grubunun Rİ değeri ise $2,055 \pm 0,058$ olarak belirlenmiştir. 0,5, 1, 2 µg/mL TYR uygulamaları için Rİ değeri sırasıyla; $2,063 \pm 0,015$, $2,058 \pm 0,017$, $2,050 \pm 0,036$ olarak belirlenmiştir. Tüm bu uygulama gruplarının Rİ değerleri ile kontrol grubunun Rİ değeri arasında istatistiksel olarak bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). MMC ve *SKF uygulama gruplarının Rİ değerleri sırasıyla; $1,623 \pm 0,025$ ve $1,618 \pm 0,025$ olarak belirlenmiştir. Her iki grubun Rİ değerleri kontrol grubunun Rİ değeri ile karşılaştırıldığında hem MMC’nin hem de *SKF’nin Rİ değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Kombin uygulama

gruplarından MMC + 0,5 µg/mL TYR ve MMC + 2 µg/mL TYR gruplarının Rİ değerleri sırasıyla 1,835 ± 0,026 ve 1,800 ± 0,028 olarak belirlenmiştir. Bu iki grubun Rİ değerleri MMC grubunun Rİ değerleri ile karşılaştırıldığında, 0,5 ve 2 µg/mL TYR uygulamasının Rİ değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p ≤ 0,05). Rİ değeri 1,805 ± 0,041 olarak belirlenen MMC + 1 µg/mL TYR grubunun ise Rİ değeri açısından MMC grubundan istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir (p >0,05). Kombin uygulama gruplarından *SKF + 0,5, 1 ve 2 µg/mL TYR gruplarının Rİ değerleri sırasıyla, 1,848 ± 0,017; 1,833 ± 0,035 ve 1,915 ± 0,021 olarak belirlenmiştir. Her üç grubun Rİ değerleri *SKF grubunun Ri değeri ile karşılaştırıldığında TYR uygulamalarının Rİ değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir (p ≤ 0,05). Tüm kombin uygulamaların Rİ değerleri kontrol grubu ile karşılaştırıldığında ise tüm uygulamaların, Rİ değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir (p ≤ 0,05).

Çizelge 4. 17. TYR uygulamalarının *in vitro* SCE testi ortalama Rİ değerleri.

Rİ: Replikatif İndeks (Herbir grup için 4 donör iki tekrar olan uygulamaların ortalamaları verilmiştir), M1; Mitoz 1, M2; Mitoz 2, M3; Mitoz 3 (Her bir grup için 4 donör iki tekrar olan uygulamaların toplam değerleri verilmiştir), EtOH: Etanol, TYR; Tyrosol, MMC: Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. ^a; Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,001). ^b; MMC grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,05). ^c; *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,05).

	M 1	M 2	M 3	Rİ ± SS
KONTROL	204	262	334	2,163 ± 0,039
EtOH KONTROL	254	248	298	2,055 ± 0,058
0,5 µg/mL TYR	258	234	308	2,063 ± 0,015
1 µg/mL TYR	254	246	300	2,058 ± 0,017
2 µg/mL TYR	260	240	300	2,050 ± 0,036
MMC (0,3 µg/mL)	394	314	92	1,623 ± 0,025 ^a
MMC + 0,5 µg/mL TYR	326	280	194	1,835 ± 0,026 ^b
MMC + 1 µg/mL TYR	330	296	174	1,805 ± 0,041
MMC + 2 µg/mL TYR	330	300	170	1,800 ± 0,028 ^b
*SKF (10 µg/mL)	404	298	98	1,618 ± 0,025 ^a
*SKF + 0,5 µg/mL TYR	310	302	188	1,848 ± 0,017 ^c
*SKF + 1 µg/mL TYR	306	322	172	1,833 ± 0,035 ^c
*SKF + 2 µg/mL TYR	276	316	208	1,915 ± 0,021 ^c



Şekil 4. 61. TYR *in vitro* SCE uygulamalarının ortalama Rİ değerleri. Rİ; Replikatif İndeks, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. *; $p \leq 0,05$, **; $p \leq 0,001$.

4.2.7. KAR uygulamaları için *In vitro* SCE testi bulguları

KAR uygulamaları için *In vitro* SCE testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskopik görüntülerden örnekler Şekil 4.62’de gösterilmiştir. *In vitro* SCE testi sonunda elde edilen ortalama değerler Çizelge 4.19, Şekil 4.63 ve Şekil 4.64’te gösterilmiştir.

Hücre başına düşen SCE ortalamalarının istatistiki analizleri ANOVA ve Tamhane’s T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda hücre başına SCE frekansı $5,263 \pm 0,648$ olarak belirlenmiştir. Hücre başına SCE frekansı değeri EtOH grubu için $5,717 \pm 0,746$ olarak belirlenmiştir. 0,5 µg/mL KAR, 1 µg/mL KAR ve 2 µg/mL KAR gruplarında hücre başına SCE frekansları ise sırasıyla $5,779 \pm 0,951$; $5,771 \pm 0,826$ ve $5,671 \pm 0,767$ olarak belirlenmiştir. EtOH grubu ve üç farklı KAR uygulama grupları ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında hücre başına düşen SCE değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$).

Yine hücre başına düşen SCE frekansı açısından MMC grubunun değeri $33,133 \pm 2,396$ *SKF grubunun değeri ise $27,304 \pm 1,220$ şeklinde bulunmuştur. Bu değerler, kontrol grubunun hücre başına düşen SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında, hem MMC hem de *SKF uygulamalarının hücre başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalardan MMC + 0,5 µg/mL KAR, MMC + 1 µg/mL KAR ve MMC + 2 µg/mL KAR gruplarının hücre başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla; $24,421 \pm 0,425$; $20,904 \pm 0,520$; $18,021 \pm 0,783$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler tek başına MMC uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında her üç KAR dozunun da MMC tarafından arttırılmış SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu üç kombin uygulama dozlarının hücre başına düşen SCE frekansları değerleri birbirleri ile karşılaştırıldığında ise, hepsinin, birbirinden istatistiki olarak anlamlı düzeyde farklı olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulama grubunun, hücre başına SCE frekansı değerlerinin KAR dozu arttıkça, azaldığı görülmektedir. Kontrol grubunun SCE frekansı değerleri ile bu üç kombin uygulamanın SCE frekansları karşılaştırıldığında ise her üç grubun da SCE değerlerinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalardan *SKF + 0,5 µg/mL KAR, *SKF + 1 µg/mL KAR ve *SKF + 2 µg/mL KAR gruplarının hücre başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla; $17,950 \pm 0,606$; $16,758 \pm 0,460$; $11,017 \pm 0,195$ olarak belirlenmiştir. Bu değerler tek başına *SKF uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında her üç KAR dozunun da *SKF tarafından arttırılmış SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bu üç kombin uygulama dozlarının hücre başına düşen SCE frekansları değerleri birbirleri ile de karşılaştırılmıştır. Her üç kombin uygulama grubunun da istatistiki olarak anlamlı düzeyde birbirlerinden farklı olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte, KAR dozu arttıkça *SKF tarafından arttırılmış SCE frekansının azaldığı görülmektedir. Ayrıca bu üç kombin uygulamanın hücre başına SCE frekansı değerleri kontrol grubu ile de karşılaştırılmıştır. Bu üç kombin uygulamanın üçünün de SCE frekansları, kontrol grubundan istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde yüksektir ($p \leq 0,001$).

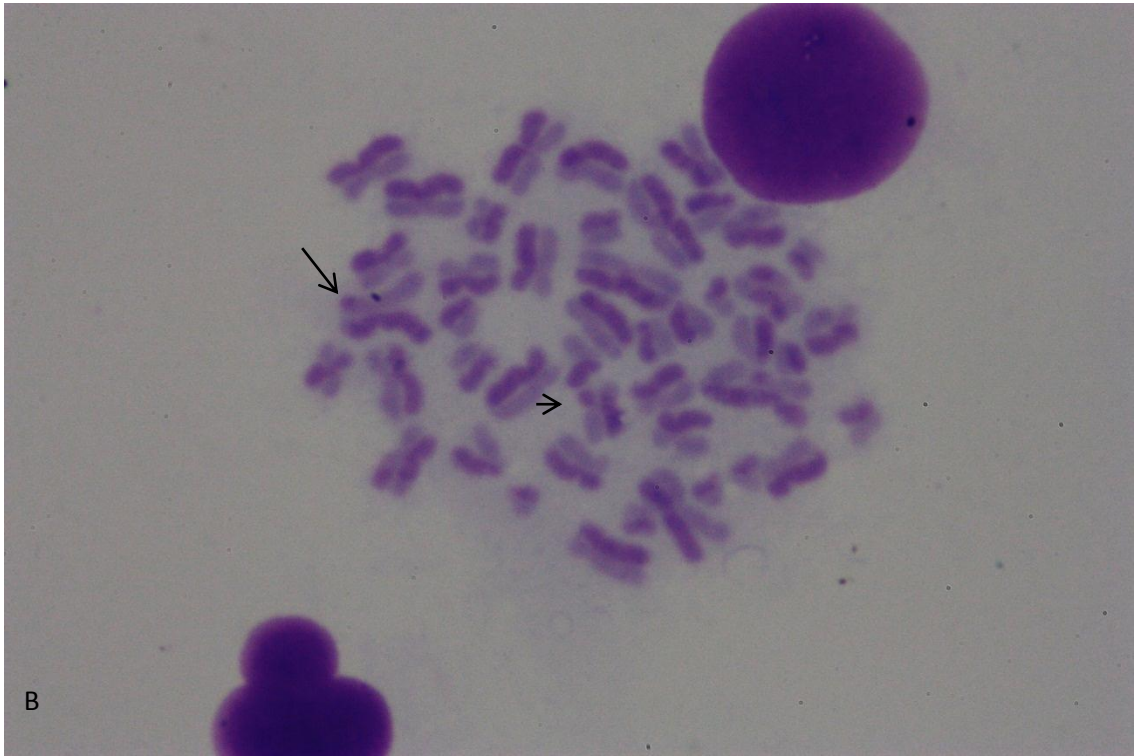
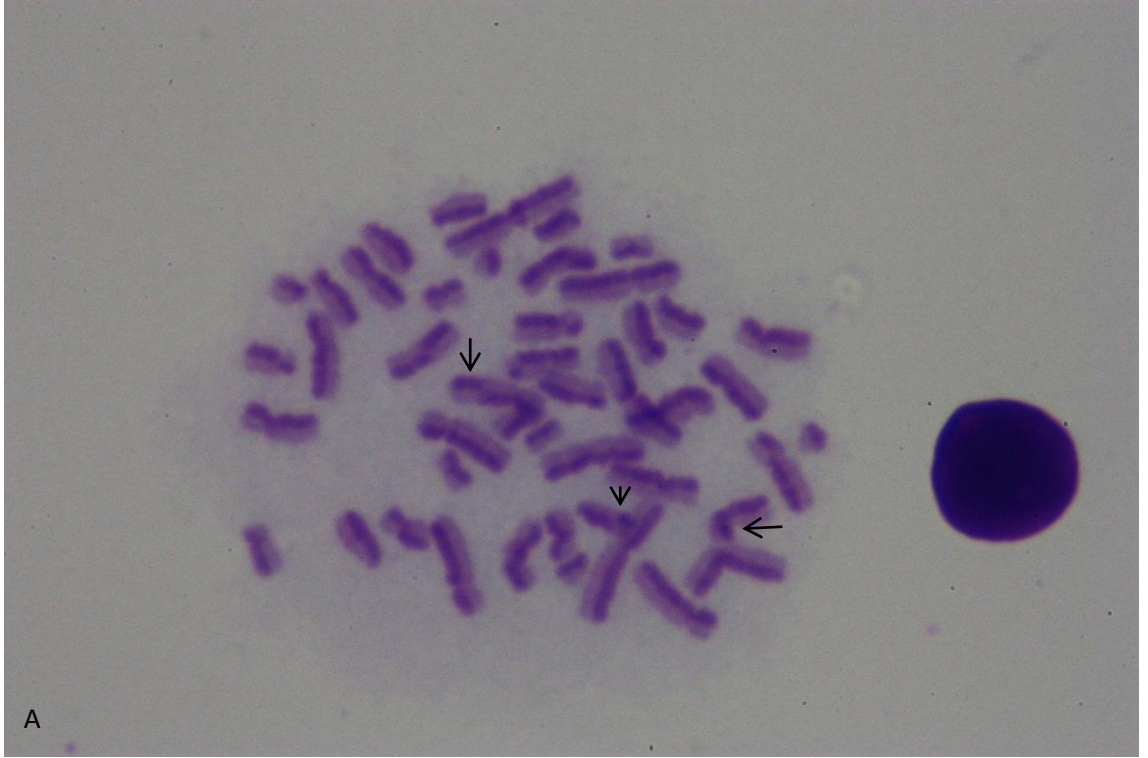
Bulgular Kromozom başına düşen SCE frekansları açısından da değerlendirilmiştir. Kromozom başına düşen SCE frekansı değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Kontrol grubunda kromozom başına SCE frekansı $0,114 \pm 0,014$ olarak belirlenmiştir. EtOH grubu için aynı parametrenin değeri ise $0,124 \pm 0,016$ olarak belirlenmiştir. $0,5 \mu\text{g/mL}$ KAR, $1 \mu\text{g/mL}$ KAR ve $2 \mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında kromozom başına SCE frekansları ise sırasıyla; $0,126 \pm 0,021$; $0,125 \pm 0,011$ ve $0,123 \pm 0,017$ olarak belirlenmiştir. EtOH grubu ve üç farklı KAR uygulama grupları ayrı ayrı kontrol grubu ile karşılaştırıldığında kromozom başına düşen SCE değerleri açısından istatistiki olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$).

Yine kromozom başına düşen SCE frekansı açısından MMC grubunun değeri $0,720 \pm 0,052$ *SKF grubunun değeri ise $0,594 \pm 0,027$ şeklinde bulunmuştur. Bu değerler, kontrol grubunun kromozom başına düşen SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında, hem MMC hem de *SKF uygulamalarının kromozom başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde yükselttiği belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalardan MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$ KAR, MMC + $1 \mu\text{g/mL}$ KAR ve MMC + $2 \mu\text{g/mL}$ KAR gruplarının kromozom başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla; $0,531 \pm 0,009$; $0,454 \pm 0,011$; $0,392 \pm 0,017$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler tek başına MMC uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında sadece $2 \mu\text{g/mL}$ KAR dozunun MMC tarafından artırılmış kromozom başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,05$). Bu üç kombin uygulama dozlarının, kromozom başına düşen SCE frekanslarının değerleri birbirleri ile de karşılaştırılmıştır. MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$ KAR uygulama grubunun kromozom başına düşen SCE frekansı diğer iki kombin gruptan istatistiksel olarak anlamlı düzeyde farklı iken ($p \leq 0,005$). MMC + $1 \mu\text{g/mL}$ KAR ve MMC + $2 \mu\text{g/mL}$ KAR uygulamalarının kromozom başına düşen SCE frekansları arasında ise istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir ($p > 0,05$). Bu üç kombin uygulama grubunun, kromozom başına SCE frekansı değerleri, kontrol grubunun SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında ise her üç grubun da SCE değerlerinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Kombin uygulamalardan *SKF + 0,5 µg/mL KAR, *SKF + 1 µg/mL KAR ve *SKF + 2 µg/mL KAR gruplarının kromozom başına düşen SCE frekansı değerleri sırasıyla $0,390 \pm 0,013$; $0,364 \pm 0,010$; $0,239 \pm 0,004$ şeklinde belirlenmiştir. Bu değerler tek başına *SKF uygulamasının değerleri ile karşılaştırıldığında her üç KAR dozunun da *SKF tarafından arttırılmış kromozom başına düşen SCE frekansını istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,005$). Bu üç kombin uygulama dozlarının, kromozom başına düşen SCE frekanslarının değerleri birbirleri ile de karşılaştırılmıştır.

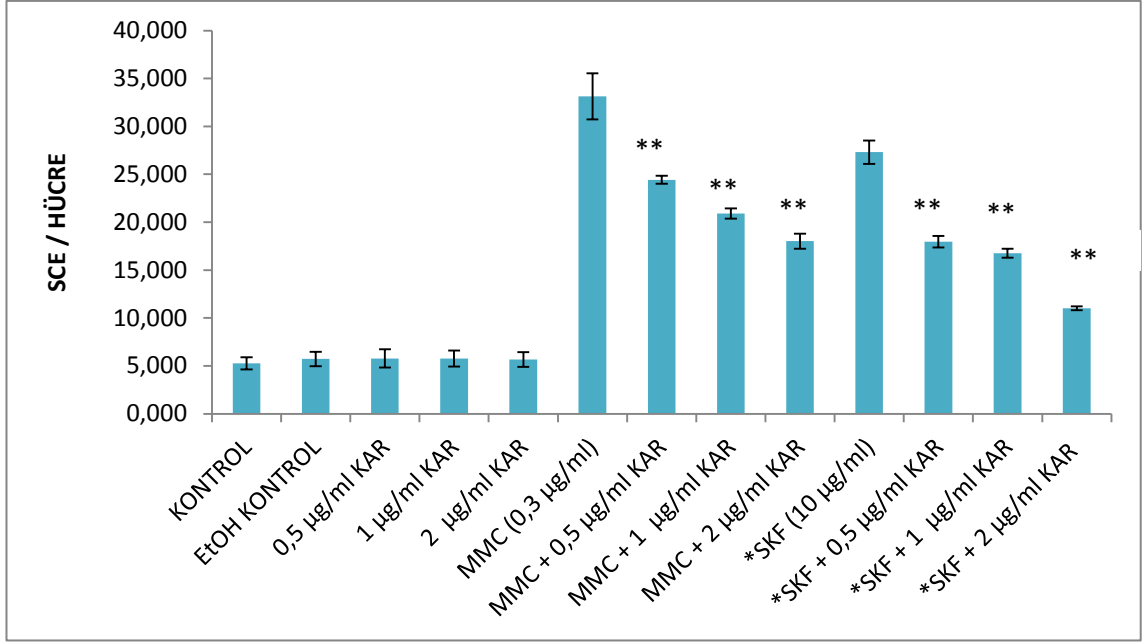
*SKF + 2 µg/mL KAR uygulama grubunun kromozom başına SCE frekansının, *SKF + 0,5 µg/mL KAR ve *SKF + 1 µg/mL KAR grubunun kromozom başına SCE frekansından istatistiki olarak anlamlı düzeyde düşük olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,005$). *SKF + 0,5 µg/mL KAR ve *SKF + 1 µg/mL KAR gruplarının kromozom başına SCE frekansları açısından istatistiksel olarak birbirlerinden farklı olmadığı belirlenmiştir ($p > 0,05$). Bu üç kombin uygulama grubunun, kromozom başına SCE frekansı değerleri, kontrol grubunun SCE frekansı değerleri ile karşılaştırıldığında ise her üç grubun da SCE değerlerinin istatistiki olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlenmiştir ($p \leq 0,01$).



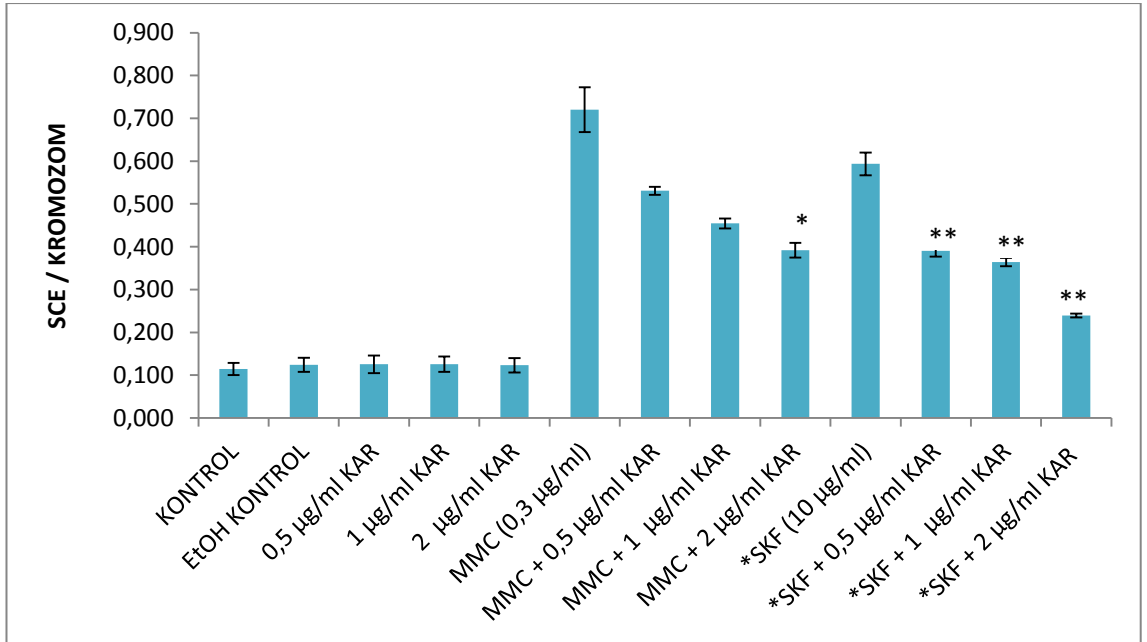
Şekil 4. 62. KAR için *in vitro* SCE testi sonunda hazırlanan preparatlardan elde edilen mikroskobik görüntü örneği (X100). A) *SKF + 2 µg/mL KAR preparatından elde edilmiş bir görüntü B) 2 µg/mL KAR preparatından elde edilmiş bir görüntü. Oklar SCE'leri işaret etmektedir.

Çizelge 4.18. KAR uygulamaların *in vitro* SCE testi bulguları. SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, EtOH: Etanol, KAR: Karnosik asit, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosfamid, SS: Standart sapma. ^a: Kendi kontrolü olan MMC grubu ile karşılaştırılmıştır, b; Kendi kontrolü olan *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır (p ≤ 0,001). ^{a*}; p ≤ 0,05, ^{b*}; p ≤ 0,005

	Donör 1 ± SS	Donör 2 ± SS	Donör 3 ± SS	Donör 4 ± SS	SCE / Hücre ortalama ± SS	SCE/ kromozom ortalama ± SS
KONTROL	5,333 ± 1,174	6,017 ± 1,490	5,267 ± 1,745	4,433 ± 0,909	5,263 ± 0,648	0,114 ± 0,014
EtOH KONTROL	6,100 ± 1,612	6,450 ± 2,135	5,583 ± 1,720	4,733 ± 1,376	5,717 ± 0,746	0,124 ± 0,016
0,5 µg/mL KAR	7,000 ± 1,878	6,067 ± 1,676	5,000 ± 2,107	5,050 ± 1,556	5,779 ± 0,951	0,126 ± 0,021
1 µg/mL KAR	6,483 ± 1,557	6,317 ± 1,479	4,667 ± 1,791	5,617 ± 1,967	5,771 ± 0,826	0,125 ± 0,011
2 µg/mL KAR	6,767 ± 1,370	5,100 ± 1,744	5,183 ± 1,827	5,633 ± 1,583	5,671 ± 0,767	0,123 ± 0,017
MMC (0,3 µg/mL)	35,350 ± 3,714	34,667 ± 6,286	32,467 ± 5,973	30,050 ± 5,835	33,133 ± 2,396	0,720 ± 0,052
MMC + 0,5 µg/mL KAR	24,017 ± 3,078	25,000 ± 2,780	24,217 ± 3,489	24,450 ± 3,851	24,421 ± 0,425 ^a	0,531 ± 0,009
MMC + 1 µg/mL KAR	21,267 ± 4,960	21,150 ± 4,054	20,133 ± 3,149	21,067 ± 3,522	20,904 ± 0,520 ^a	0,454 ± 0,011
MMC + 2 µg/mL KAR	18,750 ± 4,516	17,167 ± 3,142	17,550 ± 2,607	18,617 ± 3,179	18,021 ± 0,783 ^a	0,392 ± 0,017 ^{a*}
*SKF (10 µg/mL)	28,800 ± 4,368	26,733 ± 4,532	27,700 ± 4,659	25,983 ± 5,163	27,304 ± 1,220	0,594 ± 0,027
SKF + 0,5 µg/mL KAR	17,283 ± 2,853	18,600 ± 4,239	18,300 ± 2,770	17,617 ± 3,168	17,950 ± 0,606 ^b	0,390 ± 0,013 ^{b}
SKF + 1 µg/mL KAR	17,317 ± 1,927	16,933 ± 2,414	16,283 ± 2,617	16,500 ± 2,063	16,758 ± 0,460 ^b	0,364 ± 0,010 ^{b}
SKF + 2 µg/mL KAR	11,117 ± 2,034	10,800 ± 2,057	10,917 ± 3,016	11,233 ± 2,925	11,017 ± 0,195 ^b	0,239 ± 0,004 ^{b}

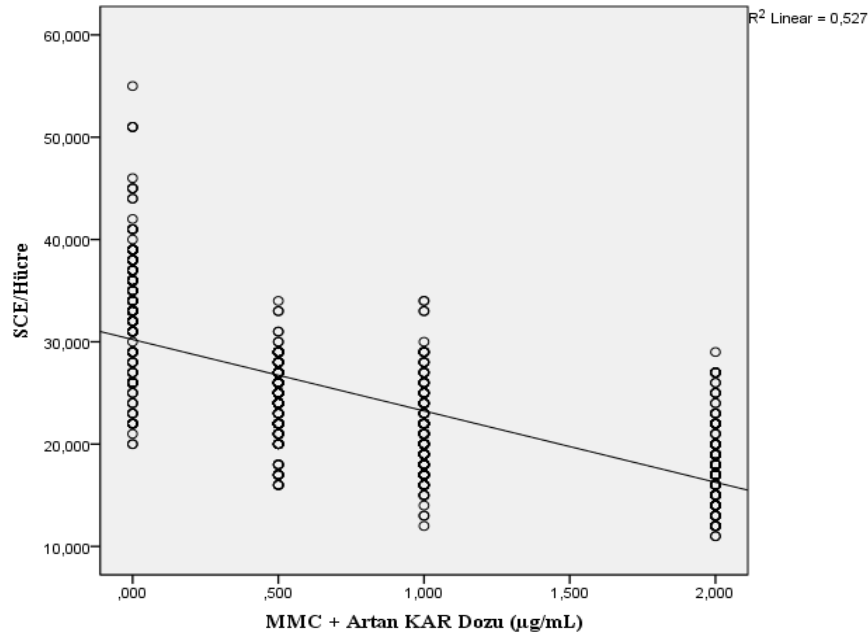


Şekil 4.63. KAR için *In vitro* SCE deneylerinde Hücre başına düşen ortalama SCE frekansları. SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, EtOH: Etanol, KAR: Karnosik asit, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **, $p \leq 0,001$.

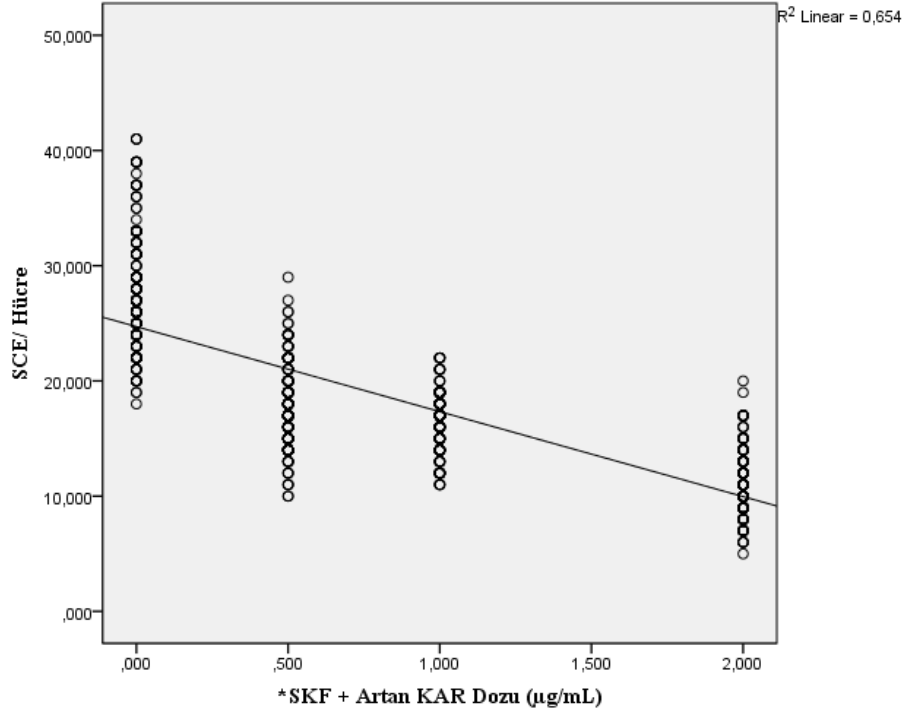


Şekil 4.64. KAR için *In vitro* SCE deneylerinde Kromozom başına düşen ortalama SCE frekansları. SCE: Kardeş Kromatid Değişimi, EtOH: Etanol, KAR: Karnosik asit, MMC: Mitomisin C, *SKF: 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **, $p \leq 0,005$. *, $p \leq 0,05$.

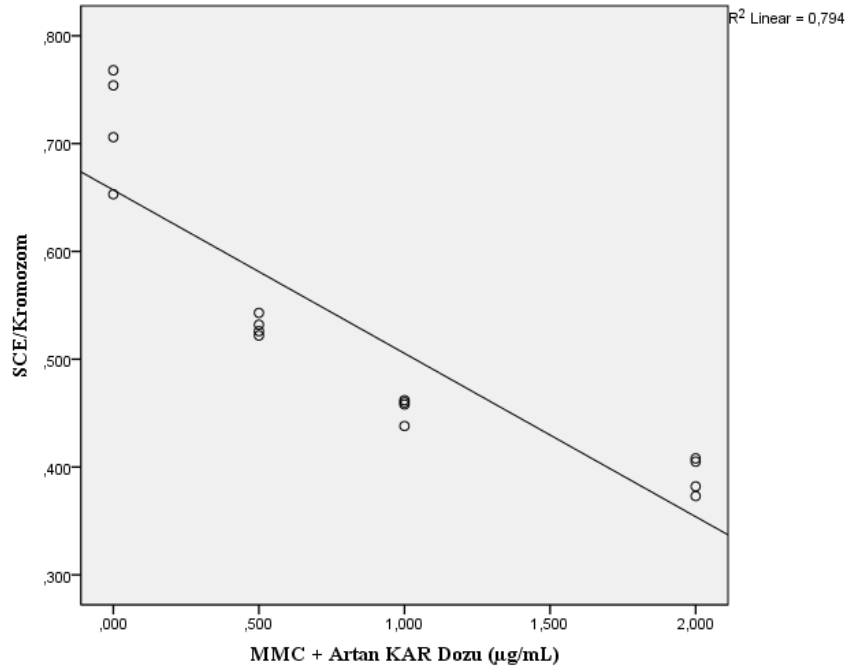
Ayrıca MMC ve *SKF tarafından indüklenen Hücre başına SCE frekanslarının KAR tarafından indirgenmesinde artan KAR dozlarının etkisi regresyon analizi ile incelenmiştir. Sonuç olarak MMC ve *SKF tarafından indüklenen Hücre başına SCE frekanslarının artan KAR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). MMC + KAR dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.65'te gösterilmiştir. Bu eğrinin denklemi $y = 30,225 - 6,977 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,527$) şeklinde belirlenmiştir. *SKF + KAR dozları için elde edilen regresyon eğrisi Şekil 4.66'da gösterilmiştir. Bu eğrinin denklemi ise $y = 24,711 - 7,375 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,653$) şeklinde belirlenmiştir. Benzer olarak MMC ve *SKF tarafından indüklenen Kromozom başına SCE frekanslarının da artan KAR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$). Kromozom başına SCE frekansları açısından MMC + KAR dozlarının regresyon eğrisi Şekil 4.67'de gösterilmiştir. Bu eğrinin denklemi $y = 0,657 - 0,152 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,794$) şeklinde belirlenmiştir. Yine kromozom başına SCE frekansları açısından *SKF + KAR dozlarının regresyon eğrisi Şekil 4.68'de gösterilmiştir. Bu eğrinin denklemi $y = 0,537 - 0,16 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,861$) şeklinde belirlenmiştir.



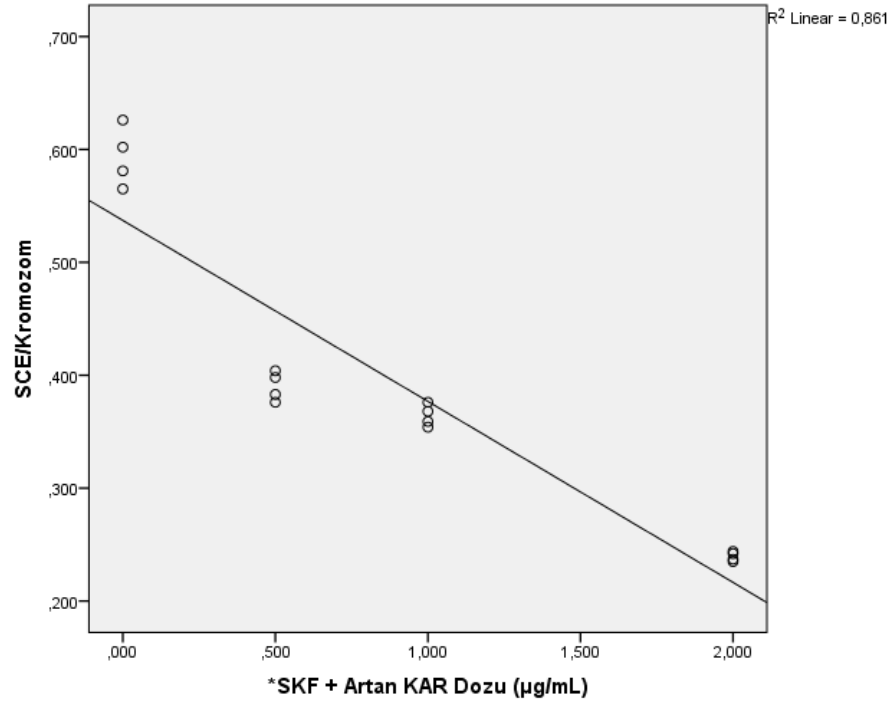
Şekil 4.65. MMC tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. MMC; Mitomisin C, SCE; Kardeş Kromatid Değişimi, KAR; Karnosik asit.



Şekil 4.66. *SKF tarafından indüklenen SCE/Hücre frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, SCE; Kardeş Kromatid Değişimi, KAR; Karnosik asit,



Şekil 4.67. MMC tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. SCE; Kardeş Kromatid Değişimi. KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C,



Şekil 4.68. *SKF tarafından indüklenen SCE/Kromozom frekansı üzerine artan KAR dozunun etkisi. *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, SCE; Kardeş Kromatid Değişimi, KAR; Karnosik asit.

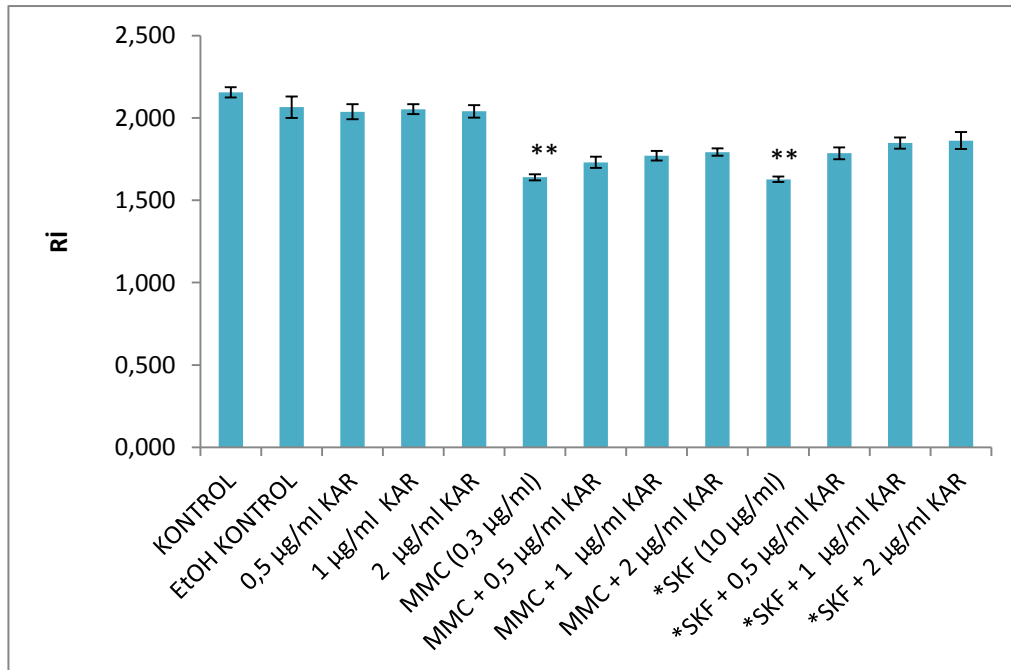
In vitro SCE uygulamalarının bulguları içerisinde bulunan bir diğer parametre ise replikatif indeks (Rİ) değeridir. KAR uygulamaları için Ortalama Rİ bulguları Çizelge 4.20 ve Şekil 4.69'da özetlenmiştir.

Rİ değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirilmiştir. Buna göre kontrol grubunun Rİ değeri $2,155 \pm 0,031$ olarak belirlenmiştir. EtOH grubunun Rİ değeri ise $2,065 \pm 0,065$ olarak belirlenmiştir. 0,5, 1, 2 µg/mL KAR uygulamaları için Rİ değeri sırasıyla; $2,038 \pm 0,045$; $2,053 \pm 0,030$; $2,040 \pm 0,037$ olarak belirlenmiştir. Tüm grupların Rİ değerlerinin kontrol grubu ile karşılaştırılması sonucunda, MMC ve *SKF uygulamalarının Rİ değerini istatistiki olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlenmiştir ($p \leq 0,001$).

Çizelge 4. 19. KAR *in vitro* SCE uygulamalarının ortalama Rİ değerleri.

Rİ: Replikatif İndeks (Herbir grup için 4 donör iki tekrar olan uygulamaların ortalamaları verilmiştir), M1; Mitoz 1, M2; Mitoz 2, M3; Mitoz 3 (Her bir grup için 4 donör iki tekrar olan uygulamaların toplam değerleri verilmiştir), EtOH; Etanol, KAR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid.

	M 1	M 2	M 3	Ortalama Rİ ± SS
KONTROL	204	268	328	2,155 ± 0,031
EtOH KONTROL	248	252	300	2,065 ± 0,065
0,5 µg/mL KAR	256	258	286	2,038 ± 0,045
1 µg/mL KAR	260	238	302	2,053 ± 0,030
2 µg/mL KAR	258	252	290	2,040 ± 0,037
MMC (0,3 µg/mL)	388	312	100	1,640 ± 0,018
MMC + 0,5 µg/mL KAR	370	276	154	1,730 ± 0,034
MMC + 1 µg/mL KAR	366	252	182	1,770 ± 0,029
MMC + 2 µg/mL KAR	370	226	204	1,793 ± 0,022
*SKF (10 µg/mL)	398	302	100	1,628 ± 0,017
*SKF + 0,5 µg/mL KAR	338	296	166	1,785 ± 0,035
*SKF + 1 µg/mL KAR	346	230	224	1,848 ± 0,034
*SKF + 2 µg/mL KAR	344	222	234	1,863 ± 0,051



Şekil 4. 69. KAR *in vitro* SCE uygulamalarının ortalama Rİ değerleri.

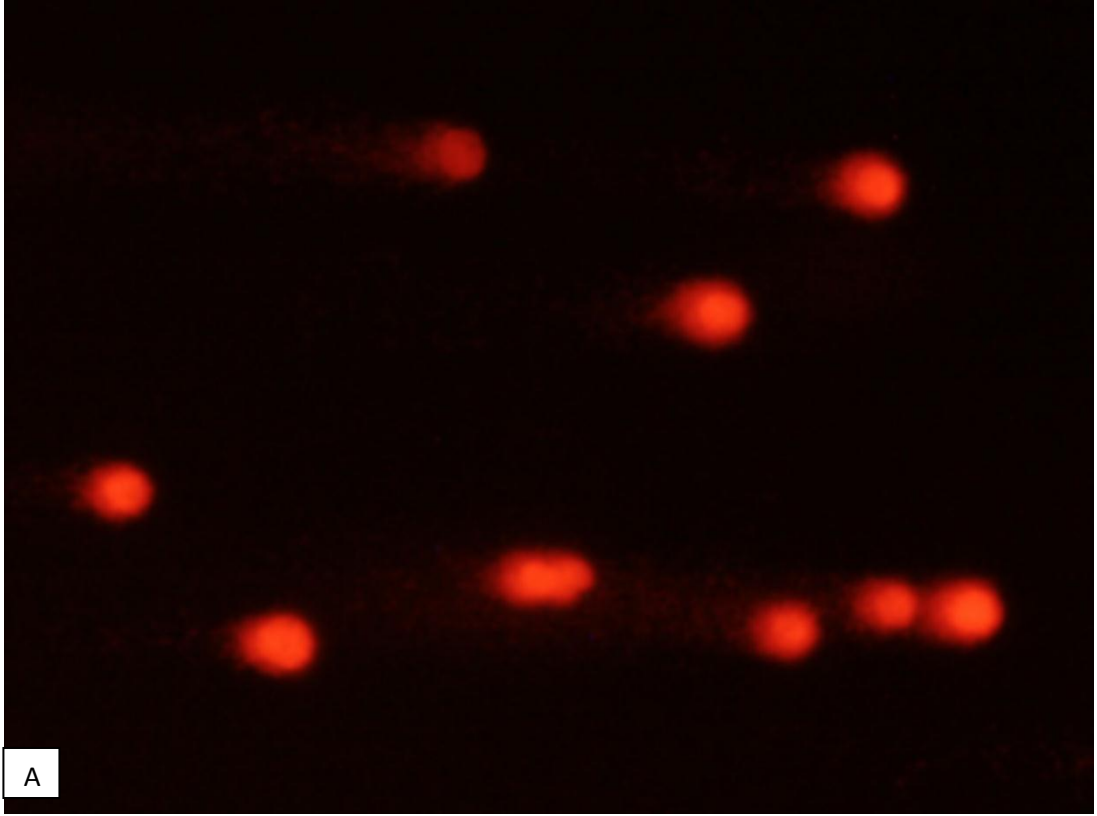
Rİ: Replikatif İndeks, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Kontrol grubu ile karşılaştırılmıştır. **, p ≤ 0,001.

4.2.8. TYR uygulamaları için *İn vitro* Komet testi bulguları

İn vitro komet testi Bulguları içerisinde Kuyruk uzunluğu (K.U.) (μm), Kuyruk %DNA (K.%DNA) ve Olive Kuyruk Momenti (OTM; Olive Tail Moment) parametreleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin ortalama değerleri Çizelge 4.21’de verilmiştir. TYR uygulamaları için gerçekleştirilen *İn vitro* komet testinde elde edilen mikroskobik görüntü örnekleri Şekil 4.70’te gösterilmiştir.

Çizelge 4.20. TYR uygulamalarının *İn vitro* komet testi bulguları. K.U.; Kuyruk Uzunluğu (μm), K.%DNA; Kuyruk %DNA miktarı, OTM; Olive Kuyruk Momenti. TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. ^a; *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır ($p \leq 0,001$). Verilen değerler her bir grup için toplam 400 hücre incelemesinden elde edilen ortalama değerlerdir.

	K.U. \pm SS	K. % DNA \pm SS	OTM \pm SS
KONTROL	15,318 \pm 1,667	6,247 \pm 1,006	0,279 \pm 0,081
EtOH KONTROL	15,538 \pm 1,913	6,397 \pm 1,452	0,289 \pm 0,114
0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR	15,385 \pm 2,175	6,204 \pm 1,150	0,281 \pm 0,088
1 $\mu\text{g/mL}$ TYR	15,615 \pm 2,008	6,055 \pm 1,095	0,269 \pm 0,083
2 $\mu\text{g/mL}$ TYR	15,398 \pm 2,209	5,840 \pm 1,259	0,280 \pm 0,089
MMC (0,3 $\mu\text{g/mL}$)	15,695 \pm 2,203	6,149 \pm 1,358	0,296 \pm 0,097
MMC + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR	15,125 \pm 2,068	6,344 \pm 1,121	0,289 \pm 0,090
MMC + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR	15,488 \pm 2,089	6,322 \pm 1,241	0,296 \pm 0,093
MMC + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR	15,375 \pm 2,046	6,399 \pm 1,294	0,294 \pm 0,087
*SKF (10 $\mu\text{g/mL}$)	65,745 \pm 5,245	52,773 \pm 5,900	20,389 \pm 3,547
*SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$ TYR	46,980 \pm 7,128 ^a	37,238 \pm 6,336 ^a	12,481 \pm 2,893 ^a
*SKF + 1 $\mu\text{g/mL}$ TYR	36,435 \pm 8,109 ^a	25,477 \pm 7,834 ^a	6,463 \pm 3,844 ^a
*SKF + 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR	37,910 \pm 7,179 ^a	31,928 \pm 5,609 ^a	10,640 \pm 2,860 ^a

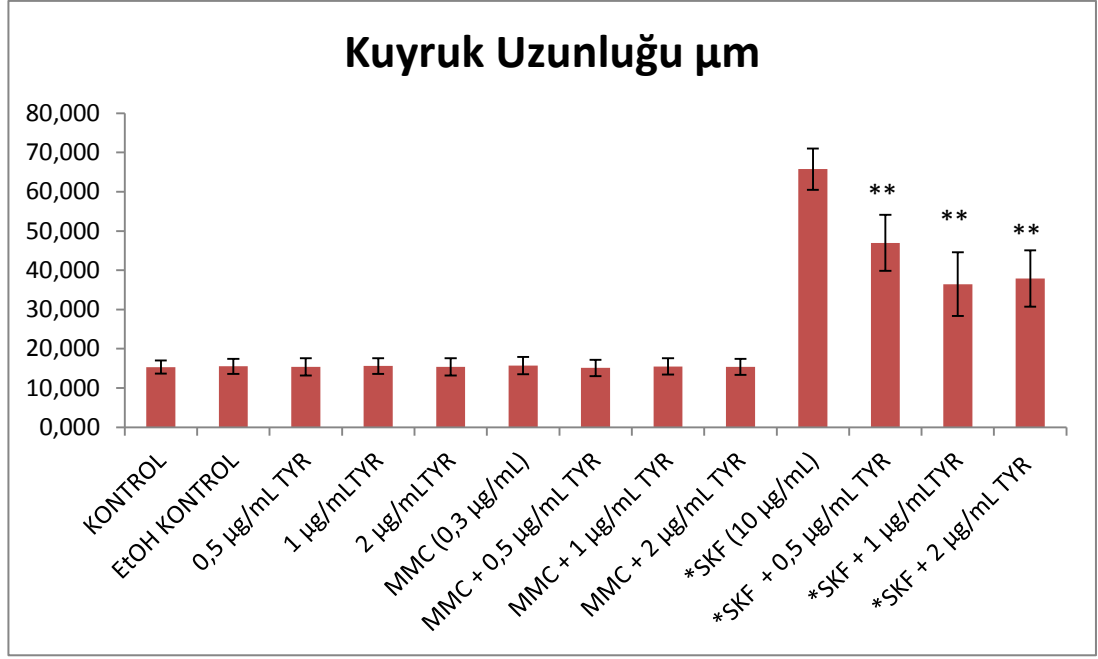


Şekil 4.70. *In vitro* TYR uygulamaları için hazırlanan komet preparatlarından elde edilen mikroskopik görüntü örneği (20X). A) *SKF uygulamasından elde edilen bir görüntü örneği B) *SKF + 2 µg/mL TYR uygulamasından elde edilmiş bir görüntü örneği.

In vitro komet testinde değerlendirilen parametreler içerisinde K.U. değerlerinden elde edilen grafik Şekil 3.71’de gösterilmiştir. K.U. değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane’s T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama K.U. değerleri (μm), kontrol grubunda $15,318 \pm 1,667$, EtOH grubunda $15,538 \pm 1,913$ olarak belirlendi. Yine ortalama K.U. değeri, $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında ise sırasıyla, $15,385 \pm 2,175$; $15,615 \pm 2,008$ ve $15,398 \pm 2,209$ olarak belirlendi. Bu beş grubun kendi aralarındaki istatistiksel karşılaştırmalarında anlamlı düzeyde bir farklılık belirlenemedi ($p > 0,05$).

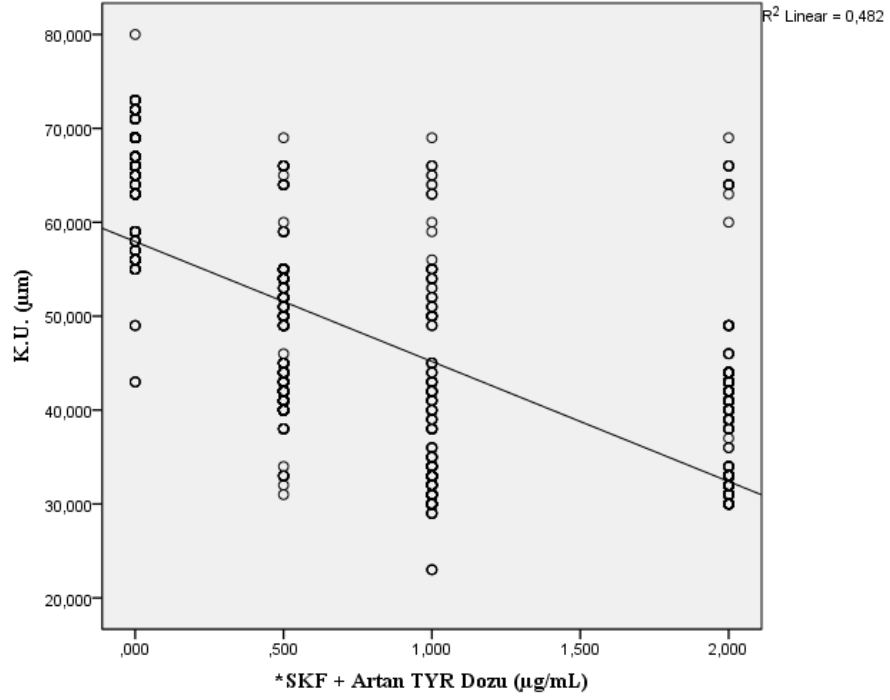
Ortalama K.U. değerleri MMC grubunda $15,695 \pm 2,203$ olarak belirlendi. MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında ise sırasıyla, $15,125 \pm 2,068$; $15,488 \pm 2,089$ ve $15,375 \pm 2,046$ olarak belirlendi. Bu dört grupta istatistiksel olarak hem kendi aralarında hem de kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, K.U. değerleri açısından grupların arasında anlamlı bir fark belirlenemedi ($p > 0,05$).

K.U. değeri *SKF grubunda ise $65,745 \pm 5,245$ olarak belirlendi. *SKF grubunun K.U. değerleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, *SKF uygulamasının K.U. değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde indüklediği belirlendi ($p \leq 0,001$). K.U. değerleri *SKF + $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında ise sırasıyla, $46,980 \pm 7,128$; $36,435 \pm 8,109$ ve $37,910 \pm 7,179$ olarak belirlendi. Bu değerler *SKF grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da *SKF tarafından artırılmış olan K.U. değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K.U. değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.71. TYR için *İn vitro* komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk Uzunluğu (µm) değerleri. EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

Ayrıca *SKF tarafından arttırılan, Komet Kuyruk uzunluğu değerlerinin, *SKF + TYR uygulama gruplarında artan TYR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan kuyruk uzunluğu değerlerinin artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 57,944 - 12,773 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,482$) olan regresyon eğrisi Şekil 4.72 'de gösterilmiştir.

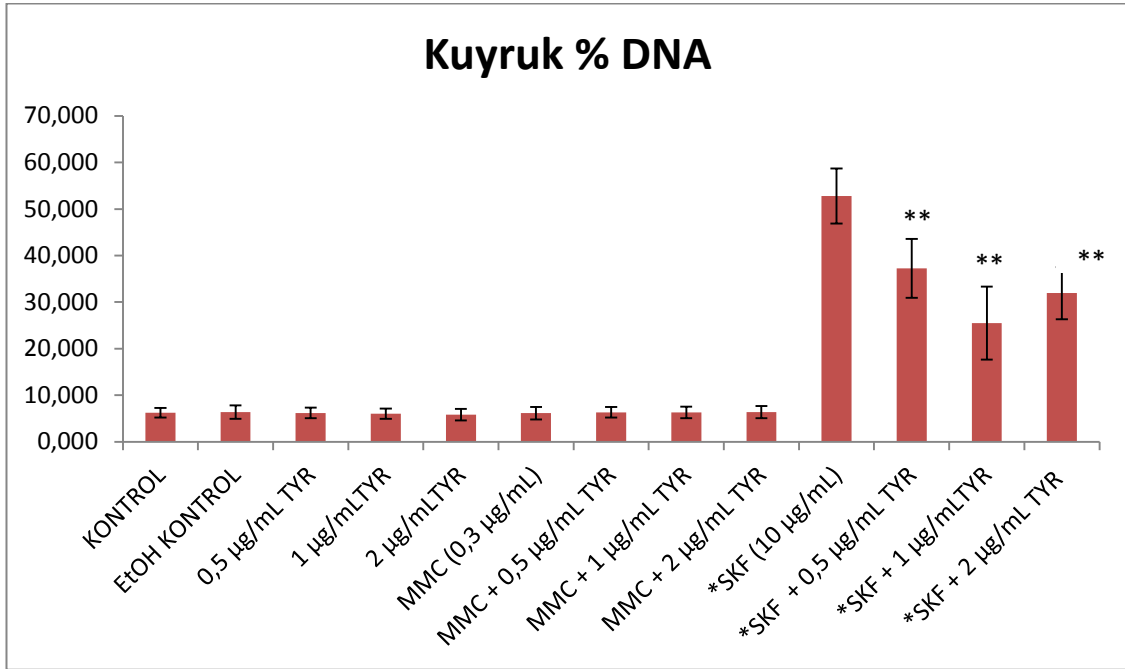


Şekil 4.72. *İn vitro*'da *SKF tarafından indüklenen K.U. frekansına artan TYR dozunun etkisi. K.U.; Kuyruk Uzunluğu (μm) değerleri, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid, TYR; Tyrosol.

İn vitro komet testinde değerlendirilen bir diğer parametre ise Kuyruk % DNA içeriği (K.%DNA) parametresidir. K.%DNA değerleri Şekil 4.73'te gösterilmiştir. K.%DNA değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama K.%DNA değerleri, kontrol grubunda, $6,397 \pm 1,452$, EtOH grubunda $6,247 \pm 1,006$ olarak belirlendi. Yine ortalama K.%DNA değerleri, 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında ise sırasıyla, $6,204 \pm 1,150$; $6,055 \pm 1,095$ ve $5,840 \pm 1,259$ olarak belirlendi. Bu beş grubun kendi aralarındaki istatistiksel karşılaştırmalarında anlamlı düzeyde bir farklılık belirlenemedi ($p > 0,05$).

Ortalama K.%DNA değerleri MMC grubunda $6,149 \pm 1,358$ olarak belirlendi. MMC + 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında ise sırasıyla, $6,344 \pm 1,121$; $6,322 \pm 1,241$ ve $6,399 \pm 1,294$ olarak belirlendi. Bu dört grupta istatistiksel olarak hem kendi aralarında hem de kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, K.%DNA değerleri açısından grupların arasında anlamlı bir fark belirlenemedi ($p > 0,05$).

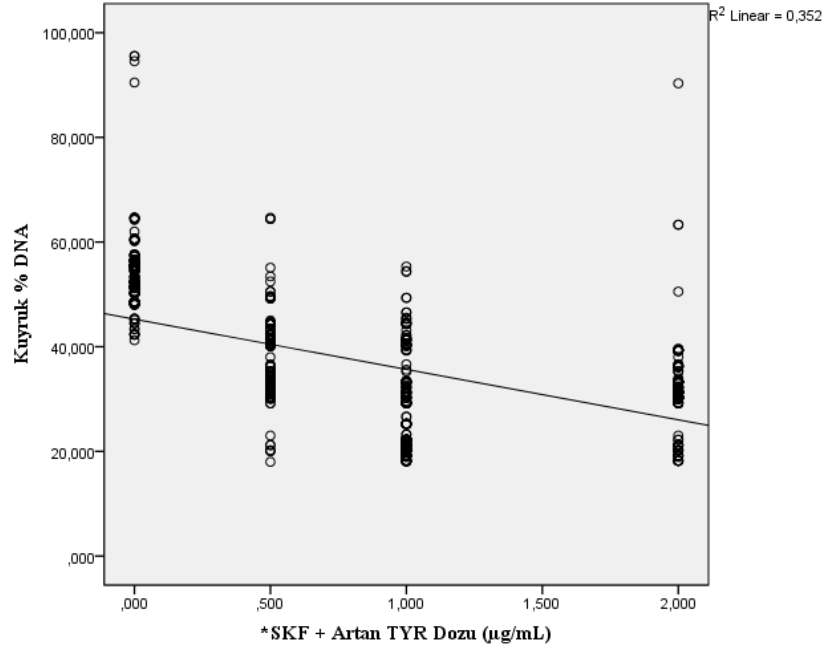
K.%DNA değeri *SKF grubunda ise $52,773 \pm 5,900$ olarak belirlendi. *SKF grubunun K.%DNA değerleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, *SKF uygulamasının K.%DNA değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde indüklediği belirlendi ($p \leq 0,001$). K.%DNA değerleri *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında ise sırasıyla, $37,238 \pm 6,336$; $25,477 \pm 7,834$ ve $31,928 \pm 5,609$ olarak belirlendi. Bu değerler *SKF grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da *SKF tarafından arttırılmış olan K.%DNA değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K.%DNA değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.73. TYR için *In vitro* komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk % DNA değerleri. EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

Ayrıca *SKF tarafından arttırılan, K.%DNA değerlerinin, *SKF + TYR uygulama gruplarında artan TYR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan K.%DNA

değerlerinin artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 45,269 - 9,617 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,352$) olan regresyon eğrisi Şekil 4.74 'te gösterilmiştir.



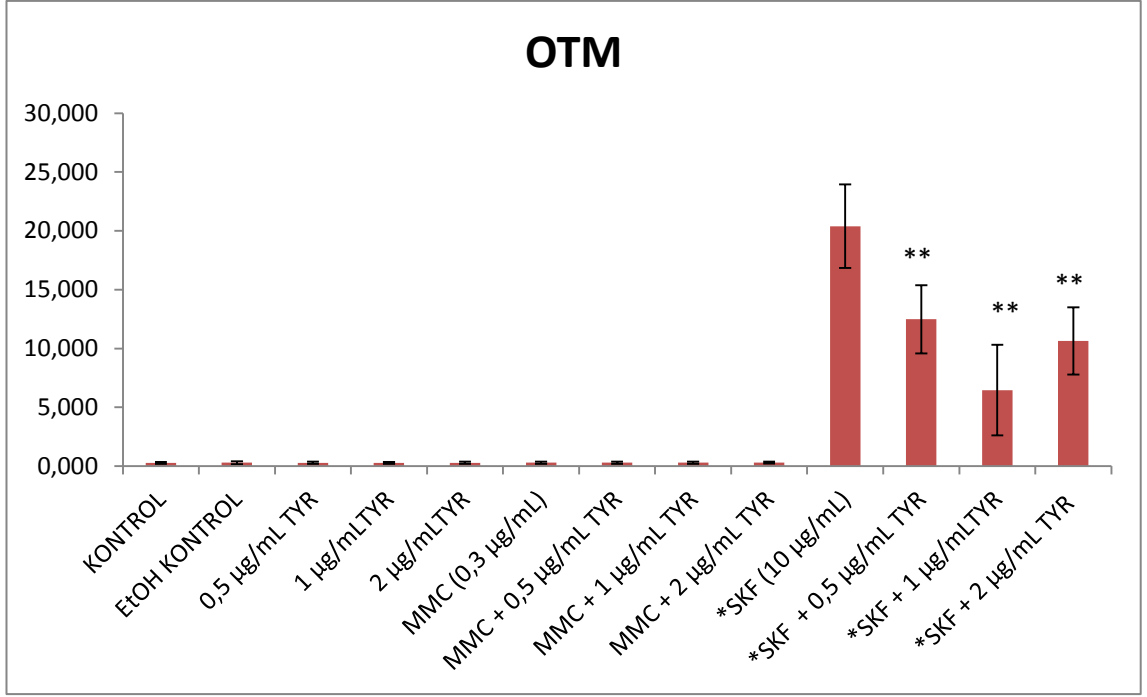
Şekil 4.74. *İn vitro*'da *SKF tarafından indüklenen K.% DNA frekansına artan TYR dozunun etkisi. K.; Kuyruk, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, TYR; Tyrosol.

İn vitro komet testinde değerlendirilen son parametre ise Olive Tail Moment (OTM; Olive Kuyruk momenti) parametresidir. OTM değerleri Şekil 4.75'te gösterilmiştir. OTM değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama OTM değerleri, kontrol grubunda, $0,279 \pm 0,081$, EtOH grubunda ise $0,289 \pm 0,114$ olarak belirlendi. Yine ortalama OTM değerleri, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL ve 2 µg/mL TYR gruplarında ise sırasıyla, $0,281 \pm 0,088$; $0,269 \pm 0,083$ ve $0,280 \pm 0,089$ olarak belirlendi. Bu beş grubun kendi aralarındaki istatistiksel karşılaştırmalarında anlamlı düzeyde bir farklılık belirlenemedi ($p > 0,05$).

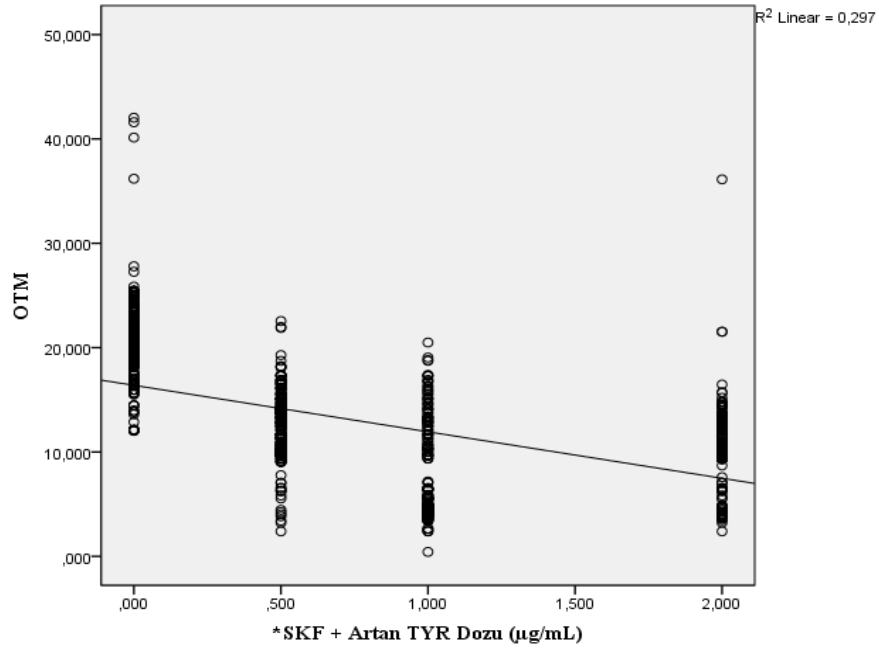
Ortalama OTM değerleri MMC grubunda $0,296 \pm 0,097$ olarak belirlendi. MMC + 0,5 µg/mL, 1 µg/mL ve 2 µg/mL TYR gruplarında ise sırasıyla $0,289 \pm 0,090$; $0,296 \pm 0,093$ ve $0,294 \pm 0,087$ olarak belirlendi. Bu dört grupta istatistiksel olarak hem kendi aralarında hem de kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, OTM değerleri açısından grupların arasında anlamlı bir fark belirlenemedi ($p > 0,05$).

OTM değeri *SKF grubunda ise $20,389 \pm 3,547$ olarak belirlendi. *SKF grubunun OTM değerleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, *SKF uygulamasının OTM değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde indüklediği belirlendi ($p \leq 0,001$). OTM değerleri *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ ve 2 $\mu\text{g/mL}$ TYR gruplarında ise sırasıyla, $12,481 \pm 2,893$; $6,463 \pm 3,844$ ve $10,640 \pm 2,860$ olarak belirlendi. Bu değerler *SKF grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç TYR uygulamasının da *SKF tarafından arttırılmış olan OTM değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun OTM değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).

Ayrıca *SKF tarafından arttırılan, OTM değerlerinin, *SKF + TYR uygulama gruplarında artan TYR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan OTM değerlerinin artan TYR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 16,39 - 4,454 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,297$) olan regresyon eğrisi Şekil 4.76 'da gösterilmiştir.



Şekil 4.75. TYR için *İn vitro* komet testinde elde edilen ortalama OTM değerleri. OTM; Olive Kuyruk Momenti, EtOH; Etanol, TYR; Tyrosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.



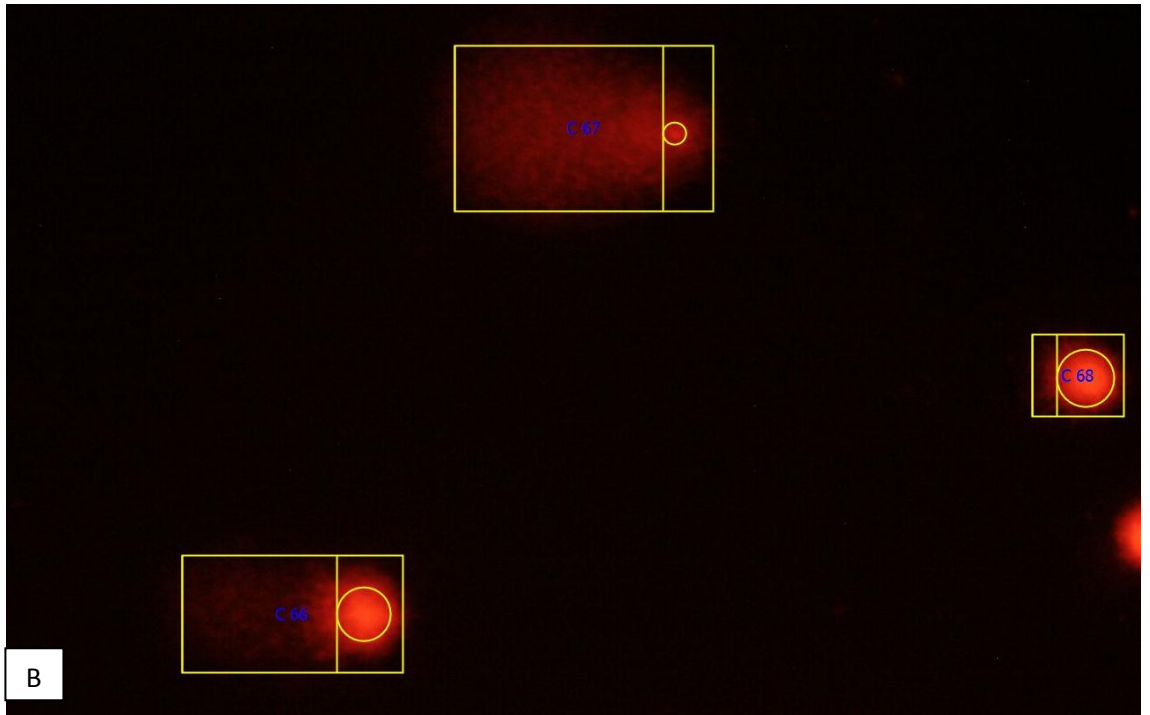
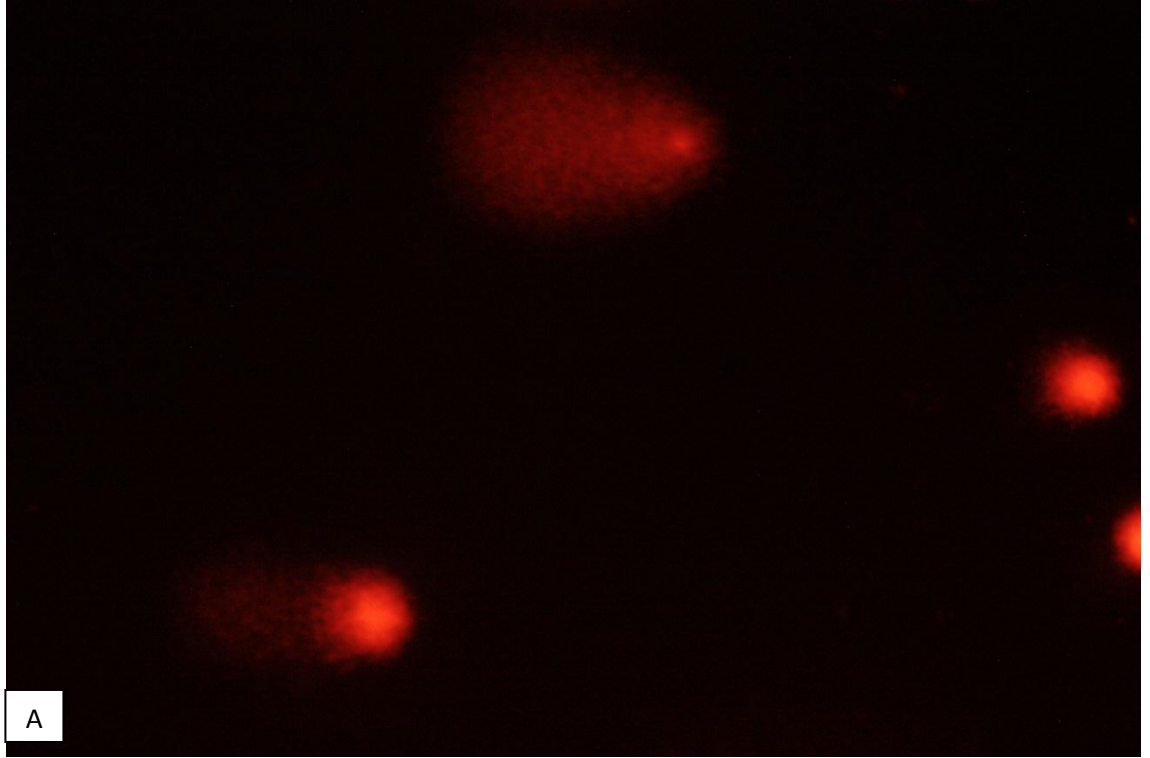
Şekil 4.76. *İn vitro*'da *SKF tarafından indüklenen OTM frekansına artan TYR dozunun etkisi. OTM; Olive Kuyruk Momenti, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid, TYR; Tyrosol.

4.2.9. KAR uygulamaları için *in vitro* Komet testi bulguları

In vitro komet testi Bulguları içerisinde Kuyruk uzunluğu (K.U.) (μm), Kuyruk %DNA (K.%DNA) ve Olive Kuyruk Momenti (OTM: Olive Tail Moment) parametreleri değerlendirilmiştir. Elde edilen verilerin ortalama değerleri Çizelge 4.22’de verilmiştir. KAR uygulamaları için gerçekleştirilen *In vitro* komet testinde elde edilen mikroskobik görüntü örnekleri Şekil 4.77’de gösterilmiştir.

Çizelge 4.21. KAR uygulamalarının *In vitro* komet testi bulguları. K.U.; Kuyruk Uzunluğu (μm), K.%DNA; Kuyruk %DNA miktarı, OTM; Olive Kuyruk Momenti. KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. ^a; Kontrol grubu ile ^b; *SKF grubu ile karşılaştırılmıştır ($p \leq 0,001$). Verilen değerler her bir grup için toplam 400 hücre incelemesinden elde edilen ortalama değerlerdir.

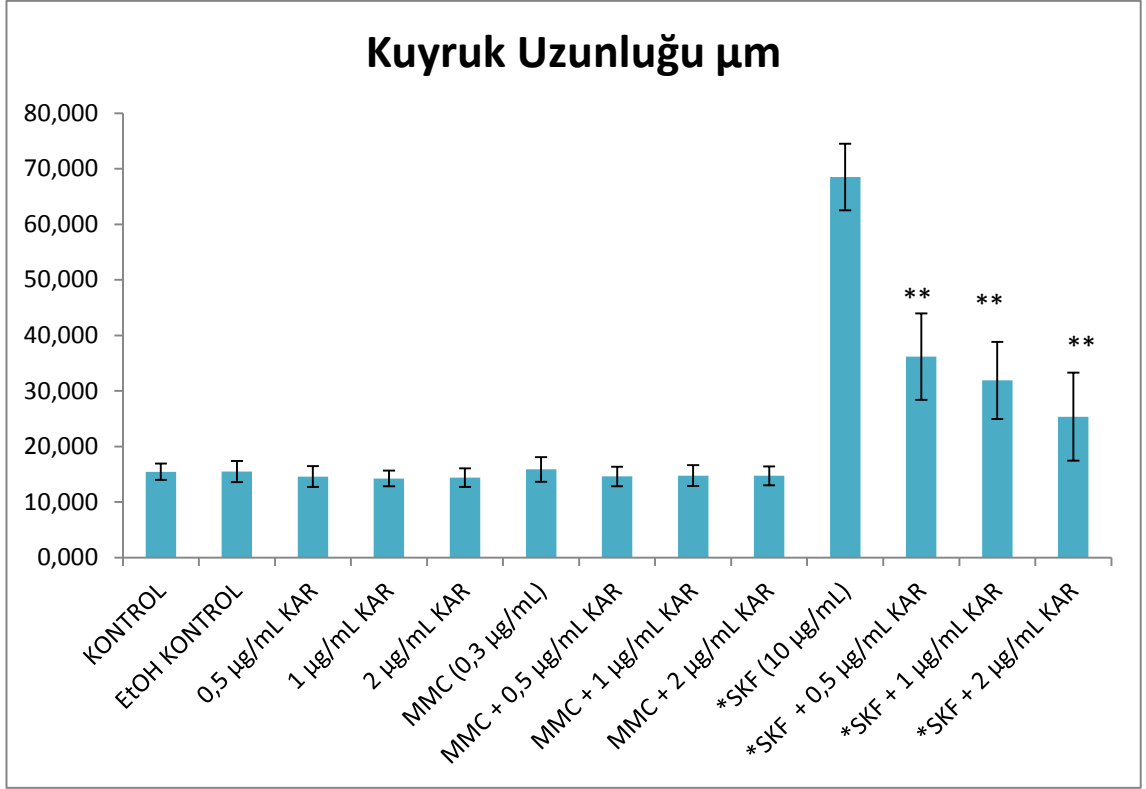
	K.U. \pm SS	K. % DNA \pm SS	OTM \pm SS
KONTROL	15,445 \pm 1,464	6,281 \pm 1,032	0,283 \pm 0,081
EtOH KONTROL	15,478 \pm 1,913	6,445 \pm 1,438	0,305 \pm 0,120
0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	14,588 \pm 1,850	5,558 \pm 1,314	0,243 \pm 0,078
1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	14,245 \pm 1,402	4,889 \pm 0,870	0,189 \pm 0,053
2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	14,385 \pm 1,671	4,858 \pm 1,155	0,204 \pm 0,071
MMC (0,3 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	15,880 \pm 2,219	6,230 \pm 1,308	0,301 \pm 0,096
MMC + 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	14,608 \pm 1,745	5,836 \pm 0,982	0,266 \pm 0,083
MMC + 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	14,760 \pm 1,886	5,479 \pm 1,268	0,220 \pm 0,075
MMC +2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	14,713 \pm 1,681	5,470 \pm 1,172	0,233 \pm 0,076
*SKF (10 $\mu\text{g}/\text{mL}$)	68,515 \pm 5,974 ^a	52,589 \pm 7,016 ^a	21,037 \pm 4,033 ^a
*SKF + 0,5 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	36,180 \pm 7,761 ^b	29,031 \pm 6,719 ^b	5,121 \pm 2,190 ^b
*SKF + 1 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	31,895 \pm 6,961 ^b	23,501 \pm 4,965 ^b	3,172 \pm 1,204 ^b
*SKF + 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ TYR	25,358 \pm 7,913 ^b	14,893 \pm 3,073 ^b	1,815 \pm 0,529 ^b



Şekil 4.77. *in vitro* KAR uygulamaları için hazırlanan komet preparatlarından elde edilen mikroskopik görüntü örneği (20X). A) *SKF + 2 µg/mL KAR uygulamasından elde edilen bir görüntü örneği B) A fotoğrafının mikrosistem komet yazılımı kullanılarak eşiklemesi ve etiketlemesi yapılmış hali.

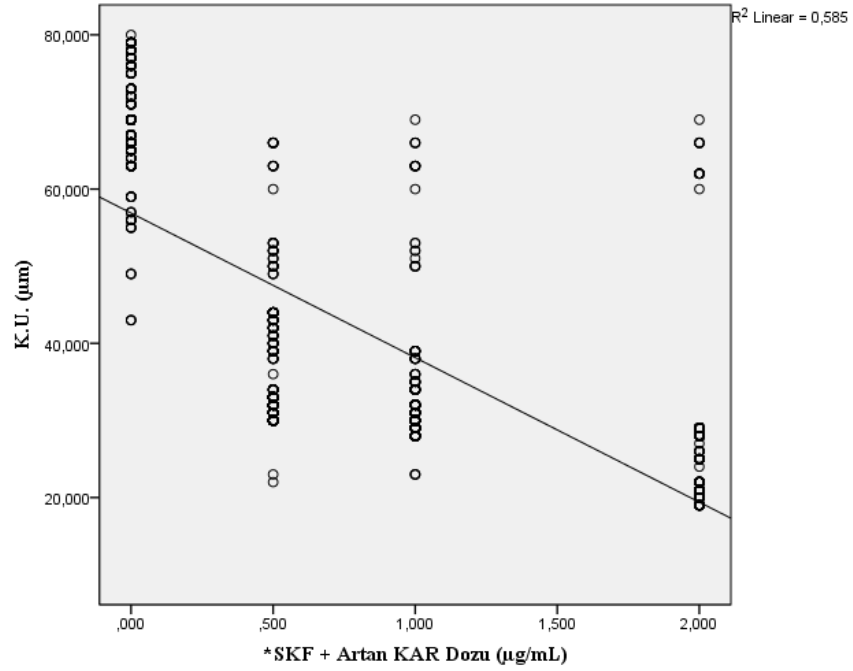
In vitro komet testinde değerlendirilen parametreler içerisinde K.U. değerlerinden elde edilen grafik Şekil 4.78’de gösterilmiştir. KAR uygulamaları için K.U. değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane’s T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama K.U. değerleri (μm), kontrol grubunda, $15,445 \pm 1,464$, EtOH grubunda $15,478 \pm 1,913$ olarak belirlendi. Yine ortalama K.U. değeri, $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında ise sırasıyla, $14,588 \pm 1,850$; $14,245 \pm 1,402$ ve $14,385 \pm 1,671$ olarak belirlendi. Bu beş grubun kendi aralarındaki istatistiksel karşılaştırmalarında anlamlı düzeyde bir farklılık belirlenemedi ($p > 0,05$). Ortalama K.U. değerleri MMC grubunda $15,880 \pm 2,219$ olarak belirlendi. MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında ise sırasıyla, $14,608 \pm 1,745$; $14,760 \pm 1,886$ ve $14,713 \pm 1,681$ olarak belirlendi. Bu dört grupta istatistiksel olarak hem kendi aralarında hem de kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, K.U. değerleri açısından grupların arasında anlamlı bir fark belirlenemedi ($p > 0,05$).

K.U. değeri *SKF grubunda ise $68,515 \pm 5,974$ olarak belirlendi. *SKF grubunun K.U. değerleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, *SKF uygulamasının K.U. değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde indüklediği belirlendi ($p \leq 0,001$). K.U. değerleri *SKF + $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında ise sırasıyla, $36,180 \pm 7,761$; $31,895 \pm 6,961$ ve $25,358 \pm 7,913$ olarak belirlendi. Bu değerler *SKF grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç KAR uygulamasının da *SKF tarafından artırılmış olan K.U. değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K.U. değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.78. KAR için *In vitro* komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk Uzunluğu (µm) değerleri. EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.

Ayrıca *SKF tarafından arttırılan, Komet Kuyruk uzunluğu değerlerinin, *SKF + KAR uygulama gruplarında artan KAR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan kuyruk uzunluğu değerlerinin artan KAR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 56,889 - 18,745 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,585$) olan regresyon eğrisi Şekil 4.79 'da gösterilmiştir.

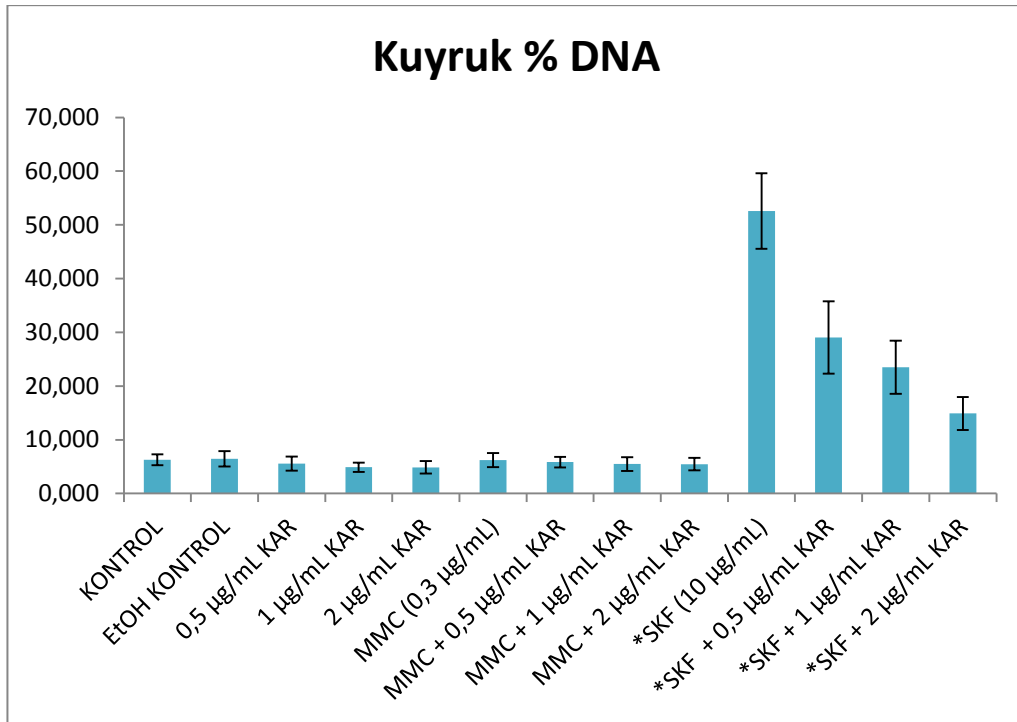


Şekil 4.79. *In vitro*'da *SKF tarafından indüklenen K.U. frekansına artan KAR dozunun etkisi. K.U.; Kuyruk Uzunluğu (µm) değerleri, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, KAR; Karnosik asit.

KAR uygulamaları için elde edilen Kuyruk % DNA içeriği (K.%DNA) değerleri Şekil 4.80'de gösterilmiştir. K.%DNA değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama K.%DNA değerleri, kontrol grubunda, $6,281 \pm 1,032$ EtOH grubunda $6,445 \pm 1,438$ olarak belirlendi. Yine ortalama K.%DNA değerleri, 0,5 µg/mL, 1 µg/mL ve 2 µg/mL KAR gruplarında ise sırasıyla, $5,558 \pm 1,314$; $4,889 \pm 0,870$ ve $4,858 \pm 1,155$ olarak belirlendi. Bu beş grubun kendi aralarındaki istatistiksel karşılaştırmalarında anlamlı düzeyde bir farklılık belirlenemedi ($p>0,05$).

Ortalama K.%DNA değerleri MMC grubunda $6,230 \pm 1,308$ olarak belirlendi. MMC + 0,5 µg/mL, 1 µg/mL ve 2 µg/mL KAR gruplarında ise sırasıyla, $5,836 \pm 0,982$; $5,479 \pm 1,268$ ve $5,470 \pm 1,172$ olarak belirlendi. Bu dört grupta istatistiksel olarak hem kendi aralarında hem de kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, K.%DNA değerleri açısından grupların arasında anlamlı bir fark belirlenemedi ($p>0,05$).

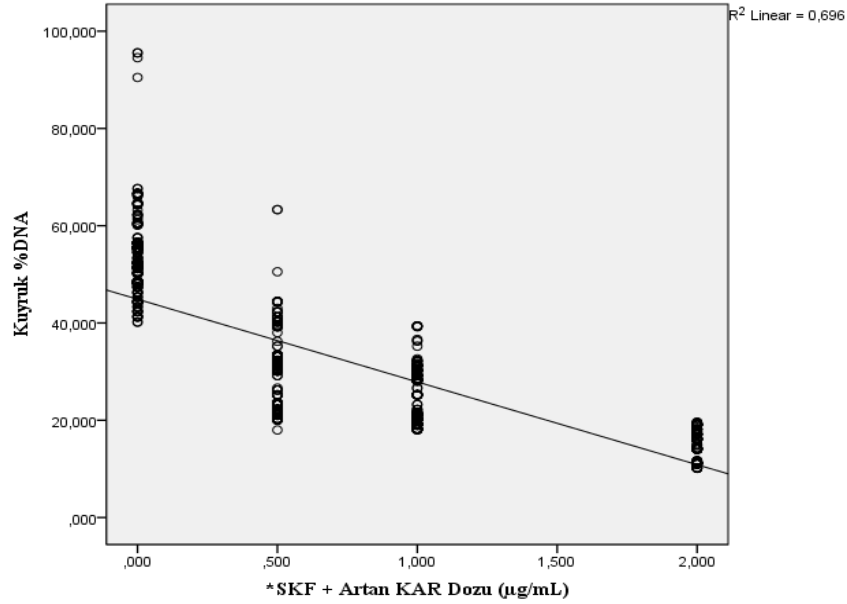
K.%DNA değeri *SKF grubunda ise $52,589 \pm 7,016$ olarak belirlendi. *SKF grubunun K.%DNA değerleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, *SKF uygulamasının K.%DNA değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde indüklediği belirlendi ($p \leq 0,001$). K.%DNA değerleri *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ ve 2 $\mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında ise sırasıyla, $29,031 \pm 6,719$; $23,501 \pm 4,965$ ve $14,893 \pm 3,073$ olarak belirlendi. Bu değerler *SKF grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç KAR uygulamasının da *SKF tarafından arttırılmış olan K.%DNA değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun K.%DNA değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p \leq 0,001$).



Şekil 4.80. KAR için *İn vitro* komet testinde elde edilen ortalama Kuyruk % DNA değerleri. EtOH; Etanol, KAR; Karnosik asit, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid.

Ayrıca *SKF tarafından arttırılan, K.%DNA değerlerinin, *SKF + KAR uygulama gruplarında artan KAR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan K.%DNA

değerlerinin artan KAR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 44,888 - 17,011 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,696$) olan regresyon eğrisi Şekil 4.81 'de gösterilmiştir.



Şekil 4.81. KAR için *İn vitro*'da *SKF tarafından indüklenen K.% DNA frekansına artan KAR dozunun etkisi. K.; Kuyruk, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosamid, KAR; Karnosik asit.

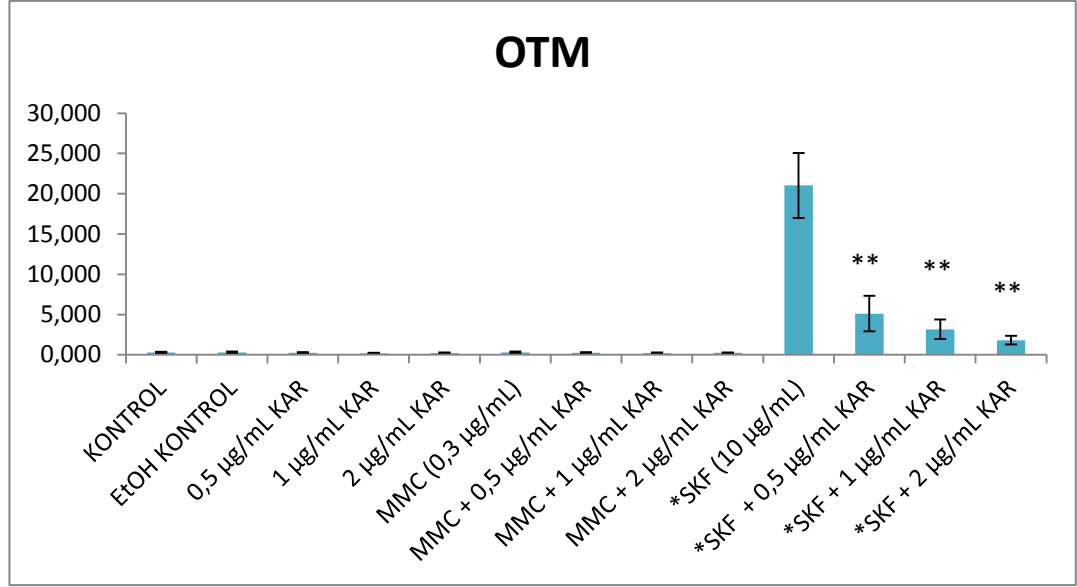
KAR uygulamaları için gerçekleştirilen *İn vitro* komet testinde değerlendirilen son parametre olan Olive Tail Moment (OTM; Olive Kuyruk moment) değerleri Şekil 4.82'de gösterilmiştir. OTM değerlerinin istatistiksel analizleri ANOVA ve Tamhane's T2 testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Ortalama OTM değerleri, kontrol grubunda, $0,204 \pm 0,071$ EtOH grubunda ise $0,283 \pm 0,081$ olarak belirlendi. Yine ortalama OTM değerleri, $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında ise sırasıyla, $0,305 \pm 0,120$; $0,243 \pm 0,078$ ve $0,189 \pm 0,053$ olarak belirlendi. Bu beş grubun kendi aralarındaki istatistiksel karşılaştırmalarında anlamlı düzeyde bir farklılık belirlenemedi ($p > 0,05$).

Ortalama OTM değerleri MMC grubunda $0,301 \pm 0,096$ olarak belirlendi. MMC + $0,5 \mu\text{g/mL}$, $1 \mu\text{g/mL}$ ve $2 \mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında ise sırasıyla $0,266 \pm 0,083$; $0,220 \pm 0,075$ ve $0,233 \pm 0,076$ olarak belirlendi. Bu dört grupta istatistiksel olarak hem kendi

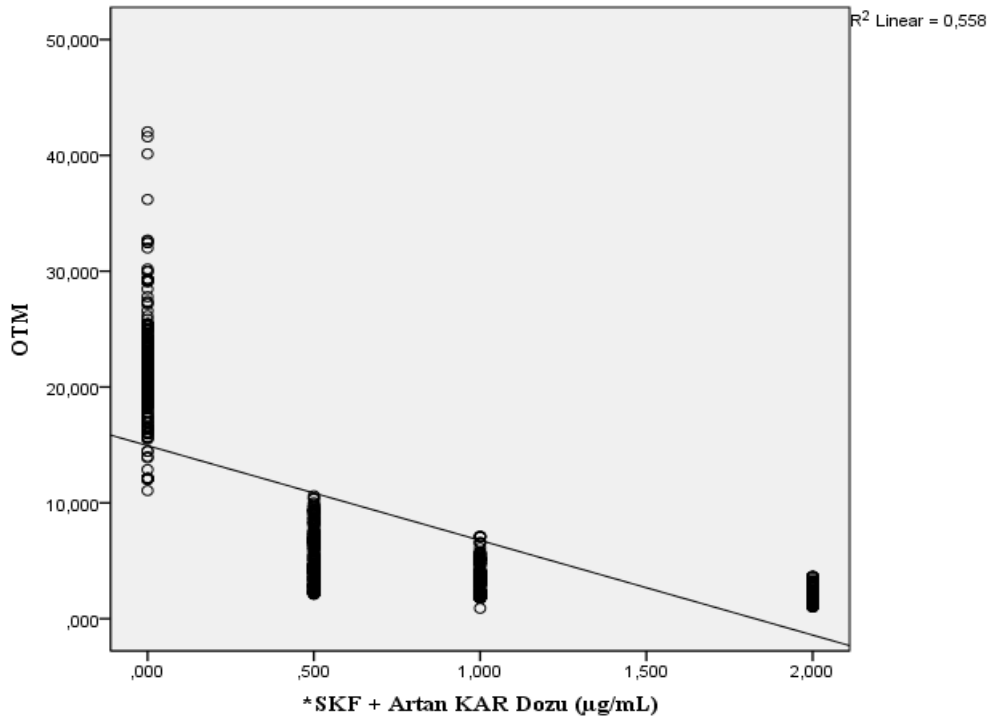
aralarında hem de kontrol grubuları ile karşılaştırıldığında, OTM değerleri açısından grupların arasında anlamlı bir fark belirlenemedi ($p>0,05$).

OTM değeri *SKF grubunda ise $21,037 \pm 4,033$ olarak belirlendi. *SKF grubunun OTM değerleri kontrol grupları ile karşılaştırıldığında, *SKF uygulamasının OTM değerlerini istatistiksel olarak anlamlı bir düzeyde indüklediği belirlendi ($p\leq 0,001$). OTM değerleri *SKF + 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$ ve 2 $\mu\text{g/mL}$ KAR gruplarında ise sırasıyla, $5,121 \pm 2,190$; $3,172 \pm 1,204$ ve $1,815 \pm 0,529$ olarak belirlendi. Bu değerler *SKF grubunun değerleri ile karşılaştırıldığında her üç KAR uygulamasının da *SKF tarafından arttırılmış olan OTM değerini istatistiksel olarak anlamlı düzeyde azalttığı belirlendi ($p\leq 0,001$). Bununla birlikte bu üç kombin uygulamanın istatistiksel olarak birbirlerinden de farklı olduğu belirlendi ($p\leq 0,001$). Ayrıca bu üç grubun OTM değerlerinin kontrol ve EtOH gruplarından da istatistiksel olarak anlamlı düzeyde yüksek olduğu belirlendi ($p\leq 0,001$).

Ayrıca *SKF tarafından arttırılan, OTM değerlerinin, *SKF + KAR uygulama gruplarında artan KAR dozu ile azalıp azalmadığını belirlemek için regresyon analizi gerçekleştirildi. Regresyon analizi sonunda *SKF tarafından arttırılan OTM değerlerinin artan KAR dozuna bağlı olarak azaldığı belirlendi ($p \leq 0,001$). Denklemi; $y = 14,942 - 8,178 * \text{Doz}$ ($R^2 = 0,558$) olan regresyon eğrisi Şekil 4.83 'te gösterilmiştir.



Şekil 4.82. KAR için *İn vitro* komet testinde elde edilen ortalama OTM değerleri. OTM; Olive Kuyruk Momenti, EtOH; Etanol, KAR; KARosol, MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid. Kombin uygulamalar kendi pozitif kontrolü ile karşılaştırılmıştır. **: $p \leq 0,001$.



Şekil 4.83. *İn vitro*'da *SKF tarafından indüklenen OTM frekansına artan KAR dozunun etkisi. OTM; Olive Kuyruk Momenti, *SKF; 4 hidroperoksisiklofosfamid, KAR; Karnosik asit.

4.3. Karşılaştırma Bulguları

4.3.1. *İn vivo* - *İn vitro* TYR karşılaştırma bulguları

İn vitro, *in vivo* TYR uygulamalarının karşılaştırmaları kombin uygulama gruplarının % indirgenme değerleri üzerinden gerçekleştirilmiştir. Elde edilen değerler Çizelge 4. 22'de gösterilmiştir.

İn vivo MN uygulamalarının % indirgenme değerleri MMC + 50, 100 ve 200 mg/ kg dozları için sırasıyla, 60,89; 62,38; 66,87 olarak hesaplandı. *İn vivo* uygulamalarının MN için % indirgenme değerleri SKF + 50, 100 ve 200 mg/kg dozları için sırasıyla, 56,25; 53,81 ve 54,51 olarak hesaplanmıştır. TYR, MN % indirgenme değerleri *in vitro*, MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL dozları için sırasıyla, 64,9; 67,78; 73,15 *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL dozları için sırasıyla, 66,14; 66,34 ve 68,89 olarak hesaplanmıştır.

TYR, TA verilerinin % indirgenme değerleri *in vivo* MMC + 50, 100 ve 200 mg/ kg uygulama grupları için sırasıyla 41,09; 54,79; 63,01 olarak hesaplanmıştır. Aynı değerler *in vivo* SKF + TYR uygulamaları için sırasıyla 38,7; 51,59 ve 41,91 olarak hesaplanmıştır. Aynı parametre için *in vitro* % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 53,84; 56,92 ve 72,3 olarak hesaplanmıştır. *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 48,27; 62,06 ve 80,13 olarak hesaplanmıştır. TA – (G+P) verilerinin % indirgenme değerleri *in vivo* MMC + 50, 100 ve 200 mg/ kg uygulamaları için sırasıyla, 55,8; 67,7 ve 70,7 olarak hesaplanmıştır. SKF + 50, 100 ve 200 mg/ kg uygulamaları için sırasıyla, 41,38; 51,7 ve 58,6 olarak hesaplanmıştır. Aynı parametrenin *in vitro* % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 78,26; 63,33 ve 76,66 olarak hesaplanmıştır *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla ise 46,66; 66,66 ve 83,33 olarak hesaplanmıştır.

K.U. verilerinin % indirgenme değerleri *in vivo* SKF + 50, 100 ve 200 mg/ kg uygulama grupları için sırasıyla 22,2; 16,88 ve 31,43 olarak hesaplanmıştır. Aynı grupların K.%DNA verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 23,7; 18,09 ve 25,74 olarak hesaplanmıştır. Aynı grupların OTM verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 32,02;

26,62 ve 34,20 olarak hesaplanmıştır. *İn vitro* *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL gruplarının K.U. verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 28,54; 44,58 ve 42,33 olarak belirlenmiştir. Aynı değerler % K.DNA verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 29,43; 51,72 ve 39,49 olarak hesaplanmıştır. *İn vitro* OTM verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 38,78; 68,3 ve 47,81 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.22. *İn vivo*, *İn vitro* TYR uygulamalarının % indirgeme değerleri üzerinden karşılaştırmaları. D; Doz, 1., 2. ve 3. Doz *in vivo* için sırasıyla 50, 100, 200 mg/kg *in vitro* için sırasıyla 0,5, 1 ve 2 µg/mL dir. MMC; Mitomisin C, SKF; Siklofosfamid, *SKF; 4 Hidroperoksisiklofosfamid, MN; Mikronükleus, TA; Toplam Aberasyon, TA-(G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç toplam aberasyon, K.U.; Kuyruk Uzunluğu (µm), K.; Kuyruk, OTM; Olive Tail Moment.

		<i>İn vivo</i>	<i>İn vitro</i>		<i>İn vivo</i>	<i>İn vitro</i>		<i>İn vivo</i>	<i>İn vitro</i>
Uygulama	D	MN	MN		TA	TA		TA-(G+P)	TA-(G+P)
MMC+TYR	1.	60,89	64,9		41,09	53,84		55,8	78,26
	2.	62,38	67,78		54,79	56,92		67,7	63,33
	3.	66,87	73,15		63,01	72,3		70,7	76,66
SKF (*SKF) +TYR	1	56,25	66,14		38,7	48,27		41,38	46,66
	2	53,81	66,34		51,59	62,06		51,7	66,66
	3	54,51	68,89		41,91	80,13		58,6	83,33
		<i>İn vivo</i>	<i>İn vitro</i>		<i>İn vivo</i>	<i>İn vitro</i>		<i>İn vivo</i>	<i>İn vitro</i>
		K.U.	K.U.		K. %DNA	K. %DNA		OTM	OTM
SKF (*SKF) +TYR	1	22,2	28,54		23,7	29,43		32,02	38,78
	2	16,88	44,58		18,09	51,72		26,62	68,3
	3	31,43	42,33		25,74	39,49		34,20	47,81

4.3.2. *İn vitro* TYR ve *İn vitro* KAR karşılaştırma bulguları

İn vitro, TYR ve KAR uygulamalarının karşılaştırmaları için kombin uygulama gruplarının % indirgenme değerleri hesaplanmıştır. Elde edilen değerler Çizelge 4. 23'te gösterilmiştir.

İn vitro MN, TYR uygulamalarının % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL dozları için sırasıyla, 64,9; 67,78; 73,15, *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL dozları için sırasıyla, 66,14; 66,34 ve 68,89 olarak hesaplanmıştır. Aynı parametrenin KAR uygulamaları için MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL dozlarının değerleri sırasıyla, 63,33; 67,64 ve 72,11, *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL dozlarının değerleri sırasıyla, 68,78; 70,52 ve 71,09 olarak hesaplanmıştır.

İn vitro TYR uygulamaları için TA verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 53,84; 56,92 ve 72,3 olarak hesaplanmıştır. *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 48,27; 62,06 ve 80,13 olarak hesaplanmıştır. KAR uygulamaları için TA verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 57,97; 55,76 ve 68,81, *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 49,5; 55,38 ve 73,56 olarak hesaplanmıştır. TYR uygulamaları için TA – (G+P) verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 78,26; 63,33 ve 76,66, *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla ise 46,66; 66,66 ve 83,33 olarak hesaplanmıştır. KAR uygulamaları için TA – (G+P) verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla, 62,5; 57,75 ve 73,375, *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 53,93; 53,93 ve 79,31 olarak hesaplanmıştır.

İn vitro TYR uygulamaları için SCE/ Hücre verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 24,13; 34,55 ve 33,97 olarak hesaplanmıştır. *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 40,98; 48,91 ve 50,45 olarak hesaplanmıştır. KAR uygulamaları için SCE/Hücre verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla, 26,29; 36,90 ve 45,61, *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 34,25; 38,62 ve 59,65 olarak hesaplanmıştır.

TYR uygulamaları için SCE/Kromozom verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 24,14; 34,51 ve 33,94 *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 40,90; 48,91 ve 50,41 olarak hesaplanmıştır. KAR uygulamaları için SCE/Kromozom verilerinin % indirgenme değerleri MMC + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla, 26,25; 36,94 ve 45,55, *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL uygulamaları için sırasıyla 34,4; 38,72 ve 59,76 olarak hesaplanmıştır.

İn vitro TYR için *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL gruplarının K.U. verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 28,54; 44,58 ve 42,33 olarak belirlenmiştir. Aynı gruplar için % K.DNA verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 29,43; 51,72 ve 39,49 olarak hesaplanmıştır. Yine aynı gruplar için OTM verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla olarak hesaplanmıştır. *İn vitro* KAR için *SKF + 0,5; 1; 2 µg/mL gruplarının K.U. verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 47,19; 53,44 ve 62,98 olarak belirlenmiştir. Aynı gruplar için % K.DNA verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 44,79; 55,31 ve 71,68 olarak hesaplanmıştır. Yine aynı gruplar için OTM verilerinin % indirgenme değerleri sırasıyla 75,65; 84,92 ve 91,37 olarak hesaplanmıştır.

Çizelge 4.23. *In vitro* TYR *in vitro* KAR uygulamalarının % indirgeme değerleri üzerinden karşılaştırmaları. D; Doz, 1., 2. ve 3. Doz için sırasıyla 0,5, 1 ve 2 µg/mL dir. MMC; Mitomisin C, *SKF; 4 Hidroperoksisiklofosfamid, MN; Mikronükleus, TA; Toplam Aberasyon, TA- (G+P); Gap ve Pulverizasyon hariç toplam aberasyon, K.U.; Kuyruk Uzunluğu (µm), K.; Kuyruk, OTM; Olive Tail Moment.

		TYR	KAR		TYR	KAR		TYR	KAR
Uygulama	D	MN	MN		TA	TA		TA-GP	TA-GP
MMC+ TYR	1.	64,9	63,33		53,84	57,97		78,26	62,5
	2.	67,78	67,64		56,92	55,76		63,33	57,75
	3.	73,15	72,11		72,3	68,81		76,66	73,375
*SKF +TYR	1.	66,14	68,78		48,27	49,5		46,66	53,93
	2.	66,34	70,52		62,06	55,38		66,66	53,93
	3.	68,89	71,09		80,13	73,56		83,33	79,31
		TYR	KAR		TYR	KAR		TYR	KAR
		SCE/ Hücre	SCE/ Hücre		SCE/ Kromozom	SCE/ Kromozom		SCE/ Kromozom	SCE/ Kromozom
MMC+ TYR	1.	24,13	26,29		24,14	26,25		24,14	26,25
	2.	34,55	36,90		34,51	36,94		34,51	36,94
	3.	33,97	45,61		33,94	45,55		33,94	45,55
*SKF +TYR	1.	40,98	34,25		40,90	34,4		40,90	34,4
	2.	48,91	38,62		48,91	38,72		48,91	38,72
	3.	50,45	59,65		50,41	59,76		50,41	59,76
		TYR	KAR		TYR	KAR		TYR	KAR
		K.U.	K.U.		K. %DNA	K. %DNA		OTM	OTM
*SKF +TYR	1.	28,54	47,19		29,43	44,79		38,78	75,65
	2.	44,58	53,44		51,72	55,31		68,3	84,92
	3.	42,33	62,98		39,49	71,68		47,81	91,37

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

İnsanlar günlük yaşantılarında pek çok genotoksik ajanın tehdidi ile karşı karşıyadır. Gerek fiziksel gerekse kimyasal olabilen bu ajanlar DNA'da hasar oluşumuna neden olmaktadır. DNA'da meydana gelen hasarlar onarılmadan kalırsa çeşitli mutasyonların oluşumuna yol açmaktadır. Tüm bu süreçler sonunda kanser ve benzeri şekilde mutasyonlarla ilişkili çeşitli rahatsızlıklar ortaya çıkabilmektedir (MacPhee 1998, Coussens ve Werb 2002). Dolayısı ile genotoksik ajanların DNA'da hasar yaratacak etkilerinden korunmak, insan sağlığı açısından oldukça önemlidir. Genotoksik ajanlardan korunmanın en etkili yolu kuşkusuz, maruziyetten kaçınmaktır. Ancak günlük yaşantımızda her yerde karşımıza çıkabilecek genotoksik ajanlardan tamamen uzaklaşarak bir yaşantı sürdürülebilmek pek de mümkün görülmemektedir. Bu bağlamda kimyasal korunma olarak isimlendirilen korunma stratejisi önem kazanmaktadır. Bu stratejinin temelinde, çeşitli genotoksik ajanlara maruziyetten kaçınmanın yanında, farklı genotoksik ajanların DNA'da hasar oluşturma potansiyellerini engelleyebilecek çeşitli antijenotoksik maddelerin tanımlanması ve kullanımının teşvik edilmesi bulunmaktadır (Editorial 2005). Bu anlamda, günümüzde özellikle bazı bitkisel ekstraktların ve bileşiklerin kimyasal koruma potansiyellerinin araştırıldığı çalışmalar artmaktadır. Buna paralel olarak çeşitli bitkisel preparatların halk arasındaki kullanımı da artmaktadır. Ancak halk arasında bilinçsizce gerçekleştirilecek aşırı tüketim istenmeyen bir takım durumlara yol açabilir. Bu nedenle çeşitli bitkisel bileşiklerin, tüketiminin teşvik edilebilmesi için, bu bileşiklerin yararlı etkilerinin gösterilmesinin yanında zararlı etkilerinin olmadığını da gösterilmesi gerekmektedir.

Bu çalışmada, zeytin ve zeytinyağının önemli bileşiklerinden olan TYR'nin olası genotoksik ve antijenotoksik etkileri *in vivo* ve *in vitro* yöntemlerle araştırıldı. Bununla birlikte, özellikle biberiye bitkisinin önemli bileşiklerinden KAR'ın da olası genotoksik ve antijenotoksik etkileri *in vitro* yöntemlerle araştırıldı. TYR ve KAR'ın genotoksik etkileri tek başlarına kullanıldıkları deney grupları ile belirlenmeye çalışıldı. Antijenotoksik etkileri ise genotoksik etkileri bilinen MMC ve SKF (*SKF) ile birlikte kullanıldıkları deney grupları ile belirlenmeye çalışıldı. Böylece TYR'nin ve KAR'ın

potansiyel genotoksik etkileri ve kimyasal korunma stratejisi çerçevesinde kullanımlarının teşvik edilebilirliklerinin belirlenmesi amaçlandı.

İn vivo MN ve CA, *in vitro* MN, CA ve SCE yöntemleri OECD tarafından hazırlanan kimyasalların test kılavuzunda yer alan önemli genotoksite testleridir (OECD 1986, 1997a, 1997b, 1997c, 1997d). Bu yöntemler günümüzde genotoksite / antigenotoksite çalışmalarında sıklıkla kullanılan yöntemlerdir. İn vivo ve *in vitro* komet testleri OECD'nin kimyasalların test kılavuzlarında henüz yer almasa da FDA ile ICH (The International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use; Uluslararası, Beşeri ilaçların ruhsatlandırılmasında, uyumlu teknik gereksinimler konferansı) tarafından 2012 Haziranda yayınlanan farmasötikler için genotoksite test rehberinde önerilen bir genotoksite test yöntemidir. Diğer yöntemler gibi komet yöntemide genotoksite / antigenotoksite çalışmalarında en çok kullanılan yöntemler arasında yerini almıştır (Anderson ve Pleva 1998, Tice ve ark 2000, EFSA 2008).

MN yöntemi ile DNA'da meydana gelen kırılmalar sonucu, bölünen hücrelerde asentrik kromozom ya da kromatid parçalarından veya tam kromozom ya da kromatidlerden oluşabilen Mikronükleusların frekansı üzerinden kullanılan ajanların DNA hasar etkileri ölçülebilmektedir (Fenech ve Morley 1985, Mateuca ve ark. 2006). CA yönteminde, doğrudan DNA kırılmalarıyla, zarar görmüş DNA kalıbı üzerindeki replikasyonla, DNA sentezinin inhibisyonuyla ve topoizomeraz II inhibisyonu gibi diğer mekanizmalarla oluşabilen kromozom hasarlarının frekansı ile kullanılan ajanların DNA hasar etkileri ölçülebilmektedir (Albertini ve ark. 2000, Hagmar ve ark., 2004, Mateuca ve ark., 2006). SCE yöntemi, özellikle kromozomun her iki kromatidinin homolog bölgelerinde DNA da kırık oluşması ve kırılan bölgelerin yer değiştirip yeniden birleşmesi sonucunda oluşan SCE frekansları ile kullanılan ajanların DNA hasarı etkilerini ve indüklediği DNA tamirinin ölçülebildiği bir yöntemdir. (Clever ve ark. 1996, Stoilov ve ark. 2002). Alkali komet yöntemi ile kullanılan ajanların DNA'da oluşturdukları tek ve çift zincir kırıklarını, yüksek alkali çözelti içerisinde hızlı bir şekilde DNA kırıklarına dönüşen alkalilenebilecek noktalara etkileri, oldukça hassas bir şekilde belirlenebilmektedir (Rojas ve ark. 1999, Rojas 2009).

Bu çalışmada, yukarıda açıklanan özellikleri nedeniyle, genotoksite / antigenotoksite çalışmalarında sıklıkla kullanılan, farklı genotoksite testleri ile TYR ve KAR'ın oluşturabileceği potansiyel DNA hasarlarının çoğunun gözlenebilmesi amaçlandı.

Çalışma sonuçlarının istatistiksel analizleri, benzer çalışmaların sonuçlarının analizlerinde kullanılan, basit doğrusal regresyon analizi, ANOVA (Tek yönlü varyans analizi) ve Tukey HSD testleri kullanılarak gerçekleştirildi. Özellikle ANOVA sonrası çoklu grupların karşılaştırılmasında, varyansların homojen olmadığı durumlarda Tukey HSD testinin iyi bir alternatifi olan Tamhane's 2 testi kullanıldı (Hochberg ve Tamhane 1987, Kayri 2009).

Bu çalışmada kullanılan, genotoksik etkileri bilinen ajanlar olan MMC ve SKF (*in vitro* için aktif metaboliti olan *SKF), genotoksite testlerinin kullanıldığı birçok çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmasının yanında OECD tarafından hazırlanan rehberlerde de genotoksite çalışmalarında pozitif kontrol olarak kullanılmalrı önerilen kimyasallardır (OECD 1986, 1997a, 1997b, 1997c, 1997d). Bunun yanı sıra IARC (International Agency for Research on Cancer; Uluslararası Kanser araştırmaları Ajansı) tarafından hazırlanan monografilerde SKF, grup 1 (insan için karsinojen), MMC ise grup 2B (İnsan için olası karsinojen) olarak tanımlanmaktadır (Anonim 2012g).

TYR ve KAR için çözücü olarak kullanılan ve her testte solvent kontrol grubu oluşturulan etanol'ün genotoksitesini araştırmak için Phillips ve Jenkinson (2001) bir derleme yapmışlardır. Bu derlemeye göre *in vitro* çalışmalarda etanol'ün herhangi bir genotoksitesine rastlanmazken bazı *in vivo* çalışmalarda (i.p) 2,4 g/kg gibi veya 46 hafta boyunca fare veya sıçanların içme sularının %10 etanol içermesi durumunda çok düşük bir genotoksik etkisi belirlenmiştir. İn vivo'da bizim kullandığımız maksimum etanol dozu ise kombin enjeksiyonların yapıldığı durumda, 0,1 mL de %20 lik etanol şeklinde idi ki buda ortalama olarak $7,8 \times 10^{-4}$ g/kg gibi düşük bir doza denk gelmektedir. Bu nedenlerle tüm solvent kontrol gruplarımızda genotoksite parametrelerimiz Phillips ve Jenkinson tarafından verilen çalışmaların sonuçları ile uyumlu görülmektedir.

İn vivo deneyler için genotoksik ajanların dozlarının belirlenmesi için gerçekleştirilen literatür taramasında SKF için 20 ile 100 mg/kg arasında değişen dozların, MMC için ise 1 ile 4 mg/kg arasında değişen dozların genotoksite için uygun olduğu belirlenmiştir (Zhang ve ark. 2008, Podder ve ark. 2008, Li ve ark. 2009, Casanova ve ark. 2012). Bu çalışmada, farklı çalışmalarda kullanılan dozların en yüksek dozundan %50 kadar eksik olan dozlar seçilmiştir. SKF için 50 mg/kg'lık MMC için ise 2 mg/kg'lık dozlar çalışılmıştır ve bu dozlar tüm testlerde genotoksite parametrelerini yükseltmiştir.

İn vivo testlerde kullanılacak TYR dozlarının belirlenmesi için gerçekleştirilen literatür taramasında TYR ile gerçekleştirilmiş benzer bir çalışmaya rastlanmadığı için özellikle bitkisel kökenli çeşitli kimyasallarla gerçekleştirilmiş genotoksite/antigenotoksite çalışmaları dikkate alınmıştır. Mozdarani ve Kamali (1998) simetidin'in antigenotoksik etkilerini 10; 15; 30 mg/kg dozlarını kullanarak araştırmışlardır. Siddique ve ark. (2008) gerçekleştirdikleri çalışmalarından nordihidroguaiaretik asit'in 1, 5 ve 10 mg/kg'lık dozlarını kullanarak antigenotoksik etkisini araştırmışlardır. Pugalendhi ve ark. (2009) gerçekleştirdikleri çalışmalarında genistein'nin antigenotoksik etkileri araştırmışlardır ve genistein için 20 mg/kg dozunu kullanmışlardır. Siddique ve Afzal (2009) gerçekleştirdikleri çalışmalarında apigenin'nin antigenotoksik etkilerini araştırmak için apigenin'nin 10, 20 ve 40 mg/kg dozlarını kullanmışlardır. Bokulić ve ark. (2011) apigenin'nin antigenotoksik etkilerini 1; 10; 100 mg/kg dozlarını kullanarak araştırmışlardır. Grossi ve ark. (2012) *in vivo* da klorofillin'in antigenotoksik etkilerini araştırmışlar ve 100 mg/kg klorofillin kullanmışlardır. Berni ve ark. (2012) çalışmalarında ellajik asit'in 50; 100 ve 200 mg/kg'lık dozlarını kullanarak antigenotoksik etkilerini araştırmışlardır. Benzer çalışmalarda kullanılan dozlar geniş bir spektrum içerisinde değişmektedir. Bu çalışmada 5; 12,5; 25; 50; 100 ve 150 mg/kg'lık dozlar denenmiştir ve uygulamalar arasında 1000 PCE/MN frekansı açısından istatistiksel olarak anlamlı bir fark belirlenmemiştir. Bunun üzerine yüksek dozlardaki olası genotoksik etkinin de belirlenebilmesi amacı ile 50; 100 ve 200 mg/kg'lık dozları seçilerek çalışılmıştır.

İn vivo MN testi bulgularımızda (Çizelge 4.2) beklendiği üzere, MMC ve SKF'nin 1000 PCE'deki MN frekansını, kontrol gruplarına karşı anlamlı düzeyde arttırdığı

belirlenmiştir. Tek başına uygulanan 50; 100 ve 200 mg/kg'lık TYR dozlarının ise MN frekansında bir artışa neden olmadığı belirlenmiştir. Ayrıca kombin uygulamalarda MMC ve SKF ile birlikte uygulanan TYR'nin üç dozu da, kullanılan TYR dozu ile orantılı olarak MMC ve SKF tarafından indüklenen MN frekansını indirmişdir. Bu bulgular bize kullandığımız üç TYR dozunun da *in vivo* MN testinde bir genotoksik etkisinin bulunmadığını bununla birlikte MMC ve SKF'nin genotoksik etkisine karşın doza bağlı olarak bir antigenotoksik etkisinin bulunduğunu göstermiştir. Ayrıca *in vivo* MN testinde sitotoksitenin bir belirteci olarak değerlendirilen PCE/NCE değeri açısından TYR'nin üç dozunun da kontrol gruplarından istatistiksel olarak farklı olmadığı belirlenmiştir. Bu bulgu ışığında *in vivo* MN testinde uygulanan üç TYR dozunun da sitotoksik etkiye sahip olmadığını söyleyebiliriz.

In vivo CA testi bulgularımızda (Çizelge 4.4) değerlendirilen parametreler açısından MMC ve SKF uygulamaları beklendiği gibi TA ve TA-(G+P) frekanslarını anlamlı düzeyde yükseltmişlerdir. Tek başına uygulanan TYR dozlarının ise bu iki parametre açısından kontrol gruplarından farklı olmadığı belirlenmiştir. MMC ve SKF ile birlikte uygulanan TYR'nin yine doza bağlı olarak, MMC ve SKF tarafından indüklenmiş olan TA ve TA-(G+P) frekanslarını indirmişdir. *In vivo* CA testinde değerlendirilen bir diğer parametre olan M.İ. parametresi açısından uygulanan üç TYR dozunun da kontrol grubundan farklı olmadığı belirlenmiştir. Bu bulgularımız *in vivo* MN testinden elde ettiğimiz bulguları da destekler niteliktedir. *In vivo* CA testi sonunda da kullandığımız dozlarda TYR'nin herhangi bir genotoksik ve sitotoksik etkiye sahip olmadığını bununla birlikte, MMC ve SKF tarafından indüklenen genotoksiteye karşın bir antigenotoksik etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz.

In vivo komet testinde çalışmalarda değerlendirilmesi önerilen üç önemli parametre olan K.U., K.%DNA ve OTM parametreleri değerlendirilmiştir (Çizelge 4.6). Her üç parametre açısından da *in vivo* komet testi bulgularımız *in vivo* MN ve CA testi bulgularımızı destekler niteliktedir. Tek başına uygulanan TYR dozlarının, üç parametre açısından da kontrol grubundan farksız olduğu belirlenmiştir. Yine üç parametre açısından, Kombin uygulamalarda TYR uygulamalarının, MMC ve SKF tarafından indüklenen genotoksiteye karşın, doza bağımlı bir antigenotoksitesi belirlenmiştir.

İn vivo MN, CA ve komet testlerinde MMC ve SKF'nin genotoksik etkisini ortaya koyan birçok çalışma bulunmaktadır. Gamal-Eldeena ve ark (2013) çalışmalarında *Sargassum dentifolium* ekatraktlarının *in vivo* olarak SKF'ye karşı antigenotoksik etkilerini araştırmışlardır. SKF'nin 25 mg/kg'lık dozunu kullanmışlardır. SKF'nin hem MN hem de CA parametrelerini kontrole göre anlamlı şekilde yükselttiğini belirlemişlerdir. Mazumdar ve ark. (2011) quersetin'in antigenotoksitesini araştırdıkları çalışmalarında MMC nin 2 mg/kg'lık dozunu kullanmışlardır. MMC'nin hem MN hem de CA parametrelerini kontrole göre anlamlı şekilde yükselttiğini belirlemişlerdir. Zamorano-Ponce ve ark. (2006) *Aloysia triphylla*'nın antigenotoksik etkisini komet yöntemi ile araştırdıkları çalışmalarında SKF'nin 20 mg/kg'lık dozunun, değerlendirdikleri komet parametrelerini anlamlı düzeyde arttırdığını belirlemişlerdir. Pawar ve ark. (2009) salisilik asit analoglarının antigenotoksik etkilerini araştırdıkları çalışmalarında MMC'nin 1 mg/kg'lık dozunun komet parametrelerini anlamlı düzeyde arttırdığını belirlemişlerdir. Çalışmada kullandığımız genotoksik ajanların indükledikleri genotoksite parametrelerimiz yukarıda örneklendirilen birçok çalışma ile uyumlu görülmektedir.

İn vitro deneyler için genotoksik ajanların dozlarının belirlenmesi için gerçekleştirilen literatür taramasında MMC için 0,2 µg/mL ile 2 µg/mL arasında değişen dozların, *SKF için ise 2 ile 15 µg/mL arasında değişen dozların kullanıldığı belirlendi. (Murata ve ark. 2004, Tsai-Turton ve ark. 2007, Siddique ve ark. 2008, Speit ve ark 2012). Buradan hareketle farklı çalışmalarda kullanılmış olan en yüksek dozun, en az %50'si kadar az olan veya daha düşük olan dozları seçtik, buna göre MMC için 0,3 µg/mL'lik *SKF için ise 10 µg/mL' lik dozlar seçilmiştir. Bu dozlar tüm testlerde genotoksite parametrelerini yükseltmiştir (MMC için komet testi hariç).

TYR ve KAR için *in vitro* dozlarımızı belirlerken de çeşitli kimyasalların antigenotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalar örnek alınmıştır. Örneğin Siddique ve ark. (2008) çalışmalarında apigenin'in antigenotoksik etkilerini 0,37 µg/mL ile 7,5 µg/mL arasında değişen dozlarını kullanarak araştırmışlardır. Benzer çalışmalar göz önüne alınarak TYR ve KAR için *in vitro* doz denemeleri gerçekleştirildi ve 0,0625

$\mu\text{g/mL}$, 0,125 $\mu\text{g/mL}$, 0,25 $\mu\text{g/mL}$, 0,5 $\mu\text{g/mL}$, 1 $\mu\text{g/mL}$, 1,5 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlar denendi. Bu dozların oluşturdukları MN frekansları arasında anlamlı bir fark belirlenemedi. Olası genotoksik etkiyi de gözlemleyebilmek için 0,5; 1 ve 2 $\mu\text{g/mL}$ 'lik dozlar çalışıldı.

TYR ve KAR uygulamalarının *in vitro* MN sonuçlarına bakıldığında (Çizelge 4.8; 4.9) TYR ve KAR uygulamalarının tek başlarına MN frekansını etkilemedikleri belirlenmiştir. Bununla birlikte NDI (Çizelge 4.8; 4.9) değerlerinde de kontrolle kıyaslandığında anlamlı bir azalma söz konusu değildir. Buradan hareketle TYR ve KAR'ın *in vitro* MN testinde belirlenebilecek herhangi bir genotoksite ve sitotoksiteye sahip olmadığını söyleyebiliriz. Bununla birlikte hem TYR hem de KAR ayrı, ayrı MMC ve *SKF tarafından indüklenen MN frekansını kullanılan dozları ile ilişkili olarak anlamlı düzeyde indirgemıştır. Buradan hareketle de TYR ve KAR'ın *in vitro* MN testinde MMC ve *SKF tarafından indüklenen genotoksiteye karşın kuvvetli bir antigenotoksik etkiye sahip olduğu söylenebilir.

Benzer şekilde *in vitro* CA testi sonuçlarında da (Çizelge 4.11; 4.14) hem TYR hem de KAR'ın tek başlarına, TA ve TA-(G+P) frekanslarını arttırmadıkları için, genotoksik etkiye sahip olmadıkları belirlenmiştir. Mİ değerleri açısından da (Çizelge 4.12; 4.15) hem TYR hem de KAR'ın sitotoksik bir etkiye sahip olmadıkları belirlenmiştir. *In vitro* CA testinde MMC ve *SKF tarafından indüklenen genotoksiteye karşın ise hem TYR hem de KAR'ın, kullanılan dozları ile ilişkili olarak, kuvvetli bir antigenotoksik etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

In vitro SCE testi sonuçlarında da (Çizelge 4.16; 4.18) TYR ve KAR'ın ayrı ayrı tek başlarına, SCE/Hücre ve SCE/Kromozom frekanslarını arttırmadıkları için herhangi bir genotoksik etkiye sahip olmadıkları belirlenmiştir. TYR ve KAR'ın ayrı ayrı tek başlarına uygulamaları sonucunda elde edilen Rİ (Çizelge 4.17; 4.19) değerinin kontrolle kıyaslanması sonucunda anlamlı bir farklılık belirlenmediği için TYR ve KAR'ın herhangi bir sitotoksik etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir. TYR ve KAR'ın MMC ve *SKF ile kombin uygulamaları sonucunda hem TYR'nin hem de KAR'ın genotoksik ajanlarımız tarafından indüklenen SCE/Hücre ve SCE/kromozom frekanslarını anlamlı düzeyde, kullanılan dozlarına bağlı olarak indirmediği

belirlenmiştir. Bu nedenle *in vitro* SCE testi sonuçlarımıza göre de hem TYR hem de KAR'ın kullanılan dozları ile ilişkili, kuvvetli bir antijenotoksik etkisi olduğunu söyleyebiliriz.

İn vitro komet testinde de hem TYR hem de KAR tek başlarına hiçbir komet parametresini arttırmamıştır (Çizelge 4.20; 4.21). Bununla birlikte hem TYR hem de KAR'ın *SKF tarafından indüklenen komet parametreleri üzerinde kullanılan doz ile ilişkili olarak, indirgeci bir etkiye sahip oldukları belirlenmiştir.

Elde ettiğimiz komet bulgularımızda MMC, *in vivo* da komet parametrelerini arttırıcı bir etki gösterirken *in vitro*'da bu etkiyi göstermemiştir. Pawar ve ark. (2009) *in vivo* da fareler ile Aoyoma ve ark. (2003) euglena'da, Aydın ve ark. (2004), Miliç ve Kopjar (2004) insan lenfositleri, Hovhannisyan (2005) farklı hücre hatları ile gerçekleştirdikleri alkali komet testinde herhangi bir modifikasyon gerçekleştirilmeden MMC'nin DNA hasarlarını arttırdığını belirlemiştirlerdir. Çalışmamızda TYR ve KAR'ın MMC'ye karşı olası antijenotoksik etkisi diğer yöntemler ile (MN, CA, SCE) de araştırıldığı için bizim çalışmamızda alkalik komet yönteminde MMC'yi genotoksik ajan olarak denememizin, TYR ve KAR'ın olası genotoksite/antijenotoksitesini araştırmamıza engel olmayacağını düşündük. Bununla birlikte TYR ve KAR'ın komet yöntemi ile belirlenebilecek olası genotoksik etkileri tek başlarına uygulanarak, olası antijenotoksik etkileri ise SKF (*SKF) ile kombinlenerek ortaya konulmuştur. MMC için uygulanan komet testinden elde ettiğimiz bulgular *in vivo* da Pawar ve ark. (2009) Sasaki ve ark (1997) ve Aoyoma ve ark. (2003)'ün bulguları ile uyumludur. *İn vitro* da MMC'nin komet yönteminde pozitif sonuç vermemesinin nedeni MMC'nin bir DNA - DNA çapraz bağlayıcı ajan olmasından kaynaklanmaktadır. DNA çapraz bağları komet yönteminde kuyruk oluşturacak DNA'nın göç etmesini engellemektedir (Tice ve ark. 2000). *İn vivo* da MMC ile indüklenen DNA hasarlarını komet yöntemi ile belirleyebilmemizin temelinde, MMC'nin *in vivo*'da oksidatif stres yolağı üzerinden daha çok hasar oluşturduğunu ve bunlar içerisindeki DNA kırıklarından çapraz bağlar ile bağlanmadan kalanların pozitif sonuç verdiğini düşünmekteyiz. Ancak özellikle *in vitro* daki negatif sonuç nedeniyle MMC'nin alkalik komet yöntemi için modifikasyon olmaksızın, uygun bir pozitif kontrol olmadığı düşüncesine katılmaktayız (Tice ve ark.

2000). Özellikle MMC için *in vivo* komet testinde elde ettiğimiz sonuçların ayrıntılı analizini gerçekleştirebilmek için, ileride daha kapsamlı bir çalışmanın planlanması düşünüldü.

TYR *in vivo* MN, CA ve komet testlerinde benzer sonuçlar oluşturmuştur, bununla birlikte TYR için elde edilen *in vitro* bulgularda kendi içinde ve *in vivo* sonuçlar ile uyumlu görülmektedir. *In vivo* ve *in vitro* karşılaştırmalarda (Çizelge 4.22) TYR'nin antigenotoksik etkisinde *in vivo* ve *in vitro* çalışmalar açısından genel olarak bir fark görülmemektedir. Özellikle zeytin ve zeytinyağı ile alınan TYR'nin emiliminden sonraki plazma konsantrasyonları ve konjuge metabolit tipleri kesin olarak bilinmemektedir ve araştırılmaya devam edilmektedir (Napolitano ve ark. 2010). Tuck ve Hayball (2002), Napolitano ve ark. (2010) gerçekleştirilen hayvan deneyleri ile TYR'nin, büyük olasılıkla O-metil Hidroksityrosol'e metabolize olduğunu düşündüklerini belirtmektedirler. Ancak Vissers ve ark. (2002) insanlar ile yaptıkları çalışmalarında TYR'nin sadece glukuronitlerine metabolize olduğunu göstermişlerdir. Mateos ve ark (2005) insan hepatoma HepG2 hücreleri ile gerçekleştirdikleri çalışmalarında TYR'nin çok düşük oranda metabolize edildiğini göstermişlerdir. Çalışmamızda elde ettiğimiz *in vivo* ve *in vitro* TYR uygulamalarında antigenotoksik bulgularımızın benzer olmasının nedeni olarak TYR'nin bu düşük metabolizasyonunu gösterebiliriz. Böylece TYR'nin antigenotoksik etkisini göstermesinde metabolitlerinin değil kendisinin rol oynadığını düşünmekteyiz.

TYR ve KAR'ın antigenotoksik etkilerinin karşılaştırma (Çizelge 4.23) sonuçları, genel olarak benzer görülmektedir. Bunun sebebi olarak, hem TYR hem de KAR'ın benzer yolları kullanarak antigenotoksik etki gösterdiğini düşünmekteyiz.

Tek başına TYR kullanılarak gerçekleştirilen antigenotoksik çalışmalarının sınırlı olması nedeniyle özellikle zeytinyağı ile gerçekleştirilen farklı çalışmaların sonuçlarını değerlendirdiğimizde, genellikle zeytinyağının antigenotoksik etkilerini gösteren çalışmalara rastlanmaktadır.

Evangelista ve ark. (2004, 2006) sıçanlarla gerçekleştirdikleri çalışmalarında, zeytinyağı, mısır yağı, kanola yağı kullanarak M.İ. üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Bu yağların yüksek dozları olan 5 mL/kg dozlarda bile M.İ değerinin kontrol grubundan farklılık göstermediğini belirlemiştir. Bu bulgular, bizim sitotoksite parametrelerimiz olan PCE/NCE; M.İ; NDİ; R.İ. bulgularımızı destekler niteliktedir.

Drosophila SMART yöntemini kullanarak soya yağı, susam yağı ve zeytinyağının mutajenik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, susam ve soya yağının aksine, doğal zeytinyağının herhangi bir mutajenik etkisinin bulunmadığı belirlenmiştir (Rojas-Molina ve ark. 2005). Sıçan kemik iliği hücrelerinde zeytinyağının genotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda Antunes ve Takahashi (1999), Evangelista ve ark. (2004, 2006), Sendão ve ark. (2006). Zeytinyağının herhangi bir genotoksik etkisinin olmadığını belirlemiştir. Nosis ve ark. (2005) çalışmalarında T- lenfotik Jurkat hücrelerinde komet yöntemi ile H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarı üzerine zeytinyağının antigenotoksik etki gösterdiklerini belirtmişlerdir. Ancak aynı çalışmada 100 µg/ ml'nin üzerindeki zeytinyağı dozlarının genotoksik etki gösterdiğini belirlemiştir. Gill ve ark. (2005) HT29 insan kolon kanseri hücre hattında komet testini kullanarak zeytinyağının fenolik ekstraktlarının, H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarlarını azalttıklarını belirlemiştir. Weinbrenner ve ark. (2004) 12 gün süre ile günde 25 ml zeytinyağı tüketen erkek donörlerin lenfositlerinde 8- oxo-dG (8 – Oksijen deoksiguanozin) miktarlarında azalma belirlemiştir. Benzer şekilde Machowetz ve ark. (2007) 182 sağlıklı erkek donöre 3 hafta süre ile günde 25 ml zeytinyağı tükettirmişlerdir, sonra lenfositlerinde 8- oxo-dG (8 – Oksijen deoksiguanozin) miktarlarında azalma belirlenmiştir. Hillestrom ve ark. (2006) benzer şekilde, 3 hafta süre ile günde 25 ml zeytinyağı tüketen 28 sağlıklı erkek donörün ürünlerinde Etano-DNA adduct seviyelerini araştırmışlardır. Ancak zeytinyağı tüketiminin bu parametre üzerine herhangi bir etkisini belirleyememişlerdir. Salvini ve ark. (2006) 8 hafta süre ile günde 50 g zeytinyağı tüketen postmenopozal dönemdeki kadınlarla gerçekleştirdikleri çalışmada komet yöntemi ile lenfositlerde DNA hasarı araştırmışlardır. Sonuç olarak zeytinyağı tüketiminin DNA hasarını azalttığını belirlemiştir.

Bu çalışmaların hepsi aktif fenolik bileşik olarak TYR'de içermesi bakımından bizim genotoksite ve antigenotoksite sonuçlarımız ile paralel görülmektedir. Ancak bu çalışmalarda TYR'nin tek başına etkisi ortaya konulmamaktadır.

Zeytinyağı fenoliklerinin tek başına kullanıldığı çalışmalar da bulunmaktadır. Grasso ve ark. (2007) insan periferik kan lenfosit kültürlerinde H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarlarına karşı hidrosityrosol'ün antigenotoksik etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Nousis ve ark. (2005) PC3 insan prostat kanser hücre hattında, Hidrosityrosol, Tyrosol ve Kafeik asitin genotoksik etkilerini ve H₂O₂ tarafından indüklenmiş DNA hasarı üzerine antigenotoksik etkilerini Komet yöntemi kullanarak araştırmışlardır. Sonuçta her üç fenolik bileşiğin de genotoksik olmadığını, aksine her üçünün de antigenotoksik olduğunu belirtmişlerdir. Bu sonuçlarda bizim bulgularımızı destekler niteliktedir.

KAR içeren bitki ekstraktları ile yapılan birçok çalışma bulunmaktadır. Patenkovic ve ark (2009) çalışmalarında Salvia ekstraktının *Drosophila* SMART yöntemi ile Metil metan Sülfonat (MMS) tarafından idüklenen mutasyonlara karşı antimutajenik etkiye sahip olduklarını belirlemişlerdir. Ramos ve ark (2012) Salvia ekstraktlarının, HCT15 ve CO115 kolon kanseri hücre hatlarında H₂O₂, N-metil-N-nitrosure (MNU) ve 1,3-bis-(2-chloroethyl)-1-nitrosourea (BCNU) tarafından indüklenen DNA hasarlarına karşı antigenotoksik etki gösterdiğini komet yöntemi ile belirlemişlerdir. Salemonova ve ark. (2002) kolon kanser hücre hattı olan CaCo-2 ve Hamster akciğer hücre hattı olan V79 hücrelerinde, H₂O₂ ve görünür ışık tarafından oluşturulan, Metilen mavisi ile belirlenebilen DNA hasarları üzerine biberiye ekstraktlarının antigenotoksik etki gösterdiklerini komet yöntemi ile belirlemişlerdir. Del Bano ve ark. (2006) gerçekleştirdikleri çalışmalarında tek başlarına, KAR, Karnosol ve Rosmarinik asitin insan lenfositlerinde radioprotektif etkilerini MN yöntemi kullanarak araştırmışlardır. KAR, γ ışını uygulamasından önce ve sonra olmak üzere iki farklı şekilde de MN frekansını indirgemıştır. Costa ve ark. (2007) İnsan Hepatoblastoma hücreleri olan Hep G2 hücrelerinde AFB1 ile indüklenen sitotoksisite ve genotoksisite üzerine KAR'ın etkisini araştırmışlardır. Araştırmacılar, sonuç olarak AFB1 tarafından indüklenen sitotoksisiteyi, 10, 20, 30 µM'lık KAR dozlarının sırasıyla; %16, %26, %63 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Bununla birlikte 30 µM'lık KAR dozunun AFB1 tarafından

indüklenen 8- oxo-dG miktarını da %57 oranında azalttığını belirlemişlerdir. Sonuç olarak araştırmacılar KAR'ın AFB1 toksisitesine karşı kimyasal engelleyici olarak kullanılabileceğini belirtmişlerdir. KAR ve KAR içeren bitki ekstraktları ile gerçekleştirilen bu çalışmalar bizim çalışmamızda elde ettiğimiz KAR'ın antigenotoksik etkisini destekler niteliktedir.

Bunların dışında antigenotoksik etki gösteren pek çok madde ve bitkisel ekstraktın aynı zamanda anti kanser etki de gösterebilmektedir.

Zeytinyağının ve bununla ilişkili akdeniz diyetinin kansere karşı koruyucu etkisini gösteren birçok epidemiyolojik çalışma bulunmaktadır. Bunun yanı sıra Bartoli ve ark (2000) gerçekleştirdikleri çalışmada zeytinyağının, sıçanlarda kolon kriptlerinin ve kolon karsinomanın gelişimini engellediğini göstermişlerdir. Juan ve ark. (2010) zeytin meyve ekstraktlarının ve zeytinyağındaki önemli pentasiklik triterpenlerin, İnsan kolon kanseri hücre hattı olan HT-29 hücrelerinde proliferasyonu azalttığını ve apoptozisi arttırdığını belirlemişlerdir. Ragione ve ark. (2000) İnsan Promiyolitik Lökemi hücre hattı olan HL-60 hücrelerinde Hidroksityrosol'ün antiproliferatif etki gösterdiğini belirlemişlerdir. Fabiani ve ark. (2002, 2008) yine HL-60 hücrelerinde Hidroksityrosol'ün hücre siklusunu kontrol proteinlerine etki ederek proliferasyonu ve hücre büyümesini engellediklerini belirlemişlerdir. Hashim ve ark. (2008) çalışmalarında Hidroksityrosol'ün HT115 insan kolon kanseri hücrelerinde metastası engellediğini göstermişlerdir.

Biberiye ekstraktı ile gerçekleştirilen ilginç bir çalışmada, Leal ve ark (2003), K562 (lösemi), MCF7 (meme), NCIADR (multi ilaç resistant meme), NCI460 (akciğer), UACC62 (melanoma), OVCAR (ovaryum), HT29 (kolon), PCO3 (prostat), 786 (böbrek) olmak üzere dokuz farklı kanser hücre hattında 0.25, 2.5, 25 ve 250 µg/mL'lik biberiye ekstraktı dozlarını kullanarak antikanser aktivite araştırmışlardır. Çalışılan biberiye dozların tamamının, kullanılan hücre hatlarının hiç birinde anti kanser aktivite göstermediğini belirlemişlerdir. Bu çalışma dışında biberiye ekstraktının antikanser özelliğini gösteren birçok çalışma bulunmaktadır. Visanji ve ark. (2006) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, 500-1000 mg/kg'lık biberiye ekstraktlarının,

farelerde DMBA tarafından indüklenen epidermal tümörlere karşı indirgeyici etkileri olduğunu belirlemişlerdir. Steiner ve ark. (2001) çalışmalarında, insan miyaloid lösemi hücreleri olan HL-60 ve U937 hücrelerini kullanarak KAR'ın antiproliferatif etkiye sahip olduğunu belirlemişlerdir. Sancheti ve Goyal (2006a,b), Sharabani ve ark. (2006) çalışmalarında insan miyaloid lösemi hücreleri olan HL60 ve U937 hücrelerinde, kemoteropatik ajan olan 1 α ,25-dihidroksivitamin D3 (1,25D3)'ün düşük dozlarının KAR ile birlikte kullanılmasıyla antiproliferatif etkinin kuvvetlendiğini göstermişlerdir. Nabekura ve ark. (2010) çalışmalarında, KB C2 multi ilaç dirençli insan servikal karsinoma hücrelerinde KAR, Karnosol, Rosmarinik asit, Ursolik asidin 50 μ M dozlarının ilaç akış transfer proteinlerini inhibe ettiğini belirlemişlerdir. KAR'ın Bulgularına dayanarak özellikle KAR gibi biberiye fitokimyasallarının kemoterapide anti kanser ilaçların etkisini arttırıcı olarak kullanılabileceğini önermişlerdir. Yine aynı çalışmada insan melanoma hücreleri olan M14 ve A375 hücreleri üzerinde biberiye ekstraktının 10–80 μ M'lık dozlarının etkisi araştırılmıştır. Biberiye ekstraktının bu hücrelerde proliferasyonu ve DNA hasarını inhibe ettiğini, apoptozisi ise indüklediğini belirlemişlerdir. TYR ve KAR uygulamalarından elde ettiğimiz PCE/NCE; M.İ; NDİ; R.İ. gibi sitotoksite parametrelerimizin kontrol grubundan istatistiksel olarak farklı olmaması yukarıda örneklendirilen antikanser etkinin belirlendiği çalışmalar ile uyumsuzluk göstermektedir. Ancak Farklı çalışmalarda özellikle KAR'ın antikanser etki göstermesi için *in vitro*da kullanılan dozu 50 μ M'lık bir dozdur bizim uyguladığımız maksimum doz ise yaklaşık 6 μ M'lık bir dozdur. Burdan hareketle TYR ve KAR için *in vitro* da daha yüksek dozları kullanmanın M.İ; NDİ; R.İ. gibi sitotoksite değerlerimizi düşürebileceğini ve bununla ilişkili olarak antikanser etki gösterebileceğini düşünmekteyiz. Ancak bunun özellikle farklı kanser hücre hatlarının kullanıldığı çalışmalarla desteklenmesi gerektiğini de düşünmekteyiz.

TYR ve KAR'ın antigenotoksik etki mekanizmasının temelinde hem TYR'nin hem de KAR'ın kuvvetli antioksidanlar olması yatmaktadır (Aruoma ve ark. 1992, de la Puerta ve ark. 1999,2001, Giovannini ve ark. 1999,2002, Moreno 2003, Frankel ve ark. 1996, al-Sereiti ve ark. 1999, Moran ve ark. 2005, Costa ve ark. 2007, Anderson ve ark. 2008, Ngo ve ark. 2011). Özellikle MMC ve SKF (*SKF) tarafından oluşturulan çeşitli serbest radikallere karşı hem TYR hem de KAR serbest radikal süpürücü (elektron vererek)

ve zincir kırıcı etkileri ile serbest radikalleri etkisiz hale getirmekte dolayısı ile de DNA hasarlarını azaltmaktadırlar. Bununla birlikte antioksidanlar metal şelatlama yoluyla üzerinden de serbest radikallere etki ederek DNA'ya hasar vermelerini engelleme bilmektedirler. Barbouti ve ark. (2010) çalışmalarında zeytin fenoliklerinin metal şelasyonunda rol aldığını göstermişlerdir. Ayrıca bitkisel antioksidanların metabolik enzimlere etki ederek, radikallerin DNA hasar etkilerini indirgeyebildiği belirlenmiştir. Takahashi ve ark. (2009) gerçekleştirdikleri çalışmalarında fare preadiposit hücreleri olan 3T3-L1 hücrelerinde özellikle faz II enzim genlerinin ve glutatyon metabolizması genlerinin cDNA mikroarrayi ile KAR'ın diferansiyasyon üzerindeki etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar, KAR'ın intraselüler Glutatyon (GSH) seviyesini arttırdığını belirlemişlerdir. Çalışmada, Preadipositlerin, adiposite dönüşümünde kritik bir role sahip olan GSH seviyesindeki artış sayesinde preadipositlerin adiposit hücrelerine farklılaşmadığını belirlenmiştir. Fiander ve Schneider (2000) çalışmalarında, insan beyin nöroblastoma hücreleri olan IMR-32 hücrelerinde H₂O₂ tarafından indüklenen oksidatif strese karşı KAR'ın etkilerini GST aktivitesini ölçerek araştırmışlardır. Aynı zamanda MTT yöntemi ile KAR'ın antiproliferatif etkileri de araştırılmıştır. Bu çalışmada, araştırmacılar KAR'ın proliferasyonu indirgediği aynı zamanda GST aktivitesini arttırarak hücreleri oksidatif stresten koruduğunu belirlemiştir. Offord ve ark. (1995,1997) çalışmalarında, biberiye ekstraktlarının, benzo(a)piren ve Aflatoksin B1 (AFB1) ile indüklenmiş oksidatif strese karşı antioksidan ve antikanser etkilerini insan bronşial epitel hücreleri olan B.CMVIA2 ve B.CMV3A4 hücrelerinde ve akciğer epitel hücreleri olan T.CMVIA2 ve T.CMV3A4 1131 hücrelerinde araştırmışlardır. Sonuç olarak araştırmacılar, 5 µg/mL'lik biberiye ekstraktlarının antikanser ve antioksidan özelliklerini belirlemişlerdir. Biberiye ekstraktlarının bu özelliklerini gösterirken faz I enzimlerinden sitokrom p450'yi katalizleyerek prokarsinojenlerin metabolik aktivitelerini inhibe ettiğini ve GST gibi faz II enzimlerini katalizleyerek detoksifikasyonu indüklediklerini belirlemişlerdir. Goya ve ark. (2007) çalışmalarında hidroksityrosol'ün tersiyerbütillhidroperoksit tarafından arttırılan glutatyon peroksidaz aktivitesini indirgediğini, malondialdehit seviyesini yükselttiğini belirlemişlerdir. Soobrattee ve ark. (2005) çalışmalarında fenolik antioksidanların, seçici inhibisyonlar ve ya aktivasyonlar yaparak etkili olabileceklerini de belirtmektedirler. Satoh ve ark. (2008) çalışmalarında KAR'ın nöroprotektif

etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar KAR'ın, Keap1/Nfr2 transkripsiyonel yolda spesifik Keap1 sistein kalıntılarına baēlanarak nöron hücrelerini oksidatif strese koruduēunu belirlemişlerdir. Araştırmacılar bulgularına dayanarak KAR'ın yeni tip nöroprotektif elektrofilik bileşik olduēunu vurgulamışlardır. Offord ve ark. (2002) gerçekleştirdikleri çalışmalarında, 26 yaşında bir erkekte kökenlenen insan dermal fibroblast hücre kültürlerinde, UVA harabiyetine karşın KAR'ın etkilerini araştırmışlardır. Çalışmada KAR'ın 0,3 ve 3 µM'lık konsantrasyonları kullanılmıştır. Araştırmacılar UVA tarafından indüklenen Kollagenaz metalloproteinaz 1 (MMP-1) ve heme-oksigenaz I (HO-1) genlerinin ekspresyonuna KAR'ın etkilerini araştırmışlardır. Araştırmacılar gerek UVA'nın hasarının belirteci olarak kullandıkları MMP-1 gerekse oksidatif stres belirteci olarak kullandıkları HO-1 genlerinin ekspresyonunun KAR tarafından indirildiēini belirlemişlerdir. Bulgularından hareketle araştırmacılar KAR'ın fotoprotektif etkiye sahip bir antioksidan olduēunu vurgulamışlardır.

Sonuç olarak bu çalışmada kullanılan TYR ve KAR, serbest radikal süpürücü etkileri, zincir kırıcı etkileri ve metabolik antioksidan savunma mekanizması ilişkili genleri etkileyerek özellikle serbest radikal ilişkili DNA hasarlarını indirmeye görülmektedir.

Bir takım bitkisel preparatlarla gerçekleştirilen antigenotoksik, antikanser etki çalışmaları gibi çalışmalar gün geçtikçe artmaktadır. Birçok ilacın, hammaddesini oluşturan bitkisel preparatların bu etkilerinin belirlenmesi oldukça önemlidir. Ancak, bir bitkisel preparat içerisinde bulunan maddelerin, tek başlarına mı, yoksa sinerjistik etkileşim ile mi olumlu etki gsterdiēinin belirlenmesi, ilaç hammaddelerinin belirlenebilmesi için çok önemli bir basamaktır. Bunun en iyi yolunun ise, söz konusu maddelerin tek başlarına kullanıldıēı çalışmaların artması olacaēını düşünmekteyiz. Bu baēlamda çalışmamızda elde ettiēimiz bulguların TYR ve KAR için gerçekleştirilebilecek, bu doērultudaki çalışmalara katkı saēlayabileceēini düşünmekteyiz.

Elde edilen bulguların ıřıēında, TYR ve KAR'ın kullanılan dozlarla sınırlı kalsa da herhangi bir sitotoksik ve genotoksik etkisinin bulunmadıēı belirlenmiştir. Bununla birlikte her iki bitkisel bileřiēimiz de MMC ve SKF (*SKF) tarafından oluşturulan genotoksik

etkilere karşı kuvvetli bir antigenotoksik etki göstermiştir. Sonuç olarak TYR ve KAR'ın kimyasal korunma stratejisi çerçevesinde kullanılabilir bitkisel bileşikler olduğunu düşünmekteyiz. Ancak TYR ve KAR'ın daha yüksek dozlarında oluşabilecek çeşitli genetik ve fizyolojik risklerin ortaya konulmasını amaçlayan farklı çalışmalara ihtiyaç olduğunu düşünmekteyiz.

KAYNAKLAR

- Abuja, P.M, Albertini R. 2001.** Methods for monitoring oxidative stress, lipid peroxidation and oxidation resistance of lipoproteins. *Clinica Chimica Acta.*, 306:1-17.
- Aeschbach, R., Aeschbacher, H. V., Phillipossian, G. 1990.** Process for obtaining carnosic acid and its utilization for its anticarcinogenic and antiviral property. Eur. Patent 90119218.7.
- Afanas'ev, I.B., Korkina, L.G., Suslova, T.B. Soodaeva, S.K. 1990.** Are quşnones producers or scavengers of superoxide ion in cells? *Arch. Biochem. Biophys.*, 281, 245-250.
- Agrawal, R.C., Pandey, S. 2009.** Evaluation of anticarcinogenic and antimutagenic potential of *Bauhinia variegata* extract in Swiss albino mice. *Asian Pac J Cancer Prev.*, 10(5), 913-916.
- Ahmad, S. 1995.** Oxidative stress from environmental pollutants, *Arch. Insect Biochem. Physiol.* 29: 135–157.
- Akhondzadeh, S., Noroozian, M., Mohammadi, M., Ohadinia, S., Jamshidi, A.H., Khani, M. 2003.** *Salvia officinalis* extract in the treatment of patients with mild to moderate Alzheimer's disease: a double blind, randomized and placebo-controlled trial. *J Clin Pharm Ther.* 28, 53–59.
- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa, H., Shuker, D.E., Tice, R., Waters, M.D., Aitio, A., 2000.** IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans, International Programme on Chemical Safety, *Mutat. Res.* 463: 111–172.
- Al-Sereiti, M.R., Abu-Amer, K.M., Sen, P. 1999.** Pharmacology of rosemary (*Rosmarinus officinalis* Linn.) and its therapeutic potentials. *Indian J Exp Biol.*, 37, 124–130.
- Amagase, H., Sakamoto, K., Segal, E.R., and Milner, J.A. 1996.** Dietary rosemary suppresses 7,12-dimethylbenz(a)anthracene binding to rat mammary cell DNA. *J Nutr.* 126: 1475–1480.
- Amin, A., Hamza, A.A. 2005.** Hepatoprotective effects of Hibiscus, Rosmarinus and Salvia on azathioprine-induced toxicity in rats. *Life Sciences*, 77, 266–278.
- Aminetzach, Y.T., Macpherson, J.M., Petrov, D.A. 2005.** Pesticide resistance via transposition-mediated adaptive gene truncation in *Drosophila*. *Science* 309 (5735), 764–767.
- Anderson, D., Cheng, Y., Duan, R.D. 2008.** Ursolic acid inhibits the formation of aberrant crypt foci and affects colonic sphingomyelin hydrolyzing enzymes in azoxymethane-treated rats. *J Cancer Res Clin Oncol.*, 134, 101–107.
- Anonim 2012a.** <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/m0440?lang=en®ion=TR> (Erişim Tarihi: Ağustos 2012).
- Anonim 2012b.** <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c0768?lang=en®ion=TR> (Erişim Tarihi: Ağustos 2012).
- Anonim 2012c.** <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/m4287?lang=en®ion=TR>. (Erişim Tarihi: Ağustos 2012)
- Anonim 2012d.** <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/c0609?lang=en®ion=TR>. (Erişim Tarihi: Ağustos 2012)
- Anonim 2012e.** <http://www.sigmaaldrich.com/content/sigma-aldrich/global-home/global/en/life-science/cell-biology/cancer-research/learning-center/cancerresearchprotocols/comet-assay.html>. (Erişim Tarihi; Ağustos 2012)

- Anonim 2012g.** <http://monographs.iarc.fr/ENG/Classification/index.php>. (Erişim Tarihi Ağustos 2012).
- Anonim 2012f.** <http://www.leanitup.com/antioxidants/> (Erişim Tarihi: Ağustos 2012).
- Antunes, L.M.G. ve Bianchi, M.L.P. 2010.** *In vivo* Cytogenetic Effects of Multiple Doses of Dietary Vegetable Oils: Position of Olive Oils. : Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK. 1225-1235.
- Antunes, L.M.G., Takahashi, C.S., 1999.** Olive oil protects against chromosomal aberrations induced by doxorubicin in Wistar rat bone marrow cells. *Genet. Mol. Biol.*, 22, 225–227.
- Aoyama K, Iwahori K, Miyata N. 2003.** Application of *Euglena gracilis* cells to Comet assay: evaluation of DNA damage and repair. *Mutat Res.*538(1-2):155-62.
- Speit, G., Schütz, P., Merk, O., 2000. Induction and repair of formaldehyde- induced DNA-protein crosslinks in repair-deficient human cell lines. *Mutagenesis* 15(1): 85-90.
- Aruoma, O. I., Halliwell, B., Aeschbach, R., Loligers, J. 1992.** Antioxidant and pro-oxidant properties of active rosemary constituents: carnosol and carnosic acid. *Xenobiotica*, 22, 257-268.
- Azqueta, A., Shaposhnikov, S., Collins A.R. 2009.** Detection of Oxidised DNA Using DNA Repair Enzymes: The Comet Assay in Toxicology, Ed.: Dhawan, A., ve Anderson, D., Cambridge, UK., pp. 57-78.
- Barbouti, A., Briasoulis, E., Galaris, D. 2010.** Protective Effects of Olive Oil Components Against Hydrogen Peroxide-induced DNA Damage: The Potential Role of Iron Chelation. *Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention*, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK. 1003-1109.
- Bartoli, R., Fernandez-Banares, F., Navarro, E., Castella, E., Mane, J., Alvarez, M., Pastor, C., Cabre, E., Gassull, M.A., 2000.** Effect of olive oil on early and late events of colon carcinogenesis in rats: modulation of arachidonic acid metabolism and local prostaglandin E(2) synthesis. *Gut* 46, 191–199.
- Bauer, J., Kuehnl, S., Rollinger, J.M., Scherer, O., Northoff, H., Stuppner, H., Werz, O., Koeberle, A. 2012.** Carnosol and Carnosic Acids from *Salvia officinalis* Inhibit Microsomal Prostaglandin E2 Synthase-1. *JPET*, 342, 169–176.
- Baumann, R.P., Hodnick, W.F., Seow, H.A. 2001.** Reversal of mitomycin c resistance by overexpression of bioreductive enzymes in chinese hamster ovary cells. *Cancer Res*, 61, 7770-7776.
- Becker, M.A., Roessler B.J. 1995.** Hyperuricemia and Gout. In Scriver CR, Beaudet AL, Sly WS. *The Metabolic and Molecular Bases of Inherited Disease*, New York: 7th Ed. McGraw-Hill, 1655-1677.
- Benn, P.A., Perle, M.A., 1992.** Chromosome staining and banding techniques: Human Cytogenetics: A Practical Approach I–II. Ed.: Rooney, D.E., Czepulkowsky, B.H., Oxford, pp. 7–83.
- Bennani, H., Drissi, A., Giton, F., Kheuang, L., Fiet, J., Adlouni, A. 2007.** Antiproliferative effect of polyphenols and sterols of virgin argan oil on human prostate cancer cell lines. *Cancer Detection and Prevention*, 31, 64–69.
- Berni, A., Grossi, M.R., Pepe, G., Filippi, S., Muthukumar, S., Papeschi, C., Natarajan, A.T., Palitti, F. 2012.** Protective effect of ellagic acid (EA) on micronucleus formation induced by N-methyl-N¹-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) in mammalian cells, in *in vitro* assays and *in vivo*. *Mutation Research*, 746: 60– 65.

- Bertelli, A.A.E., Migliori, M., Panichi, V., Longoni, B., Origlia, N., Ferretti, A., Cuttano, M.G., Giovannini, L. 2002.** Oxidative Stress and Inflammatory Reaction Modulation by White Wine. *Ann. N.Y. Acad. Sci.*, 957, 295-301.
- Bertram, J. 2000.** The molecular biology of cancer. *Mol. Aspects Med.* 21 (6), 167–223.
- Bianco, A., Coccioli, F., Guiso, M., Marra, C., 2001.** The occurrence in olive oil of a new class of phenol compounds: hydroxy-isochromans. *Food Chem.*, 77, 405–411.
- Bligh, H.F.J., Bartoszek, A., Robson, C.N., Hicson, I.D., Kasper, C.B., Beggs, J.D., Wolf, C.R. 1990.** Activation of mitomycin c by NADPH:Cytochrome P450 reductase. *Cancer Res.*, 50, 7789-7792.
- Bokulić, A., Garaj-Vrhovac, V., Brajša, K., Đurić, K., Glojnarčić, I.K., Šitum, K. 2011.** The effect of apigenin on cyclophosphamide and doxorubicin genotoxicity *in vitro* and *in vivo*. *Journal of Environmental Science and Health Part A*, 46: 526–533.
- Bonassi, S., Fenech, M., Lando, C., Lin, Y., Ceppi, M., Chang, W.P., Holland, N., Kirsch-Volders, M., Zeiger, E., Ban, S., Barale, R., Bigatti, M.P., Bolognesi, C., Jia, C., Di Giorgio, M., Ferguson, L.R., Fucic, A., Lima, O.G., Hrelia, P., Krishnaja, A.P., Lee, T.K., Migliore, L., Mikhalevich, L., Mirkova, E., Mosesso, P., Muller, W.U., Odagiri, Y., Scarfi, M.R., Szabova, E., Vorobtsova, I., Vral, A., Zijno, A. 2001.** HUMAN MicroNucleus Project: International Database Comparison for Results With the Cytokinesis-Block Micronucleus Assay in Human Lymphocytes: I. Effect of Laboratory Protocol, Scoring Criteria, and Host Factors on the Frequency of Micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 37, 31-45.
- Bonassi, S., Randa El-Zein, R., Claudia Bolognesi, C., Fenech, M. 2011.** Micronuclei frequency in peripheral blood lymphocytes and cancer risk: evidence from human studies. *Mutagenesis*, 26(1), 93–100.
- Braga, C., La Vecchia, C., Franceschi, S., Negri, E., Parpinel, M., Recarli, A., Giacosa, A., Trichopoulou, D., 1998.** Olive oil, other seasoning fats, and the risk of colorectal carcinoma. *Cancer*, 82, 448–453.
- Brooker, S., Martin, S., Pearson, A., Bagchi, D., Earl, J., Gothard, L., Hall, E., Porter, L., Yarnold, J. 2006** Double-blind, placebo-controlled, randomised phase II trial of IH636 grape seed proanthocyanidin extract (GSPE) in patients with radiation-induced breast induration, *Radiotherapy and Oncology*, 79(1), 45–51.
- Browne, M. 2009.** Imaging and image analysis in the comet assay. The Comet Assay in Toxicology, Ed.: Dhawan, A., ve Anderson, D., Cambridge, UK., pp. 390-423.
- Buiarelli, F., Di Bernardino, S., Coccioli, F., Jasionowska, R., Russo, M.V., 2004.** Determination of phenol acids in olive oil by capillary electrophoresis. *Anal. Chim.*, 94, 699–705.
- Burçak, G., Andican, G. 2004.** Oksidatif Dna Hasarı Ve Yaşlanma. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, 35(4), 159-169.
- Burrus, V., Waldor, M. 2004.** Shaping bacterial genomes with integrative and conjugative elements. *Res. Microbiol.* 155 (5), 376–86.
- Butler, J., Hoey, B.M., Swallow, A.J. 1988.** Reductive activation of mitomycin c. *Biochemistry*, 76, 2608-2614.
- Byung, P.Y. 1994.** Cellular Defenses Against Damage from Reactive Species. *Physiological Review*, 74(1), 139-172.
- Carrano, A.V., Natarajan A.T. 1988.** Considerations for population monitoring using cytogenetic techniques. *Mutat. Res.* 204, 379—406.

- Carrasco-Pancorbo, A., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Lercker, G., Fernández-Gutiérrez, A., 2007.** Evaluation of the influence of thermal oxidation in the phenolic composition and in antioxidant activity of extra-virgin olive oils. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 4771–4780.
- Carrasco-Pancorbo, A., Cruces-Blanco, C., Segura Carretero, A., Fernández Gutiérrez, A., 2004.** Sensitive determination of phenol acids in extra-virgin olive oil by capillary zone electrophoresis. *J. Agric. Food. Chem.*, 52, 6687–6693.
- Carrasco-Pancorbo, A., Gómez-Caravaca, A.M., Cerretani, L., Bendini, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2006.** Rapid quantification of the phenol fraction of Spanish virgin olive oils by capillary electrophoresis with uv detection. *J. Agric. Food Chem.*, 54, 7984–7991.
- Carrasco-Pancorbo, A., Segura-Carretero, A., Fernández-Gutiérrez, A., 2005.** Co-electroosmotic capillary electrophoresis determination of phenol acids in commercial olive oil. *J. Sep. Sci.*, 28, 925–934.
- Casanova, N.A., Ariagno, J.I., López Nigro, M.M., Mendeluk, G.R., Gette, M.A., Petenatti, E., Luis A. Palaorob, L.A., Carballoa, M.A. 2012.** *In vivo* antigenotoxic activity of watercress juice (*Nasturtium officinale*) against induced DNA damage. *J. Appl. Toxicol.*, DOI 10.1002/jat.2746.
- Castilla, P., D´avalos, A., Teruel, J.L., Cerrato, F., Fernández-Lucas, M., Merino, J.L., Sánchez-Martín, C.C., Ortuño, J., Lasunción, M.A. 2008** et al., Comparative effects of dietary supplementation with red grape juice and vitamin E on production of superoxide by circulating neutrophil NADPH oxidase in hemodialysis patients. *American Journal of Clinical Nutrition*, 87 (4), 1053–1061.
- Castilla, P., Echarri, R., D´avalos A., Cerrato, F., Ortega, H., Teruel, J.L., Lucas, M.F., Gómez-Coronado, D., Ortuño, J., Lasunción, M.A. 2006** Concentrated red grape juice exerts antioxidant, hypolipidemic, and antiinflammatory effects in both hemodialysis patients and healthy subjects. *American Journal of Clinical Nutrition*, 84(1), 252–262.
- Chabner, B.A., Amrein, P.C., Druker, B.J. 2006.** Antineoplastic Agents. In Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 11th ed. J Brunton LL, Lazo JS, and Parker KL, eds New York, NY: McGraw Hill. 1322-1328, 1694
- Chabner, B.A., D.P. Ryand, Pax-Ares L, Garcis-Carbonero Calaresi, P. 2001.** Antineoplastic Agents. In Goodman and Gilman's The Pharmacological Basis of Therapeutics, 10th ed. J.G. Harnam and L.E. Libmirde, eds New York, NY: McGraw Hill. 1389-1459
- Cherki, M., Derouiche, A., Drissi, A., El Messal, M., Bamou, Y., Idrissi-Ouadghiri, A., Khalil, A., Adlouni, A. 2005.** Consumption of argan oil may have an antiatherogenic effect by improving paraoxonase activities and antioxidant status: Intervention study in healthy men *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, 15, 352-360.
- Church, D.F., Pryor, W.A. 1985.** Free Radical chemistry of cigarette smoke and its toxicological implications. *Environ. Health Perspect*, 64: 111-126.
- Cimini, D., Degrassi, F. 2005.** Aneuploidy: a matter of bad connections. *Trends Cell Biol.*, 15, 442–451.
- Clarke, A.A., Philpott, N.J., Gordon-Smith, E.C., Rutherford, T.R. 1997.** The sensitivity of fanconi anemia group c cells to apoptosis induced by mitomycin c is due to oxygen radical generation, not DNA crosslinking. *Br. J. Haematol.*, 96, 240-247.

- Clarkson, P.M., Thompson, H.S. 2000.** Antioxidants: What role do they play in physical activity and health? *Am J Clin Nutr.*, 71: 637- 46.
- Cleaver, J.E., Mitchell, D.L., Feeney, L., Afzal, V. 1996.** Chromatid exchanges may be induced by damage in sites of transcriptional activity. *Mutagenesis*, 11(2),183-187.
- compounds from the leaves of *Salvia officinalis* in mice. *Journal of Ethnopharmacology*, 139, 519– 526.
- Costa, S., Utan, A., Speroni, E., Cervellati, R., Piva, G., Prandini, A., Guerra, M.C. 2007.** Carnosic acid from rosemary extracts: A potential chemoprotective agent against aflatoxin B1. An *in vitro* study. *J Appl Toxicol.* 27, 152–159.
- Coussens, L.M., Werb, Z. 2002.** Inflammation and cancer. *Nature*, 415; 420(6917): 860–867.
- Cross, A.J, Sinha, R. 2004.** Meat-Related Mutagens/Carcinogens in the Etiology of Colorectal Cancer. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 44: 44–55.
- Cuvelier, M. E., Berset, C., Richard, H. 1994.** Antioxidant constituents in sage (*Salvia officinalis*). *J. Agric. Food Chem.*, 42, 665- 669.
- Cuvelier, M. E., Richard, H., Berset, C. 1996.** Antioxidative activity and phenolic composition of pilot plant extracts of sage and rosemary. *J. Am. Oil Chem. Soc.* 73, 645-652.
- Danilenko, M., Wang, Q., Wang, X., Levy, J., Sharoni, Y., Studzinski, G.P. 2003.** Carnosic acid potentiates the antioxidant and proliferation effects of 1 α ,25-dihydroxyvitamin D3 in leukemia cells but does not promote elevation of basal levels of intracellular calcium. *Cancer Res.* 63, 1325–1332.
- De la Puerta, R., Martinez Dominguez, M.E., Ruiz-Gutierrez, V., Flavill, J.A., Hout, J.R. 2001.** Effects of virgin olive oil phenolics on scavenging of reactive nitrogen species and upon nitric neurotransmission. *Life Sci.*, 69, 1213–1222.
- De la Puerta, R., Ruiz Gutierrez, V., Hout, J.R.S., 1999.** Inhibition of leukocyte 5-lipoxygenase by phenolics from virgin olive oil. *Biochem. Pharmacol.*, 57, 445–449.
- De Stefano, D., Maiuri, M.C., Carnuccio, R. 2010.** Effects of Tyrosol on RAW 264.7 Macrophages Activated by Interferon- γ and Gliadin: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed: Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK., 1263-1268.
- Decordier, I., Dillen, L., Cundari, E., Kirsch-Volders, M. 2002.** Elimination of micronucleated cells by apoptosis after treatment with inhibitors of microtubules. *Mutagenesis*, 17: 337-334.
- Del Bano, M. J., Lorente, J., Castillo, J., Benavente-García, O., Mariñ, M. P., Del Rio, J. A., Ortunõ, A., Ibarra. 2004.** I. Flavonoid distribution during the development of leaves, flowers, stems and roots of *Rosmarinus officinalis*. Postulation of a biosynthetic pathway. *J. Agric. Food Chem.*, 52, 4987-4992
- Del Bano, M. J., Castillo, J., Benavente-García, O., Lorente, J., Martn-Gil, R., Acevedo, C., Alcaraz, M. 2006.** Radioprotective–Antimutagenic Effects of Rosemary Phenolics against Chromosomal Damage Induced in Human Lymphocytes by γ -rays
- Dhawan, A., Bajpayee, M., Parmar, D. 2009.** Detection of DNA Damage in Drosophila and Mouse: The Comet Assay in Toxicology, Ed.: Dhawan, A., ve Anderson, D., Cambridge, UK., pp. 151-170.
- Diana Anderson, D., Plewa, M.J. 1998.** The International Comet Assay Workshop. *Mutagenesis*, 13(1), 67-73.
- Dizdaroğlu, M. 2011.** Oksidatif Stres, DNA hasarı, Hastalıklarla ilişkisi. Kurs notları.

- Drissi, A., Bennani, H., Giton, F., Charrouf, Z., Fiet, J., Adlouni, A. 2006.** Tocopherols and saponins derived from *Argania spinosa* exert, an antiproliferative effect on human prostate cancer. *Cancer Invest.*, 24(6), 588-592.
- Dusre, L., Covey, J.M., Collins, C. Sinha, B.K. 1989.** DNA damage, cytotoxicity and free radical formation by mitomycin c in human cells. *Chem.Biol. Interact.*, 71, 63-78.
- Editorial, 2005.** Mechanistic approaches to chemoprevention of mutation and cancer. *Mutat. Res.*, 591, 3-7.
- EFSA, 2008.** Statement of the Panel on food contact materials, enzymes, flavourings and processing aids (CEF) on Genotoxicity Test Strategy for Substances belonging to Subgroups of FGE.19. *The EFSA Journal*, 854, 1-5.
- Elhajouji, A., Tibaldi, F., Kirsch-Volders, M., 1997.** Indication for thresholds of chromosome non-disjunction versus chromosome lagging induced by spindle inhibitors *in vitro* in human lymphocytes. *Mutagenesis* 12, 133-140.
- Elhajouji, A., Van Hummelen, P., Kirsch-Volders, M., 1995.** Indications for a threshold of chemically-induced aneuploidy *in vitro* in human lymphocytes. *Environ. Mol. Mutag.* 26, 292-304.
- El-Nahas, S.M., Mattar, F.E., Mohamed, A.A., 1993.** Radioprotective effect of vitamins C and E. *Mutat. Res.*, 301, 143-147.
- Evangelista, C.M.W., Antunes, L.M.G., Bianchi, M.L.P., 2006.** *In vivo* cytogenetic effects of multiple doses of dietary vegetable oils. *Genet. Mol. Biol.*, 29, 730-734.
- Evangelista, C.M.W., Antunes, L.M.G., Francescato, H.D.C., Bianchi, M.L.P., 2004.** Effects of the olive, extra virgin olive and canola oils on cisplatin-induced clastogenesis in Wistar rats. *Food Chem. Toxicol.*, 42, 1291-1297.
- Evans B.J. 1977.** What are sister chromatid exchanges? *Chromosome Today*, 6, 315-326.
- Evans, M.D., Cooke, M.S. 2004.** Factors contributing to the outcome of oxidative damage to nucleic acids. *BioEssays*, 26: 533-542.
- Evans, M.D., Dizdaroglu, M., Cooke, M. S. 2004.** Oxidative DNA damage and disease: induction, repair and significance. *Mutat. Res.*, 567: 1-61,
- Fabiani, R., De Bartolomeo, A., Rosignoli, P., Servili, M., Montedoro, G.F., Morozzi, G., 2002.** Cancer chemoprevention by hydroxytyrosol isolated from virgin olive oil through G1 cell cycle arrest and apoptosis. *Eur. J. Cancer Prev.*, 11, 351-358.
- Fabiani, R., Morozzi, G. 2010.** Anticarcinogenic Properties of Olive Oil Phenols: Effects on Proliferation, Apoptosis and Differentiation: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK.981-988 .
- Fabiani, R., Rosignoli, P., De Bartolomeo, A., Fuccelli, R., Morozzi, G., 2008.** Inhibition of cell cycle progression by hydroxytyrosol is associated with upregulation of cyclin-dependent protein kinase inhibitors p21(WAF1/Cip1) and p27(Kip1) and with induction of differentiation in HL60 cells. *J. Nutr.*, 138, 42-48.
- FDA, 2012.** Guidance for Industry S2(R1) Genotoxicity Testing and Data Interpretation for Pharmaceuticals Intended for Human Use.
- Fenech, M. 2002.** Chromosomal biomarkers of genomic instability relevant to cancer, *Drug Discov. Today* , 7 , 1128-1137.
- Fenech, M., 2005.** The Genome Health Clinic and Genome Health Nutrigenomics concepts: diagnosis and nutritional treatment of genome and epigenome damage on an individual basis. *Mutagenesis*, 20, 255-269.

- Fenech, M., Morley, A.A. 1985.** Measurement of micronuclei in lymphocytes. *Mutat Res.*, 147, 29–36.
- Ferguson, L.R., 1994.** Antimutagens as cancer chemopreventive agents in the diet, *Mutat. Res.*, 307 (1), 395-410.
- Feringa, H. H. H., Laskey, D. A., Dickson, J. E., Coleman, C. I. 2011.** The effect of grape seed extract on cardiovascular risk markers: a meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of the American Dietetic Association*, 111(8), 1173–1181.
- for Protection against Environmental Mutagens and Carcinogens. *Mutat. Res.*, 204, 379-406
- Franceschi, S. 1999.** Nutrients and food groups and large bowel cancer in Europe. *Eur. J. Cancer Prev.*, 8, 49–52.
- Franceschi, S., Favero, A., Conti, E., Talamini, R., Volpe, R., Negri, E., Barzan, L., La Vecchia, C., 1999.** Food groups, oils and butter, and cancer of the oral cavity and pharynx. *Br. J. Cancer*, 80, 614–620.
- Frankel, E.N., Huang, S-W., Aeschbach, R., Prior, E. 1996.** Antioxidant activity of a rosemary extract and its constituents, carnosic acid, carnosol, and rosmarinic acid, in bulk oil and oil-in-water emulsion. *J Agric Food Chem.*, 44, 131–135.
- Gamal-Eldeena, A.M., Abo-Zeidb, M.A.M., Ahmed, E.F. 2013.** Anti-genotoxic effect of the *Sargassum dentifolium* extracts: Prevention of chromosomal aberrations, micronuclei, and DNA fragmentation. *Experimental and Toxicologic Pathology* 65: 27–34.
- Garcia, C.L., Filippi, S., Mosesso, P., Calvani, M., Nicolai, R., Mosconi, L., Palitti, F., 2006.** The protective effect of L-carnitine in peripheral blood human lymphocytes exposed to oxidative agents. *Mutagenesis*, 21 (1), 21-27.
- Generalic, I., Skroza, D., Šurjaka, J., Mozšinab, S.S., Ljubenkovic, I., Katalinic, A., Šimate, V., Katalinic, V. 2012.** Seasonal Variations of Phenolic Compounds and Biological Properties in Sage (*Salvia officinalis* L.). *Chemistry & Biodiversity*, 9, 441-457.
- Gill, C.I., Boyd, A., McDermott, E., McCann, M., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposito, S., Montedoro, G., McGlynn, H., Rowland, I., 2005.** Potential anti-cancer effects of virgin olive oil phenols on colorectal carcinogenesis models *in vitro*. *Int. J. Cancer.*, 117, 1–7.
- Giner, M.J., Vegara, S., Funes, L., Martı́, N., Saura, D., Micolb, V., Valeroa, M. 2012** Antimicrobial activity of food-compatible plant extracts and chitosan against naturally occurring micro-organisms in tomato juice. *J Sci Food Agric.*, 92, 1917–1923.
- Giovannini, C., Straface, E., Modesti, D., Coni, E., Cantafora, A., De Vincenzi, M., Malorni, W., Masella, R., 1999.** Tyrosol, the major olive oil biophenol, protects against oxidized-LDL-induced injury in Caco-2 cells. *J. Nutr.*, 129, 1269–1277.
- Giovannini, L., Migliori, M., Filippi, C., Origlia, N., Panichi, V., Falchi, M., Bertelli, A.A., Bertelli, A., 2002.** Inhibitory activity of the white wine compounds, tyrosol and caffeic acid, on lipopolysaccharide-induced tumor necrosis factor-alpha release in human peripheral blood mononuclear cells. *Int. J. Tissue React.*, 24, 53–56.
- Goya, L., Mateos, R., Bravo, L. 2007.** Effect of the olive oil phenol hydroxytyrosol on human hepatoma HepG2 cells. *Eur J Nutr* . 46: 70–78.
- Grasso, S., Siracusa, L., Spatafora, C., Renis, M., Tringali, C., 2007.** Hydroxytyrosol lipophilic analogues: Enzymatic synthesis, radical scavenging activity and DNA oxidative damage protection. *Bioorg. Chem.*, 35, 137–152.

- Grossi, M.R., Berni, A., Pepe, G., Filippi, S., Mosesso, P., Shivnani, A.A., Papeschi, C., Natarajan, A.T., Palitti, F. 2012.** A comparative study of the anticlastogenic effects of chlorophyllin on N-methyl-N-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) or 7,12-dimethylbenz (α) anthracene (DMBA) induced micronuclei in mammalian cells *in vitro* and *in vivo*. *Toxicology Letters*, 214: 235–242.
- Halliwell B. 1994.** Antioxidants and Human Disease: curiosity, cause or consequence? *Lancet*, 344,721-724.
- Halliwell, B., Gutteridge, J. M. C. 1989.** Free Radicals in Biology and Medicine, 2nd ed. Clarendon Press, Oxford, UK.
- Hanukoglu, I. 2006.** Antioxidant Protective Mechanisms Against Reactive Oxygen Species (Ros) Generated By Mitochondrial P450 Systems In Steroidogenic Cells. *Drug Metabolism Reviews*, 38: 171–196.
- Hashim, Y.Z., Rowland, I.R., McGlynn, H., Servili, M., Selvaggini, R., Taticchi, A., Esposito, S., Montedoro, G., Kaisalo, L., Wähälä, K., Gill, C.I., 2008.** Inhibitory effects of olive oil phenolics on invasion in human colon adenocarcinoma cells *in vitro*. *Int. J. Cancer*, 122, 495–500.
- Hastings, P. J., Lupski, J.R., Rosenberg, S.M., Ira, G. 2009.** Mechanisms of change in gene copy number. *Nature Reviews. Genetics*, 10 (8), 551–564.
- Helleday, T. 2003.** Pathways for mitotic homologous recombination in mammalian cells *Mutation Research*, 532, 103–115.
- Hillestrom, P.R., Covas, M.I., Poulsen, H.E., 2006.** Effect of dietary virgin olive oil on urinary excretion of etheno-DNA adducts. *Free Radic. Biol. Med.*, 41, 1133–1138.
- Hinder, R.A., Stein, H.J. 1991.** Oxygen-derived free radicals. *Arch Surg.*, 126: 104-105
- Hochberg, Y., Tamhane, A.C. 1987.** Multiple comparison procedures. New York: John Wiley & Sons press.
- Hodge, A.M., English, D.R., McCredie, M.R., Severi, G., Boyle, P., Hopper, J.L., Giles, G.G. 2004.** Foods, nutrients and prostate cancer. *Cancer Causes Control*, 15, 11–20.
- Hoeijmakers, J.H. 2001.** Genome maintenance mechanisms for preventing cancer. *Nature*, 411, 366-374.
- Hovhannisyan, G., Rapp, A., Arutyunyan, R., Greulich, K. O., Gebhart, E. 2005.** Comet-assay in combination with PNA-FISH detects mutagen-induced DNA damage and specific repeat sequences in the damaged DNA of transformed cells *Int J Mol Med*. 15(3): 437-42.
- Huang, M.T., Ho, C.T., Wang, Z.Y., Ferraro, T., Lou, Y.R., Stauber, K., Ma, W., Georgiadis, C., Laskin, J.D., and Conney, A.H. 1994.** Inhibition of skin tumorigenesis by rosemary and its constituents carnosol and ursolic acid. *Cancer Res*. 54: 701–708.
- Imanshahidi, M. ve Hosseinzadeh, H. 2006.** The Pharmacological Effects of *Salvia* species on the Central Nervous System. *Phytother. Res.*, 20, 427–437.
- Iyer, V. N., Szybalski, W. 1964.** Mitomycins and Porfiromycin: Chemical Mechanism of Activation and Cross-linking of DNA. *Science*, 245, 55-58. *J. Agric. Food Chem.*, 54 (6), 2064-2068.
- Jordan, M.J., Lax, V., Rota, M.C., Lorán, S., Sotomayor, J.A. 2012.** Relevance of carnosic acid, carnosol and rosmarinic acid concentrations in the *in vitro* antioxidant and antimicrobial activities of *Rosmarinus officinalis* (L.) methanolic extracts. *J. Agric. Food Chem.*, 26,60(38), 9603-9608.

- Joseph, P., Xu, Y., Jaiswal, A.K. 1996.** Non enzymatic and enzymatic activation of mitomycin c: identification of unique cytosolic activity. *Int. J. Cancer*, 65, 263-271.
- Juan, M.E., Wenzel, U., Daniel, H., Planas, J.M. 2010a.** Cancer Chemopreventive Activity of Hydroxytyrosol: A Natural Antioxidant from Olives and Olive Oil: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK. 1295-1300.
- Juan, M.E., Wenzel, U., Daniel, H., Planas, J.M. 2010b.** Olive Fruit Extracts and HT-29 Human Colon Cancer Cells. : Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK. 1301-1310.
- Kaderlik, R.K., Lin, D.X., Long, N.P. 1992.** Advantages and Limitation of Laboratory Methods for Measurement of Carcinogen DNA Adducts for Epilogical Studies. *Toxicology Letters*, 64, 469-475.
- Kanvah, S., Joseph, J., Schuster, G.B. 2010.** Oxidation of DNA: Damage to Nucleobases. *Acc. Chem. Res.* , 43(2), 280-287.
- Kar, P., Laight, D., . Rooprai, H. K., Shaw, K. M., Cummings, M. 2009.** Effects of grape seed extract in Type 2 diabetic subjects at high cardiovascular risk: a double blind randomized placebo controlled trial examining metabolic markers, vascular tone, inflammation, oxidative stress and insulin sensitivity. *Diabetic Medicine*, 26 (5),526–531,
- Kavvadias, D., Monschein, V., Sand, P., Riederer, P., Schreier, P. 2003.** Constituents of sage (*Salvia officinalis*) with *in vitro* affinity to human brain benzodiazepine receptor. *Planta Med* 69, 113–117.
- Kayri, M. 2009.** Araştırmalarda gruplar arası farkın belirlenmesine yönelik çoklu karşılaştırma (Post-Hoc) teknikleri. *Fırat Üniversitesi Sosyal Bilimler Dergisi*, 19 (1): 51-64.
- Kennedy, D.O., Pace, S., Haskell, C., Okello, E.J., Milne, A., Scholey, A.B. 2006.** Effects of cholinesterase inhibiting sage (*Salvia officinalis*) on mood, anxiety and performance on a psychological stressor battery. *Neuropsychopharmacology*, 31, 845–852.
- Keshavarz, M., Mostafaie, A., Mansouri, K., Bidmeshkipour, A., Motlagh, H.R.M., Parvaneh, S. 2010.** *In vitro* and *Ex Vivo* Antiangiogenic Activity of *Salvia officinalis*. *Phytother. Res.* 24: 1526–1531.
- Khallouki, F., Younos, C., Soulimani, R., Oster, T., Charrouf, Z., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., Owen, R.W. 2003.** Consumption of argan oil (Morocco) with its unique profile offatty acids, tocopherols, squalene, sterols and phenolic compounds should confer valuable cancer chemopreventive effects. *European Journal of Cancer Prevention* 2003, 12(1), 67-75.
- Kirsch-Volders, M., Aardema, M., Elhajouji, A., 2000.** Concepts of thresholds in mutagenesis and carcinogenesis. *Mutat. Res.*, 464, 3 -11.
- Kirsch-Volders, M., Vanhauwaert, A., Eichenlaub-Ritter, U., Decordier, I., 2003.** Indirect mechanisms of genotoxicity. *Toxicol. Lett.*, 140–141, 63–74.
- Kitano, M., Wanibuchi, H., Kikuzaki, H., Nakatani, N., Imaoka, S., Funae, Y., Hayashi, S., Fukushima, S. 2000.** Chemopreventive effects of coumapherine from pepper on the initiation stage of chemical hepatocarcinogenesis in the rat. *Jpn J Cancer Res.*, 91, 674–680.
- Koeberle, A., Werz, O. 2009.** Inhibitors of the microsomal prostaglandin E2 synthase-1 as alternative to non steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs)–a critical review. *Curr Med Chem.*, 16, 4274–4296.

- Komiyama, T., Kilkuchi, T., Sugiura, Y. 1982.** Generation of hydroxly radical by anticancer quinone drugs, carbazilquinone, mitomycin c, aclacinomycin a and adriamycin, in the presence of NADPH-cytochrome P-450 reductase. *Biochem Pharmacol*, 31, 3651-3656.
- Korkina, L.G., Deeva, I.B., De Biase, A., Iaccarino, M., Oral, R., Warnau, M., Pagano, G. 2000.** Redox-dependet toxicity of diepoxybutane and mitomycin c in sea urchin embryogenesis. *Carcinogenesis*, 21 (2), 213-220.
- Krystona, T. B., Georgieva, B. A., Polycarpos Pissis, P., Georgakilasa, G. A. 2011.** Role of oxidative stress and DNA damage in human carcinogenesis. *Mutat.Res.*, 711, 193-201.
- Kumar, S. 2011.** Free Radicals and Antioxidants: Human and Food System. *Advances in Applied Science Research*, 2 (1), 129-135.
- La Vecchia, C., Negri, E., Franceschi, S., Decarli, A., Giacosa, A., Lipworth, L., 1995.** Olive oil, other dietary fats, and the risk of breast cancer (Italy). *Cancer Cause Control*, 6, 545–550.
- Latt, S.A. 1973.** Microfluorometric detection of deoxyribonucleic acid replication in humanmetaphase chromosomes. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 70, 3395-3399.
- Latt, S.A. 1974** Sister chromatid exchanges, indices of human chromosome damage and repair: Detection by fluorecence and induction by Mitomycin C. *Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.* 71, 3162-3166.
- Leach, N.T., Jackson-Cook, C., 2004.** Micronuclei with multiple copies of the X chromosome: do chromosomes replicate in micronuclei? *Mutat. Res.*,554, 89–94.
- Leal, P.F.,Braga,M.E., Sato, D.N., Carvalho, J.E.,Marques, M.O., Meireles, M.A. 2003.** Functional properties of spice extracts obtained via supercritical fluid extraction. *J Agricul Food Chem.* 51, 2520–2525.
- Levi, F., Pasche, C., La Vecchia, C., Lucchini, F., Franceschi, S., 1999.** Food groups and colorectal cancer risk. *Brit. J. Cancer*, 79, 1283–1287.
- Li, F., Xu, J., Zhou, J., Zhao, L., Sheng, J., Sun, G., Hu,Q. 2009.** Inhibition of mitomycin c- induced chromosomal abberations by micrometer powder of selenium-enriched green tes in mice spermatocytes. *Mutation Research*, 675: 11-16.
- Lima, C.F., Valentao, P.C.R., Andrade, P.B., Seabra, R.M., Fernandes-Ferreira, M., Pereira-Wilson, C. 2007.** Water and methanolic extracts of *Salvia officinalis* protect HepG2 cells from *t*-BHP induced oxidative damage. *Chemico-Biological Interactions*, 167, 107–115.
- Loizzo, M.R., Tundis, R., Menichini, F., Saab, A.M., Statti, G.A., Menichini, F. 2007.** Cytotoxic Activity of Essential Oils from Labiatae and Lauraceae Families Against *In vitro* Human Tumor Models. *Anticancer Research*, 27, 3293-3300.
- Lord, C.J., Garrett, M.D., Ashworth, A. 2006.** Targeting the double-strand DNA break repair pathway as a therapeutic strategy. *Clin.Cancer. Res.*, 12, 4463-4468.
- Machowetz, A., Poulsen, H.E., Gruendel, S., Weimann, A., Fito, M., Marrugat, J., de la Torre, R., Salonen, J.T., Nyssonen, K., Mursu, J., Nascetti, S., Gaddi, A., Kiesewetter, H., Baumler, H., Selmi, H., Kaikkonen, J., Zunft, H.J., Covas, M.I., Koebnick, C., 2007.** Effect of olive oils on biomarkers of oxidative DNA stress in Northern and Southern Europeans. *FASEB J.*, 21, 45–52.
- MacPhee, D.G. 1998.** Time-dependent mutagenesis and cancer: a new role for antimutagenesis in cancer prevention? *Mutation Research*, 402; 29–39
- Madrigal-Bujaidar, E., Barriga, S.D., Cassani, M., Marquez, P., Revuelta, P., 1998.** In cytogenetic techniques. *Mutat. Res.*, 204(3),379-406.

- Malins, D.C., Johnson, P.M., Wheeler, T.M., Barker, E. A., Nayak L., Polissar, N.L., Mark A. Vinson, M.A. 2001.** Age-related Radical-induced DNA Damage Is Linked to Prostate Cancer *Cancer Res.*, 61:6025-6028.
- Marisilio, V., Campestre, C., Lanza, B. 2001.** Phenolic compounds changes during California-style ripe olive processing. *Food Chem.*, 74, 55–60.
- Marnett, L.J., Plastaras, J.P. 2001.** Endogenous DNA damage and mutation. *Trends in Genetics*, 17(4), 214-221.
- Martin-Moreno, J.M., Willett, W.C., Gorgojo, L., Banegas, J.R., Rodriguez-Artalejo, F., Fernandez-Rodriguez, J.C., Maisonneuve, P., Boyle, P., 1994.** Dietary fat, olive oil intake and breast cancer risk. *Int. J. Cancer*, 58, 774–780.
- Masuda, T., Inaba, Y., Takeda, Y. 2001.** Antioxidant mechanism of carnosic acid: structural identification of two oxidation products. *J. Agric. Food Chem.*, 49, 5560-5565.
- Mateos, R., Goya, L., Bravo, L. 2005.** Metabolism of the Olive Oil Phenols Hydroxytyrosol, Tyrosol, and Hydroxytyrosyl Acetate by Human Hepatoma HepG2 Cells. *J. Agric. Food Chem.*, 53,: 9897-9905
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I., Kirsch-Volders, M., 2006.** Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88, 1515–1531.
- Mayer, E., Gescheidt-Shoshany, H., Weltfriend, S. 2011.** Allergic contact dermatitis caused by *Salvia officinalis* extract. *Contact Dermatitis*, 64, 237–244
- Mazumdar, M., Giri, S., Giri, A. 2011.** Role of quercetin on mitomycin C induced genotoxicity: Analysis of micronucleus and chromosome aberrations *in vivo*. *Mutation Research* 721: 147–152.
- McCord, M.J. 1993.** Human disease, free radicals, and the oxidant/antioxidant balance. *Clinical Biochemistry*, 26(5), 351–357.
- Mellen, P. B., Daniel, K. R., Brosnihan, K. B., . Hansen, K. J., Herrington, D. M. 2010.** Effect of muscadine grape seed supplementation on vascular function in subjects with or at risk for cardiovascular disease: a randomized crossover trial. *Journal of the American College of Nutrition*, 29 (5), 469–475.
- Milić M, Kopjar N. 2004.** Evaluation of *in vitro* genotoxic activity of bleomycin and mitomycin C in human lymphocytes using the alkaline comet assay.
- Miró-Casas, E., Farré Albaladejo, M., Covàs, M.I., Rodriguez, J.O., Menoyo Colomer, E., Lamuela Raventós, R.M., de la Torre, R., 2001.** Capillary gas chromatography-mass spectrometry quantitative determination of hydroxytyrosol and tyrosol in human urine after olive oil intake. *Anal. Biochem.* 294, 63–72.
- Moran, A.E., Carothers, A.M., Weyant, M.J., Redston, M., Bertagnolli, M.M. 2005.** Carnosol Inhibits β -Catenin Tyrosine Phosphorylation and Prevents Adenoma Formation in the C57BL/6J/Min/ +(Min/+) Mouse. *Cancer Res.* 65, 1097–1104.
- Moreno, J.J. 2003.** Effect of olive oil minor components on oxidative stress and arachidonic acid mobilization and metabolism by macrophages RAW 264.7. *Free Radic. Biol. Med.*, 35, 1073–1081.
- Moss, L., Rouse, M., Wesnes, K.A., Moss, M. 2010** Differential effects of the aromas of *Salvia* species on memory and mood. *Hum. Psychopharmacol Clin Exp*, 25, 388–396.

- Mozdarani, H., Kamali, S. 1998.** Antigenotoxic effects of cimetidine against benzene induced micronuclei in mouse bone marrow erythrocytes. *Toxicology Letters*, 99: 53–61.
- Munne-Bosch, S., Schwarz, K., Alegre, L. 1999.** Enhanced formation of R-tocopherol and highly oxidized abietane diterpenes in waterstressed rosemary plants. *Plant Physiol.*, 121, 1047-1052.
- Murata, M., Suzuki, T., Midorikawa, K., Oikawa, S., Kawanishi, S. 2004.** Oxidative DNA damage induced by a hydroperoxide derivative of cyclophosphamide. *Free Radical Biology & Medicine*, 37(6), 793 – 802.
- Murata, M., Toshinari Suzuki, T., Kaoru Midorikawa, K., Shinji Oikawa, S., Kawanishi, S. 2004.** Oxidative Dna Damage Induced By A Hydroperoxide Derivative Of Cyclophosphamide *Free Radical Biology & Medicine*, 37(6): 793 – 802.
- Nabekura, T., Yamakia, T., Hiroia, T., Uenoa, K., Kitagawab, S. 2010.** Inhibition of anticancer drug efflux transporter P-glycoprotein by rosemary phytochemicals. *Pharmacological Research*, 61, 259–263.
- Napolitano, A., De Lucia, M., Panzella, L., d’Ischia, M. 2010.** The Chemistry of Tyrosol and Hydroxytyrosol: Implications for Oxidative Stress: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK. 1225-1235.
- Ngo, S.N.T., Desmond, B. Willams, D.B., Head, R.J. 2011.** Rosemary and Cancer Prevention: Preclinical Perspectives. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition*, 51, 946–954.
- Nordberg, J., Arner, E.S.J. 2001.** Reactive Oxygen Species, Antioxidants and The Mammalian Thioredoxin System. *Free Radical Biology and Medicine*, 31(11), 1287-1317
- Norrish, A.E., Jackson, R.T., Sharpe, S.J., Skeaff, C.M., 2000.** Men who consume vegetable oils rich in monounsaturated fat: their dietary patterns and risk of prostate cancer (New Zealand). *Cancer Cause Control*, 11, 609–615.
- Nousis, L., Doulias, P.T., Aligiannis, N., Bazios, D., Agalias, A., Galaris, D., Mitakou, S., 2005.** DNA protecting and genotoxic effects of olive oil related components in cells exposed to hydrogen peroxide. *Free Rad. Res.*, 39, 787–795.
- OECD. 1986.** OECD Guideline for Testing of Chemicals. No. 479: Genetic Toxicology: *In vitro* Sister Chromatid Exchange Assay in Mammalian Cells.
- OECD. 1997a.** OECD Guideline for Testing of Chemicals. No. 474: Erythrocyte Micronucleus Test.
- OECD. 1997b.** OECD Guideline for Testing of Chemicals. No. 487: *In vitro* Mammalian Cell Micronucleus Test
- OECD. 1997c.** OECD Guideline for Testing of Chemicals. No. 473: *In vitro* Mammalian Chromosome Aberration Test.
- OECD. 1997d.** OECD Guideline for Testing of Chemicals. No. 475: Mammalian Bone Marrow Chromosome Aberration Test.
- Offord, E.A., Gautier, J.C., Avanti, O., Scaletta, C., Runge, F., Kramer, K., Applegate, L.A. 2002.** Photoprotective potential of lycopene, [beta]- carotene, vitamin E, vitamin C and carnosic acid in UVA-irradiated human skin fibroblasts. *Free Radi Biol Med.* 32, 1293–1303.
- Offord, E.A., Mace, K., Avanti, O., Pfeifer, A.M. 1997.** Mechanisms involved in the chemoprotective effects of rosemary extract studied in human liver and bronchial cells. *Cancer Lett.* 114, 275–281.

- Offord, E.A., Mace, K., Ruffieux, C., Malnoe, A., Pfeifer, A.M. 1995.** Rosemary components inhibit benzo[a]pyrene-induced genotoxicity in human bronchial cells. *Carcinogenesis*, 16: 2057–2062.
- Ostling O, Johanson KJ. 1984.** Microelectrophoretic study of radiation-induced DNA damages in individual mammalian cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 123, 291-98.
- Owen, R.W., Giacosa, A., Hull, W.E., Haubner, R., Würtele, G., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., 2000b.** Olive-oil consumption and health: the possible role of antioxidants. *Lancet Oncol.*, 1, 107–112.
- Owen, R.W., Haubner, R., Würtele, G., Hull, E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., 2004.** Olives and olive oil in cancer prevention. *Eur. J. Cancer Prev.*, 13, 319–326.
- Owen, R.W., Mier, W., Giacosa, A., Hull, W.E., Spiegelhalder, B., Bartsch, H., 2000a.** Identification of lignans as major components in the phenolic fraction of olive oil. *Clinical Chem.*, 46, 976–988.
- Parry, P., Wolff, S., 1974.** Giemsa method for differential staining of sister chromatids. *Nature*, 251, 156–158.
- Patenkovic, A., Stamenkovic-Radak, M., Banjanac, T., Andjelkovic, M. 2009.** Antimutagenic effect of sage tea in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 180-183.
- Pawar, A.A., Vikram, A., Tripathi, D.N., Padmanabhan, S., Ramarao, P., Jena, G. 2009.** Modulation of Mitomycin C-induced Genotoxicity by Acetyl- and Thio-Analogues of Salicylic Acid . *in vivo*, 23: 303-308.
- Perissinotto, E., Buja, A., Maggi, S., Enzi, G., Manzato, E., Scafato, E., Mastrangelo, G., Frigo, A.C., Coin, A., Crepaldi, G., Sergi, G. 2010.** Alcohol consumption and cardiovascular risk factors in older lifelong wine drinkers: The Italian Longitudinal Study on Aging *Nutrition, Metabolism & Cardiovascular Diseases*, (2010) 20, 647-655.
- Perry N.S.L., Houghton, P., Theobald, A., Jenner, P., Perry, E.K. 2000.** *In vitro* inhibition of human erythrocyte acetylcholinesterase by *Salvia lavandulaefolia* essential oil and constituents terpenes. *J Pharmacol.*, 52, 895–902.
- Perry, N., Court, G., Bidet, N., Court, J., Perry, E. 1996.** European herbs with cholinergic activities: potential in dementia therapy. *Int J Geriatr Psychiatry*, 11, 1063–1069.
- Perry, N.S.L., Bollen, C., Perry, E.K., Bollard, C. 2003.** *Salvia* for dementia therapy, review of pharmacological activity and pilot tolerability clinical trial. *Pharmacol Biochem Behav.*, 75: 651–658.
- Perry, P., Wolff, S. 1974.** New Giemsa method for the differential staining of sister chromatids. *Nature*, 251, 156-158.
- Piperakis, S.M. 2009.** Comet assay: A brief history. *Cell Biol Toxicol*, 25,1–3.
- Podder, S., Chattopadhyay, A., Bhattacharya, S. 2008.** *In vivo* suppression by fluoride of chromosome aberrations induced by mitomycin c in Mouse bone marrow cells. *Fluoride*, 41(1): 40-43.
- Posadas, S.J., Caz, V., Largo, C., De la Gándara, B., Matallanas, B., Reglero, G., De Miguel, E. 2009.** Protective effect of supercritical fluid rosemary extract, *Rosmarinus officinalis*, on antioxidants of major organs of aged rats. *Exp Gerontol.*, 44(6-7), 383-389.
- Preuss, H. G., Wallerstedt, D., Talpur N., Tutuncuoglu, S.O., Echard, B., Myers, A., Bui, M., Bagchi, D. 2000.** Effects of niacinbound chromium and grape seed

proanthocyanidin extract on the lipid profile of hypercholesterolemic subjects: a pilot study. *Journal of Medicine*, 31(5-6), 227–246.

Pristos, C., Sartorelli, A.C. 1986. Generation of reactive oxygen radicals through bioactivation of mitomycin antibiotics. *Cancer Res.*, 46, 3528-3532.

Pugalendhi, P., Manoharan, S., Panjamurthy, K., Balakrishnan, S., Madhavan R. Nirmal, M.R. 2009. Antigenotoxic effect of genistein against 7,12-dimethylbenz[a]anthracene induced genotoxicity in bone marrow cells of female Wistar rats. *Pharmacological Reports*, 61: 296-303.

Quinone. *J. Am. Chem. Soc.*, 116, 9349-9350.

Rådmark, O., Samuelsson, B. 2010. Microsomal prostaglandin E synthase-1 and 5-lipoxygenase: potential drug targets in cancer. *J Intern Med*, 268,5–14.

Ramos, A.A., Pedro, D., Collins, A.R., Pereira-Wilson, C. 2012. Protection By Salvia Extracts Against Oxidative and Alkylation Damage to DNA in Human HCT15 And CO115 Cells. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 75:765–775.

Rodis, P.S., Karathanos, V.T., Mantzavinou, A. 2002. Partitioning of olive oil antioxidants between oil and water phases. *J. Agric. Food Chem.*, 50, 596–601.

Rodriguesa, M.R.A., Kanazawaa, L.K.S., das Nevesa, T.L.M., da Silva, C.F., Horstb, H., Pizzolatti, M.G., Santosc, A.R.S., Baggioa, C.H., de Paula Wenera, M.F. 2012 . Antinociceptive and anti-inflammatory potential of extract and isolated

Rodriguez-Reyes, R., Morales-Remirez, P. 2003. Sister chromatid Exchange induction and the course of DNA duplication, two mechanisms of sister chromatid Exchange induction by ENU and the rol of BrdU. *Mutagenesis*, 18(1), 65-72.

Rojas, E., Lopez, M.C., Valverde M. 1999. Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *Journal of Chromatography B*, 722 : 225–254.

Rojas-Molina, M., Campos-Sánchez, J., Analla, M., Muñoz-Serrano, A., Alonso-Moraga, A., 2005. Genotoxicity of vegetable cooking oils in the Drosophila wing spot test. *Environ. Mol. Mutagen.* 45, 90–95.

Ruiz, M.A., Arias, J.L., Gallardo, V. 2010. Skin Creams Made with Olive Oil :Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK. 1133-1141.

Ruiz, M.A., Navarro, J.D., Gallardo, V., 1999. Dermatological applications of olive oil. *J. Applied Cosmetol.* 17, 19–22.

Rutherford, D.M., Nielsen, M.P., Hansen, S.K., Witt, M.R., Bergendorff, O., Stemer, O. 1992. Isolation and identification from *Salvia officinalis* of two diterpenes which inhibit tbutylbicyclophosphoro [35S] thionate binding to chloride channel of rat cerebrocortical membranes *in vitro*. *Neurosci Lett.*, 135, 224– 226.

Rydberg, B., Johanson, K.J. 1978. Estimation of DNA strand breaks in single mammalian cells. In Hanawalt PC, Friedberg EC, Fox CF (eds): DNA repair mechanisms. New York: Academic Press, pp 465–468.

Salvini, S., Sera, F., Caruso, D., Giovannelli, L., Visioli, F., Saieva, C., Masala, G., Ceroti, M., Giovacchini, V., Pitozzi, V., Galli, C., Romani, A., Mulinacci, N., Bortolomeazzi, R., Dolara, P., Palli, D., 2006. Daily consumption of a high-phenol extra-virgin olive oil reduces oxidative DNA damage in postmenopausal women. *Br. J. Nutr.*, 95, 742–751.

Sancheti, G., ve Goyal, P.K. 2006a. Effect of *Rosmarinus officinalis* in modulating 7,12-dimethylbenz(a)anthracene induced skin tumorigenesis in mice. *Phytother Res*, 20, 981–986.

- Sancheti, G., ve Goyal, P.K. 2006b.** Modulatory influence of *Rosemarinus officinalis* on DMBA-induced mouse skin tumorigenesis. *Asian Pac J Cancer Prev.* **7**: 331–335.
- Satoh, T., Kosaka, K., Itoh, K., Kobayashi, A., Yamamoto, M., Shimojo, Y., Kitajima, C., Cui, J., Kamanis, J., Okamoto, S., Izumi, M., Shirasawa, T., Lipton S.A. 2008.** Carnosic acid, a catecho-type electrophilic compound, protects neurons both *in vitro* and *in vivo* through activation of Keap1/Nrf2 pathway via S-alkylation of target cysteines on Keap1. *J. Neurochem.*, 104, 1116–1131.
- Savelev, S., Okello, E., Perry, N.S.L., Wilkins, R.M., Perry, E.K. 2003.** Synergistic and antoagonistic interactions of anticholinesterase terpenoids in *Salvia Lavandulaefolia* essential oil. *Pharmacol Biochem Behav*, **75**, 661–668.
- Sawyer, S.A., Parsch, J., Zhang, Z., Hartl, D.L. 2007.** Prevalence of positive selection among nearly neutral amino acid replacements in *Drosophila*. *Proc. Natl. Acad. Sci.* 104 (16), 6504–10.
- Scholey, A.B., Tildesley, N.T.J., Ballard, C.G., Wesnes, K.A, Tasker, A., Perry, E.K., Kennedy, D.O. 2008.** An extract of *Salvia* (sage) with anticholinesterase properties improves memory and attention in healthy older volunteers. *Psychopharmacology*, 198, 127–139.
- Schwarz, K., Ternes, W. 1992.** Antioxidative constituents of *Rosmarinus officinalis* and *Salvia officinalis*. *Z. Lebensm. Unters. Forsch.*, 195, 95-107.
- Segura-Carretero, A., Menéndez-Menéndez, J., Fernández-Gutiérrez, A. 2010.** Polyphenols in Olive Oil: The Importance of Phenolic Compounds in the Chemical Composition of Olive Oil: Olives and Olive Oil in Health and Disease Prevention, Ed.: Victor R. Preedy, V.R., Watson, R.R., Elsevier Inc., UK. 167-175.
- Shan, B., Cai, Y.Z., Sun, M., Corke, H. 2005.** Antioxidant Capacity of 26 Spice Extracts and Characterization of Their Phenolic Constituents. *J. Agric. Food Chem.*, **53**, 7749-7759.
- Sharabani, H., Izumchenko, E., Wang, Q., Kreinin, R., Steiner, M., Barvish, Z., Kafka, M., Sharoni, Y., Levy, J., Uskokovic, M., Studzinski, G.P., Danilenko, M. 2006.** Cooperative antitumor effects of vitamin D3 derivatives and rosemary preparations in a mouse model of myeloid leukemia. *Int.J Cancer.*, 118, 3012–3021.
- Siddique, Y.H., Afzal, M. 2009.** Antigenotoxic effect of apigenin against mitomycin C induced genotoxic damage in mice bone marrow cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47: 536-539.
- Siddique, Y.H., Ara, G., Tanveer Beg, T., Afzal, M. 2008.** Antigenotoxic effect of nordihydroguaiaretic acid against chlormadinone acetate-induced genotoxicity in mice bone-marrow cells. *J Nat Med*, 62:52–56.
- Siddique, Y.H., Beg, T., Afzal, M. 2008.** Antigenotoxic effect of apigenin against anti-cancerous drugs. *Toxicology in vitro*, 22: 625–631.
- Siddique, YH., Afzal, M. 2009.** Antigenotoxic effect of apigenin against mitomycin C induced genotoxic damage in mice bone marrow cells. *Food and Chemical Toxicology*, 47, 536–539.
- Sies, H. 1997.** Oxidative Stress: Oxidants And Antioxidants. *Experitnental Physiology*, 82, 291- 295.
- Singh, N.P., McCoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L. 1988.** A simple technique for quantitation of low levels of DNA damage in individual cells. *Exp Cell Res*, 175, 184 –191.

- Singletary, K., MacDonald, C., Wallig, M. 1996.** Inhibition by rosemary and carnosol of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA)-induced rat mammary tumorigenesis and *in vivo* DMBA-DNA adduct formation. *Cancer Lett.* 104: 43–48.
- Singletary, K.W. ve Nelshoppen, J.M. 1991.** Inhibition of 7,12-dimethylbenz[a]anthracene (DMBA) -induced mammary tumorigenesis and of *in vivo* formation of mammary DMBA-DNA adducts by rosemary extract. *Cancer Lett.*, 60, 169–175.
- Singletary, K.W., ve Rokusek, J.T. 1997.** Tissue-specific enhancement of xenobiotic detoxification enzymes in mice by dietary rosemary extract. *Plant Foods Hum Nutr.*, 50, 47–53.
- Slamenova, D., Kuboskova, K., Horvathova, E., Robichova, S. 2002.** Rosemary-stimulated reduction of DNA strand breaks and FPGsensitive sites in mammalian cells treated with H₂O₂ or visible light-excited Methylene Blue. *Cancer Letters*, 177, 145–153.
- Smith, W.L., DeWitt, D.L., Garavito, R.M. 2000.** Cyclooxygenases: structural, cellular, and molecular biology. *Annu Rev Biochem*, 69,145–182.
- Sonoda, E., Sasaki, M.S., Morrison, C., Yamaguchi-Iwai, Y., Takata, M., Takeda, S. 1999.** Sister chromatid exchanges are mediated by homologous recombination in vertebrate cells. *Mol. Cell. Biol.* 19, 5166-5169.
- Soobrattee, M.A., Neergheen, V.S. Luximon-Ramma, A. Aruomab, O.I., Bahorun, T. 2005.** Phenolics as potential antioxidant therapeutic agents: Mechanism and actions. *Mutation Research*, 579:200–213.
- Speit, G., Linsenmeyer, R., Schütz, P. Kuehner, S. 2012.** Insensitivity of the *in vitro* cytokinesis-block micronucleus assay with human lymphocytes for the detection of DNA damage present at the start of the cell culture. *Mutagenesis*, 27(6): 743–747.
- Steiner, M., Priel, I., Giat, J., Levy, J., Sharoni, Y., Danilenko, M. 2001.** Carnosic acid inhibits proliferation and augments differentiation of human leukemic cells induced by 1,25-dihydroxyvitamin D₃ and retinoic acid. *Nutr Cancer*. 41, 135–44.
- Stich, H.F., Dunn, B.P. 1986.** Relationship Between Cellular Levels of Beta-Carotene and Sensitivity to Genotoxic Agents. *Int. J. Cancer*, 38, 713-717.
- Stoilov, L., Wojcik, A.K., Giri, A., Obe, G. 2002.** SCE formation after exposure of CHO cells prelabeled with BrdU or biotin-Dutp to various DNA-damaging agents. *Mutagenesis*, 17(5),399-403
- Stoneham, M., Goldacre, M., Seagroatt, V., Gill, L., 2000.** Olive oil, diet and colorectal cancer: an ecological study and a hypothesis. *J. Epidemiol. Community Health*, 54, 756–760.
- Takahashi, T., Tabuchi, T., Tamaki, Y., Kosaka, K., Takikawa, Y., Satoh, T. 2009.** Carnosic acid and carnosol inhibit adipocyte differentiation in mouse 3T3-L1 cells through induction of phase2 enzymes and activation of glutathione metabolism. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 382, 549-554.
- Taner, G. 2007.** Lipoik Asit Ve Ferulik Asitin İnsan Lenfosit Kültüründe Mitomisin-C'ye Karşı Antigenotoksik Etkileri. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. *Y.Lisans Tezi*. Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, Ankara.
- Taylor, J.H. 1958.** Sister Chromatid Exchanges in Tritium-Labeled Chromosomes. *Genetics*, 43, 515-529.
- Thomas, P., Umegaki, K., Fenech, M., 2003.** Nucleoplasmic bridges are a sensitive measure of chromosome rearrangement in the cytokinesis-block micronucleus assay. *Mutagenesis*, 18, 187–194.

- Thomas, R. 2012.** <http://robinthomas.biz/so-what-causes-oxidative-stress-anyway> (Erişim Tarihi: Ağustos 2012).
- Tice, R.R., Agurell, E., Anderson, D., Burlinson, B., Hartmann, A., Kobayashi, H., Miyamae, Y., Rojas, E., Ryu, J.C., Sasaki, Y.F. 2000.** Single cell gel/comet assay: guidelines for *in vitro* and *in vivo* genetic toxicology testing. *Environ Mol Mutagen.*, 35(3), 206-221.
- Tomasz, M., Mercado, C. M., Olson, J., Chatterjee, N.1974.** The mode of interaction of mitomycin C with deoxyribonucleic acid and other polynucleotides *in vitro*. *Biochemistry*, 73, 4878-4887.
- Trichopoulou, A., Katsouyanni, K., Stuver, S., Tzala, L., Gnardellis, C., Rimm, E., Trichopoulos, D., 1995.** Consumption of olive oil and specific food groups in relation to breast cancer risk in Greece. *J. Natl. Cancer Inst.*, 82, 110–116.
- Trichopoulou, A., Lagiou, P., Kuper, H., Trichopoulos, D., 2000.** Cancer and Mediterranean dietary traditions. *Cancer Epidemiol. Biomarkers Prev.*, 9, 869–873.
- Tsai-Turton, M., Brian T. Luong, B.T., Tan, Y., Luderer, U. 2007.** Cyclophosphamide Induced Apoptosis in COV434 Human Granulosa Cells Involves Oxidative Stress and Glutathione Depletion. *Toxicological Sciences*, 98(1), 216–230.
- Tsuda, S., Matsusaka, N., Madarame, H., Miyamae, Y., Ishida, K., Satoh, M., Sekihashi, K., Sasaki, Y.F. 2000.** The alkaline single cell electrophoresis assay with eight mouse organs: results with 22 mono-functional alkylating agents (including 9 dialkyl N-nitrosoamines) and 10 DNA crosslinkers. *Mutat Res.* 467(1), 83-98.
- Tuck, K.L., Hayball, P.J., 2002.** Major phenolic compounds in olive oil: metabolism and health effects. *J. Nutr. Biochem.*, 13, 636–644.
- Tucker, J.D., Preston, R.J. 1996.** Chromosome aberrations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchanges, and cancer risk assessment. *Mutat Res.*, 365, 147–159.
- Tzonou, A., Signorello, L.B., Lagiou, P., Wu, J., Trichopoulos, D., Trichopoulou, A., 1999.** Diet and cancer of the prostate: a case-control study in Greece. *Int. J. Cancer*, 80, 704–708.
- Vandecasteele, K., Ost, P., Oosterlinck, W., Fonteyne, V., De Neve W.D., Meerleer, G.D. 2012.** Evaluation of the Efficacy and Safety of *Salvia officinalis* in Controlling Hot Flashes in Prostate Cancer Patients Treated with Androgen Deprivation. *Phytother. Res.* 26, 208–213.
- Vauzour, D., Katerina Vafeiadou, K., Corona, G., Pollard, E.S., Tzounis, X., Jeremy P. E. Spencer, J.P.E. 2007.** Champagne Wine Polyphenols Protect Primary Cortical Neurons against Peroxynitrite-Induced Injury. *J. Agric. Food Chem.*, 55, 2854-2860.
- Vissers, M.N., Zock, P.L., Roodenburg, A.J.C., Leenen, R. Katan, M.B. 2002.** Olive Oil Phenols Are Absorbed in Humans. *J. Nutr.* 132: 409–417,
- Viswanadh, E.K., Rao, B.N., BS Satish Rao, B.S.S. 2010.** Antigenotoxic effect of mangiferin and changes in antioxidant enzyme levels of Swiss albino mice treated with cadmium chloride. *Human and Experimental Toxicology*, 29(5): 409–418.
- Vivancos, M., Moreno, J.J. 2008.** Effect of resveratrol, tyrosol and β sitosterol on oxidised lowdensity lipoprotein-stimulated oxidative stress, arachidonic acid release and prostaglandin E2 synthesis by RAW 264.7 macrophages. *British Journal of Nutrition*, 99, 1199-1207.
- Wang, Y., Gray, J.P., Mishin, V., Heck, D.E., Laskin, D.L., Laskin, J.D. 2010.** Distinct roles of cytochrome P450 reductase in mitomycin c redox cycling and cytotoxicity. *Mol Cancer Ther.*, 9 (6), 1852-1863.

- Wang, Z.Y., Cheng, S.J., Zhou, Z.C., Athar, M., Khan, W.A., Bickers, D.R., Mukhtar, H., 1989.** Antimutagenic activity of green tea polyphenols. *Mutat.Res.*, 223, 273-285.
- Watson, A.J.M., 2006.** An overview of apoptosis and the prevention of colorectal cancer. *Crit. Rev. Oncol./Hematol.*, 57, 107–121.
- Weinbrenner, T., Fito, M., de la Torre, R., Saez, G.T., Rijken, P., Tormos, C., Coolen, S., Albaladejo, M.F., Abanades, S., Schroder, H., Marrugat, J., Covas, M.I., 2004.** Olive oils high in phenolic compounds modulate oxidative/antioxidative status in men. *J. Nutr.*, 134, 2314–2321.
- Wenkert, E., Fuchs, A., McChesney, J. 1965.** Chemical artifacts from the family Labiatae. *J. Org. Chem.*, 30, 2932-2934.
- Wilson III, D.M., Thompson, L.H. 2007.** Molecular mechanisms of sister-chromatid exchange. *Mutation Research*, 616, 11–23.
- Wolff, S., Bodycote, J., Thomas L G. H., Cleaver, J.E. 1975.** Sister Chromatid Exchange in Xeroderma Pigmentosum Cells That are Defective in DNA Excision Repair or Post-Replication Repair. *Genetics*, 81, 349-355.
- Xavier, C.P.R., Lima, C.F., Fernandes-Ferreira, M., Cristina Pereira-Wilson, C. 2009.** Salvia Fruticosa, Salvia Officinalis, and Rosmarinic Acid Induce Apoptosis and Inhibit Proliferation of Human Colorectal Cell Lines: The Role in MAPK/ERK Pathway *Nutrition and Cancer*, 61(4), 564–571.
- Yeu, K.J., Russell, R.M., Aldini, G. 2010.** Antioxidant Activity and Oxidative Stress: An Overview. Biomarkers for Antioxidant Defense and Oxidative Damage: Principles and Practical Applications. Eds: Aldini, G., Kyung-Jin Yeum, K.J., Estuo Niki, E., Russell, R.M. Blackwell Publishing. 3-19.
- Yu, Y.M., Lin, C.H., Chan, H.C., Tsai, H.D. 2009.** Carnosic acid reduces cytokine-induced adhesion molecules expression and monocyte adhesion to endothelial cells. *Eur J Nutr.*, 48, 101–106.
- Yun He, Q., Maruenda, H., Tomasz', M. 1994.** Novel Bioreductive Activation Mechanism of Mitomycin C Derivatives Bearing a Disulfide Substituent in Their
- Zakharov, A.F., Egolina, N.A. 1972.** Differential spirilization along mammalian mitotic chromosomes. *Chromosoma (Berl)*, 38, 341-365.
- Zamorano-Ponce, E., Morales, C., Ramosa, D., Sep´ulveda, C., Cares, S., Riveraa, P., Fern´andez, J., Carballo, M.A. 2006.** Anti-genotoxic effect of *Aloysia triphylla* infusion against acrylamide-induced DNA damage as shown by the comet assay technique. *Mutation Research*, 603:145–150.
- Zhang, J., Tian, Q., Yung, S., Chuen, S., Zhou, S., Duan, W., Zhu, Y. 2005.** Metabolism and transport of oxazaphosphorines and the clinical implications. *Drug Metabolism Reviews*, 37, 611-703.
- Zhang, Q. H., Wu, C.F., Duan, L., Yang, Y.J. 2008.** Protective effects of total saponins from stem and leaf of Panax ginseng against cyclophosphamide-induced genotoxicity and apoptosis in mouse bone marrow cells and peripheral lymphocyte cells. *Food and Chemical Toxicology*, 46: 293–302.
- Zhou, K., Raffoul, J.J. 2012.** Potential Anticancer Properties of Grape Antioxidants. *Journal of Oncology*, doi:10.1155/2012/803294.
- Zimmerman, B. J., Granger, D. N. 1994.** Mechanisms of reperfusion injury. *Am. J. Med. Sc.*, 307: 284–292.

ÖZGEÇMİŞ

Adı Soyadı	: Özgür VATAN
Doğum Yeri ve Tarihi	: Bilecik / 1978
Yabancı Dili	: İngilizce
Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)	
Lise	: Bursa Erkek Lisesi / 1991-1994.
Lisans	: U.Ü. F.E.F. Biyoloji Bölümü / 1996-2000.
Yüksek Lisans	: U.Ü. F.B.E. Biyoloji A.B.D. Genel Biyoloji B.D./ 2001-2005.
Çalıştığı Kurum/ Kurumlar ve Yıl	
Araştırma Görevlisi	: U.Ü. F.E.F. Biyoloji Bölümü / 2002- Halen.
İletişim	: ovatan@uludag.edu.tr.
Yayınları	:

SCI ve SCI Expanded Kapsamında Taranan Dergilerde Yayımlanmış Makaleler:

- Tunca, B., Bekar, A., Cecener, G., Egeli, U., Vatan, O., Tolunay, Ş., Kocaeli, H., Aksoy, K. 2007.** Impact of novel PTEN mutations in Turkish patients with glioblastoma multiforme. *J Neurooncol*, 82, 263–269.
- Vatan, O., Bilaloglu, R., Tunca, B., Cecener, G., Gebitekin, C., Egeli, U., Yakut, T., Urer, N. 2007.** Low Frequency of P53 And K-Ras Codon 12 Mutations in Non-Small Cell Lung Carcinoma (NSCLC) Tumors and Surgical Margins. *Tumori*, 93, 473-477,
- Cecener, G., Tunca, B., Egeli, U., Karadag, M., Vatan, O., Uzaslan, E., Tolunay, Ş. 2008.** Mutation analysis of the FHIT gene in bronchoscopic specimens from patients with suspected lung cancer. *Tumori*, 94, 845-848.
- Celikler, S., Yıldız, G., Vatan, O., Bilaloglu, R. 2008.** *In vitro* Antigenotoxicity of *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyceae) Extract against Induction of Chromosome Aberration, Sister Chromatid Exchange and Micronuclei by Mutagenic Agent MMC. *Biomed. Environ. Sci.* 21, 492-498.
- Celikler, S., Aydemir, N., Vatan, O., Kurtuldu, S., Bilaloglu, R. 2009.** A Study of Biomonitoring to Genotoxic Risk Communication in Workers of Transformers and Distribution Line Stations. *Int. Envi. Healt Res.*, 19(6), 421-430.
- Celikler, S., Vatan, O., Yildiz, G., Bilaloglu, R. 2009.** Evaluation of anti oxidative, genotoxic and antigenotoxic potency of *Codium tomentosum* Stackhouse ethanolic extract in human lymphocytes *in vitro*. *Food Chem. Toxicol.* 47, 796–801.
- Cinkilic, N., Kiyici, S., Celikler, S., Vatan, O., Gul, O.O., Tuncel, E., Bilaloglu, R. 2009.** Evaluation of Chromosome Aberrations, Sister Chromatid Exchange and Micronuclei in Patients With Type-1 Diabetes Mellitus. *Mutat.Res.*, 676,(1-2),1-4.

- Cecener, G., Tunca, B., Egeli, U., Bekar, A., Guler, G., Vatan, O., Tolunay, S. 2009.** Investigation of MMAC/PTEN Gene Mutations and Protein Expression in Low Grade Gliomas. *Cell. Mol. Neurobiol.* 29, 733-738.
- Celikler, S., Tas, S., Vatan, O., Ziyank Ayvalik, S., Yildiz, G., Bilaloglu, R. 2009.** Anti-hyperglycemic and Anti-clastogenic potential of *Ulva rigida* ethanolic extract in the experimental diabetes mellitus. *Food Chem. Toxicol.* 47 (8), 1837-1840.
- Aydemir, N., Sevim, N., Celikler, S., Vatan, O., Bilaloglu, R. 2009.** Antimutagenicity of amifostine against the anticancer drug fotemustine in the *Drosophila* somatic mutation and recombination (SMART) test. *Mutat.Res.*,679(1-2),1-5.
- Summak, S., Cinkilic Aydemir, N., Vatan, O., Yilmaz, D., Zorlu, T., Bilaloglu, R. 2010.** Evaluation of genotoxicity from Nilufer Stream (Bursa/Turkey) water using piscine micronucleus test. *Food Chem. Toxicol.* 48, 2443-2447.
- Yildiz, G., Vatan, O., Çelikler, S., Dere, Ş. 2011.** Determination of the Phenolic Compounds and Antioxidative Capacity in Red Algae *Gracilaria bursa-pastoris*. *International Journal of Food Properties*, 14, 496–502.
- Vatan, O., Celikler, S., Yildiz, G. 2011.** *In vitro* antigenotoxic and anti-oxidative capacity of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux extract in human lymphocytes. *African Journal of Biotechnology*. 10 (4), 484 490.
- Yılmaz, D., Cinkilic Aydemir, N., Vatan, O., Tüzün. E., Bilaloğlu, R. 2012.** Influence of Naringin on Cadmium-induced Genomic Damage in Human Lymphocytes *in vitro*. *Toxicology and Industrial Health*. 28 (2);114-121, 2012.
- Yildiz, G., Çelikler, S., Vatan, O., Dere, S. 2012.** Determination of the Anti-oxidative Capacity and Bioactive Compounds in Green Seaweed *Ulva rigida*C. Agardh. *International Journal of Food Properties*, 15:1182–1189.
- Cavaş, T., Cinkilic, N., Vatan, O., Yilmaz, D., Coşkun, M. 2012.** *In vitro* Genotoxicity Evaluation of Acetamidiprid in CaCo2 Cells Using the Micronucleus, Comet and Gamma-H2AX Foci Assays. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 104: 212-217.
- Selvi, M., Cavaş, T., Karasu Benli, C.A., Koçak Memmi, B., Cinkılıç, N., Dinçel A.S., Vatan, O., Yılmaz, D., Sarıkaya, R., Zorlu, T., Erkoç F. Baskıda.** Sublethal toxicity of esbiothrin relationship with total antioxidant status and *in vivo* genotoxicity assessment in fish (*Cyprinus carpio* L., 1758) using the micronucleus test and comet assay. *Environmental Toxicology*. (DOI 10.1002/tox.20760).

Uluslararası Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Özeti Basılan Bildiriler:

- Vatan, O., Tunca, B., Cecener, G., Yakut, T., Gebitekin, C., Urer, N., Egeli, U., Bilaloglu, R. 2004.** Investigation of k-ras codon 12 and p53 gene mutations in tumor tissues and surgical margins of NSCLC. European Human Genetics Conference. June 12-15, 2004, Munich, Germany.
- Cecener, G., Egeli, U., Vatan, O., Tunca, B., Tasdelen, I. 2004.** Germline BRCA1 5382insC mutation in a couple with breast cancer. European Human Genetics Conference June 12-15, 2004, Munich, Germany.
- Cecener, G., Tunca, B., Bekar, A., Egeli, U., Vatan, O., Tolunay, S. 2009.** A Novel MMAC / PTEN Gene Mutation in a GBM Patient. The 3rd Quadrennial Meeting of the World Federation of Neuro-Oncology jointly with the 6th Meeting of the Asian Society for Neuro-Oncology . May 11-14, 2009. Pacifico Yokohama, Japan.

- Celikler, S., Vatan, O., Yildiz, G. 2009.** *In vitro* Genotoxic/Antigenotoxic Effect Of *Codium tomentosum* Stackhouse Crude Ethanolic Extracts. 1st international multidisciplinary cancer research congress. 21-24 May 2009. Antalya, Türkiye.
- Celikler, S., Vatan, O., Yildiz, G. 2009.** Antigenotoxic Effect Of *Hypnea musciformis* (Wulfen) Lamouroux Crude Extracts against MMC in human lymphocytes. 1st international multidisciplinary cancer research congress. 21-24 May 2009. Antalya, Türkiye.
- Cinkilic, N., Cavas, D., Yilmaz, D., VATAN, O., Tuzun, E., Coskun, M. 2010.** Evaluation of River Water Genotoxicity in Cultured Human Lymphocytes Using the Micronucleus Test and The Comet Assay. Genotoxicity in aquatic systems; Causes, effects and future needs. 3 rd International Symposium. 22-24 September 2010 Freiburg im Breisgau, Germany.
- Celikler, S., Balikci, N., Ari, F., Sarimahmut, M., Vatan, O., Guleryuz, G., Ulukaya, E. 2011.** Investigation Into Genotoxic and Cytotoxic Effects of *Hypericum Adenotrichum* Spach. *in vitro*. EARC Anti Cancer Agent Research Congress. 13-16 October 2011. Antalya Türkiye.
- Balikci, N., Celikler, S., Sarimahmut, M., Orenlili, E., Ari, F., Vatan, O., Guleryuz, G., Ulukaya, E. 2011.** Evaluation of Genotoxic and Cytotoxic capacity of *Hypericum olympicum* subsp. *olympicum* L. *in vitro*. EARC Anti Cancer Agent Research Congress 13-16 October 2011. Antalya Türkiye.

Ulusal Bilimsel Toplantılarda Sunulan ve Bildiri Kitabında Özeti Basılan Bildiriler:

- Çeçener, G., Tunca, B., Bekar, M., Vatan, Ö., Karlı, N., Egeli, U., Oğul, E., Bilaloğlu, R. 2003.** Faktör V Leiden, Protrombin G20210A ve MTHFR C677T Mutasyonlarının Nörolojik Hastalıklarda araştırılması. 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi 14–17 Ekim 2003 Adana Türkiye.
- Tunca, B., Çeçener, G., Dönmez, O., Vatan, Ö., Güllülü, M., Dilek, K., Egeli, Ü, Bilaloğlu, R. 2003.** Bursa yöresinde Ailesel Akdeniz Ateşi Tanısı Konulan Hastalarda MEFV geni M680I, M694V, V726A, E148Q, M694I ve K695R Mutasyonlarının Araştırılması. 8. Ulusal Tıbbi Biyoloji Kongresi. 14–17 Ekim 2003 Adana, Türkiye
- Çelikler, S., Vatan, Ö., Yıldız, G., Bilaloğlu, R. 2008.** *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyceae) ekstraktının antijenotoksik etkisinin kardeş kromatid değişimi (SCE) test yöntemi ile belirlenmesi. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi 23-27 Haziran 2008 Trabzon, Türkiye.
- Yıldız G., Vatan Ö., Çelikler S., Bilaloğlu R. 2008.** İnsan lenfosit kültürlerinde *Ulva rigida* C. Agardh (Chlorophyceae) ekstraktının kromozom hasarını önleyici etkisinin araştırılması. 19. Ulusal Biyoloji Kongresi 23-27 Haziran 2008 Trabzon, Türkiye.
- Yılmaz, D., Çinkılıç, N., Çelikler, S., Vatan, Ö., Bilaloğlu, R. 2009.** Kadmiyum İle Muamele Edilen İnsan Periferik Kan Lenfositlerinde Naringin'in Antijenotoksik Etkisi 7. Uluslararası Katılımlı Türk Toksikoloji Derneği Kongresi. 30 Mayıs 01 Haziran 2009 Ankara, Türkiye.
- Çeçener, G., Tunca, B., Karadağ, M., Tezcan, G., Vatan, Ö., Uzaslan, E., Tolunay, Ş., Egeli, Ü. 2009.** Akciğer Kanseri Hastaların Bronkoskopi Materyallerinde FHIT Gen Metilasyonunun Değerlendirilmesi. XI. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 28-31 Ekim 2009 Muğla, Türkiye.

- Çinkılıç, N., Zorlu, T., K. Çetintaş, S., Çavaş, T., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Şengül, K., Gözcü, S., Tüzün, E., Özkan, L., Bilaloğlu, R. 2009.** Quinik Asit'in İnsan Kan Lenfosit Kültürlerinde X Işınlarınca İndüklenen DNA Hasarını Önleme Etkisinin Belirlenmesi. XIV. Uludağ Onkoloji Sempozyumu 4-6 Aralık 2009 Bursa, Türkiye.
- Ünal, O.K., Çinkılıç, N., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Özen, G., Ö., Cander, S., Zorlu, T., Tüzün, E., Tuncel, E. 2010.** Akromegalik Hastalarda, Periferik Kan Lenfosit Kültürlerinde Kardeş Kromatid Değişimi (SCE), Mikronükleus ve Nükleer Bölünme İndeksi Testleri Yardımı ile Genotoksik Etkilerin Araştırılması. 6.Uludağ İç Hastalıkları Kış Kongresi 01-03 Mart 2010, Bursa, Türkiye.
- Vatan, Ö., Çelikler, S., Yıldız, G., Bilaloğlu, R. 2010.** *Cystoseira compressa*'nın Genotoksik/ Antigenotoksik Etkisinin *in vitro* Kromozom Aberasyonu (CA) Yöntemi ile Araştırılması III. Multidisipliner Kanser Araştırma Sempozyumu 14-17 Mart 2010, Bursa, Türkiye.
- Vatan, Ö., Çelikler, S., Yıldız, G., Bilaloğlu, R. 2010.** *Cystoseira compressa*'nın Etil Metan Sülfonat (EMS)'a karşı, Olası Antigenotoksik Etkisinin *in vitro* Olarak Araştırılması. 20. Ulusal Biyoloji Kongresi. 21-25 Haziran 2010, Denizli, Türkiye.
- Çinkılıç, N., Kahraman, S., Tüzün, E., Çavaş, T., Vatan, Ö., Gözcü, S., Yılmaz, D., Lütfi Özkan, Bilaloğlu, R. 2011.** Klorojenik (Chlorogenic) Asidin Radyokoruyucu Etkisinin İnsan Kan Lenfosit Kültürlerinde Comet Testi ile Belirlenmesi. 15. Uludağ Onkoloji Sempozyumu. 06-09 Mart 2011. Bursa, Türkiye.
- Çinkılıç, N., Kahraman, S., Zorlu, T., Çavaş, T., Vatan, Ö., Gözcü, S., Yılmaz, D., Özkan, L., Bilaloğlu, R. 2011.** Kinik (Quinic) Asidin Radyokoruyucu etkisinin İnsan Kan Lenfosit Kültürlerinde Comet Testi ile Belirlenmesi. 15. Uludağ Onkoloji Sempozyumu. 06-09 Mart 2011. Bursa, Türkiye.
- Çinkılıç, N., Tüzün, E., Kahraman, S., Çavaş, T., Vatan, Ö., Yılmaz, D., Özkan, L. 2011.** Sinamik (Cinnamic) Asidin Radyasyondan Koruyucu Etkilerinin Sağlıklı İnsan Lenfosit Kültürlerinde COMET Testi İle Araştırılması. 12. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2011 Antalya, Türkiye.
- Çavaş, T., Çinkılıç, N., Vatan, Ö., Çoşkun, M. 2011.** Nano C60 Sulu Süspansiyonlarının *In vitro* Genotoksik Etkilerinin İnsan Akciğer Fibroblast Hücre Hattı IMR 90 Üzerinde İncelenmesi. 12. Ulusal Tıbbi Biyoloji ve Genetik Kongresi 27-30 Ekim 2011 Antalya, Türkiye.
- Vatan, Ö., Çinkılıç, N., Çavaş, T., Yılmaz, D., Bilaloğlu, R. 2012.** Tyrosol'ün Antigenotoksik Etkisinin *in vivo* ve *in vitro* MN Yöntemleri ile Araştırılması. 21. Ulusal Biyoloji Kongresi 3-7 Eylül 2012 İzmir, Türkiye.