



T.C.

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**BAZI ALKİLLEYİCİ AJANLARIN OLUŞTURDUĞU GENOTOKSİK
ETKİLERE KARŞI ENDEMİK *IRIS TAOCHIA* BİTKİ
EKSTRAKTLARININ ANTİGENOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

ÖZLEM ÖZÇELİK

HAZİRAN 2019

**BAZI ALKİLLEYİCİ AJANLARIN OLUŞTURDUĞU GENOTOKSİK
ETKİLERE KARŞI ENDEMİK *IRIS TAUCHIA* BİTKİ
EKSTRAKTLARININ ANTİGENOTOKSİK ETKİNLİĞİNİN
ARAŞTIRILMASI**

Özlem ÖZÇELİK

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Doç. Dr. Arif AYAR

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2019

Özlem ÖZÇELİK tarafından hazırlanan “**Bazı Alkilleyici Ajanların Oluşturduğu Genotoksik Etkilere Karşı Endemik *Iris taochia* Bitki Ekstraktlarının Antigenotoksik Etkinliğinin Araştırılması**” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Doç. Dr. Arif AYAR

Tıbbi Hizmetler ve Teknikler Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan: Prof. Dr. Tuba YILDIRIM

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye: Dr. Öğr. Üyesi Deniz ALTUN ÇOLAK

Zoooloji Anabilim Dalı, Erzincan Binali Yıldırım Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 17.06.2019

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Meryem EVECEN

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

ETİK BEYAN

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

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
- Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu, bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Özlem ÖZÇELİK

17.06.2019

BAZI ALKİLLEYİCİ AJANLARIN OLUŞTURDUĞU GENOTOKSİK ETKİLERE
KARŞI ENDEMİK *IRIS TAOCHIA* BİTKİ EKSTRAKTLARININ ANTİGENOTOKSİK
ETKİNLİĞİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Özlem ÖZÇELİK

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2019

ÖZET

Bu çalışmada Erzurum yöresinden toplanan *Iris taochia* Woronow ex Grossh. bitkisinin toprak üstü metanol ekstrelerinin beş farklı konsantrasyonu (10; 5; 2,5; 1,25 ve 0,625 mg/mL) kullanılarak iki farklı alkilleyici ajanın (Siklofosamid = SF ve Etil metansülfonat = EMS) indüklediği genotoksik etkiye karşı antigenotoksik etkisinin belirlenmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla çalışmamızda *Drosophila melanogaster*'de kanat benek testi olarak bilinen SMART (Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi) tekniği uygulanmıştır. Bu test tekniğinde *D. melanogaster*'in genomunda çekinik flare (*flr³*) ve çoklu kanat kılı (*mwh*) belirleyici genlerini taşıyan iki farklı mutant soyu kullanılmıştır. Bu iki mutant soy arasında yapılan çaprazlamalar sonucu elde edilen 72±4 saatlik trans-heterozigot larvalar *I. taochia* metanol ekstresi ve alkilleyici ajanlarla kronik olarak beslenmiştir. Tüm uygulama gruplarındaki larvalardan yetişen ergin bireylerin kanatlarından hazırlanan preparatlar ışık mikroskopunda farklı benek tiplerine göre taranmıştır. Çalışmamız sonucunda metanol ile hazırlanan bitki ekstresinin hiçbir konsantrasyonda genotoksik etki göstermediği buna karşın alkilleyici ajanlarla birlikte uygulandığında özellikle 5 ve 10 mg/mL'lik konsantrasyonlarda somatik mutasyon ve rekombinasyon oranlarını önemli ölçüde azalttığı belirlenmiştir. Özellikle EMS + *I. taochia* uygulama grubunun yüksek konsantrasyona sahip iki grubunda (2,5 ve 5 mg/mL) normal kanatlı bireylerde %inhibisyon oranının %63,46, serrat kanatlı bireylerde ise bu oranın %62,95'e kadar çıktığı gözlemlenmiştir. Elde ettiğimiz veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde sonuçların anlamlı olduğu görülmüştür ($p<0,05$). Yapılacak daha ileri çalışmalarla bitki ekstraktındaki etken maddelerin ve bu maddelerin antigenotoksik etki mekanizmalarının açığa çıkartılması gerekmektedir.

Sayfa Adedi : 76

Anahtar Kelimeler : *I. taochia*, *D. melanogaster*, Antigenotoksisite, SMART

Danışman : Doç. Dr. Arif AYAR

INVESTIGATION OF ANTIGENOTOXIC ACTIVITY OF ENDEMIC *IRIS TAOCHIA*
PLANT EXTRACTS AGAINST THE GENOTOXIC EFFECTS OF SOME
ALKYLATING AGENTS

(M. Sc. Thesis)

Özlem ÖZÇELİK

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2019

ABSTRACT

The aim of this study was to determine the antigenotoxic effects against the genotoxic effect that is induced by two different alkylating agents (Cyclophosphamide = SF and Ethyl methanesulfonate = EMS) of the *Iris taochia* Woronow ex Grossh, an endemic of Turkey found in Erzurum region, by using five different concentration levels of overground methanol extracts of it (10; 5; 2,5; 1,25; and 0,625 mg/mL). For this purpose; SMART (Somatic mutation and recombination test), also known as wing spot test, was applied to *Drosophila melanogaster*. In this test technique, two different mutant strains carrying the recessive *flare* (*flr³*) and the multidirectional determinant genes (*mwh*) in *D. melanogaster* genome were used. The 72 ± 4 hour-trans-heterozygous larvae that are obtained as a result of the crossings made between these two mutant strains were chronically fed with the *I. taochia* methanol extract and alkylating agents. Preparations obtained from the wings of adults growing from larvae in all application groups were scanned based on the different types of spots under a light microscope. In light of all trials, it was observed that plant extract prepared with methanol showed no genotoxic effect at any concentration level whereas it is also observed that it significantly decreased the rates of somatic mutation and recombination, especially at concentrations of 5 and 10 mg/mL when it is applied with alkylating agents. Especially in the two highest concentrated groups of EMS + *I. taochia* extract application group (5 and 2,5 mg/mL), inhibition percentage was observed to be increased up to 63,46% in normal-winged subjects and up to 62,95% in serrate-winged subjects. Obtained results are observed to be statistically significant with $p < 0,05$. Further advanced studies should be performed to reveal the active substances in the plant's extracts and antigenotoxic action mechanisms of these substances.

Page Number : 76

Key Words : *I. taochia*, *D. melanogaster*, Antigenotoxicity, SMART

Supervisor : Assoc. Prof. Dr. Arif AYAR

ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu tez konusunu bana veren, çalışmalarım boyunca destekleyen, yönlendiren ve yazımı sırasında bana zaman ayırarak yardımını esirgemeyen tez danışmanım ve çok değerli hocam Doç. Dr. Arif AYAR' a teşekkürlerimi sunarım.

Tezimde kullandığım bitkinin temin edilmesindeki yardımlarından ötürü, Amasya Üniversitesi Eğitim Fakültesi İlköğretim Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Nezahat KANDEMİR hocama çok teşekkür ederim.

Tez çalışmamda kullanmış olduğum bitkinin ekstraksiyonu aşamasında bana yardımcı olan Karadeniz Teknik Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Eczacılık Meslek Bilimleri Bölümü öğretim üyesi Sayın Doç. Dr. Gülin RENDA hocama çok teşekkür ederim.

Tezimin belirlenmesi, yapımı ve yazımı aşamasında Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Aktivite Laboratuvarının tüm ekipmanlarını kullanmama olanak veren ve çalışmalarımnda teknik destek sağlayan Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Dekanlığına teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ	ix
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİMLER DİZİNİ.....	xi
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ	xii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER.....	4
2.1. <i>Iris taochia</i> Bitkisinin Genel Özellikleri.....	4
2.2. Antineoplastikler	5
2.2.1. Alkilleyici ajanlar.....	7
2.3. Genetik Toksikoloji.....	9
2.3.1. Genetik toksikolojide kullanılan bazı test teknikleri.....	10
3. MATERYAL ve YÖNTEM.....	14
3.1. Materyal	14
3.1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> Meigen	14
3.1.2. Çalışmada kullanılan alkilleyici ajanlar	18
3.1.3. <i>Iris taochia</i> Woronow Ex Grossh. (Iridaceae).....	19
3.2. Yöntem.....	20
3.2.1. Bitkinin toplanması ve ekstraktının hazırlanması	20

	Sayfa
3.2.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)	21
4. BULGULAR	27
4.1. Larval Mortalite Oranları	27
4.2. SMART Sonucu Elde Edilen Bulgular	28
4.2.1. Etil metansülfonat (EMS) uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları.....	31
4.2.2. Siklofosfamid (SF) uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları ...	34
4.2.3. <i>Iris taochia</i> uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları.....	36
4.2.4. EMS ile <i>I. taochia</i> 'nın birlikte uygulanması sonucu elde edilen SMART bulguları.....	38
4.2.5. SF ile <i>I. taochia</i> 'nın birlikte uygulanması sonucu elde edilen SMART bulguları.....	40
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	42
KAYNAKLAR	50
ÖZGEÇMİŞ	62

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kematerapötiklerin sınıflandırılması	6
Çizelge 2.2. Alkilleyici ajanların sınıflandırılması	8
Çizelge 3.1. <i>Drosophila</i> Lewis besiyeri içeriği	18
Çizelge 3.2. Faure solüsyonunun içeriği.....	25
Çizelge 4.1. <i>Iris taochia</i> topraküstü metanol ekstresi ile beslenen trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları	28
Çizelge 4.2. EMS uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri.....	33
Çizelge 4.3. Siklofosamid uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri	35
Çizelge 4.4. <i>Iris taochia</i> uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri	37
Çizelge 4.5. EMS+ <i>Iris taochia</i> uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri.....	39
Çizelge 4.6. SF+ <i>Iris taochia</i> uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri.....	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Somatik mutasyon ve rekombinasyonların oluşum mekanizmaları	12
Şekil 2.2. <i>Drosophila melanogaster</i> 'de imajinal diskler	13
Şekil 3.1. İnsan ve sinek organizasyonundaki temel benzerlikler	16
Şekil 3.2. <i>Drosophila melanogaster</i> yaşam döngüsü	17
Şekil 3.3. Siklofosfamid'in moleküler yapısı	18
Şekil 3.4. Etil metansülfonat'ın moleküler yapısı	18
Şekil 3.5. <i>Drosophila</i> kanat benek testi (SMART)'nin yapılışı	23

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 2.1. <i>Iris taochia</i> Woronow Ex Grossh. bitkisinin çiçek ve gövde kısımları	4
Resim 3.1. <i>Drosophila melanogaster</i> dişi ve erkek bireyleri	14
Resim 3.2. Çalışmalarında <i>Drosophila</i> kullanarak Nobel Ödülü alan bilim insanları ...	15
Resim 3.3. <i>Iris taochia</i> bitkisinin kurutulmuş, yaş ve toplandığı lokasyona ait görüntüleri	19
Resim 3.4. Bitki ekstraksiyon düzeneği	20
Resim 3.5. Kanatlardaki a) <i>flare</i> ve b) <i>mwh</i> kıl görüntüsü	21
Resim 3.6. Çaprazlama yapılan bireylere ait görüntü; a) Normal kanatlı, b) Serrat kanatlı	22
Resim 3.7. <i>Drosophila</i> trans-heterozigot larvaları	22
Resim 3.8. <i>Drosophila</i> kanat tipleri a) Normal kanat b) Serrat kanat	25
Resim 4.1. Trans-heterozigot larvalar ve uygulama grupları	27
Resim 4.2. Kanat preparatlarının hazırlanışı	28
Resim 4.3. Normal kıllara sahip kanat görüntüsü (400X)	29
Resim 4.4. Küçük tekli <i>mwh</i> beneğe sahip kanat görüntüsü (400X)	29
Resim 4.5. Büyük tekli <i>mwh</i> beneğe sahip kanat görüntüsü (400X)	30
Resim 4.6. Büyük tekli <i>flr³</i> beneğe sahip kanat görüntüsü (400X)	30
Resim 4.7. İkiz beneğe (<i>mwh+ flr³</i>) sahip kanat görüntüleri (400X)	31

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler	Açıklama
<i>BdS</i>	Beaded Serrate
°C	Santigrat derece
<i>flr</i>	Flare
<i>mwh</i>	Multiple wing hair
g	Gram
mg	Miligram
mL	Mililitre
TM3	Dengeleyici kromozom
%	Yüzde
♂	Erkek
♀	Dişi
mm	Milimetre
mM	Milimolar
OH⁻	Hidroksil
NH₂	Aminil radikali
K₂Cr₂O₇	Potasyum dikromat
CoCl₂	Kobalt klorür
MNU	N-metil-N-nitrosourea

Kısaltmalar	Açıklama
DNA	Deoksiribonükleik asit
EMS	Etil metansülfonat
LD₅₀	Bir popülasyondaki bireylerin yarısını öldüren doz
MN	Mikronükleus Testi
SCGE	Tek hücre jel elektroforezi
SF	Siklofosamid
SMART	Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi
RNA	Ribonükleik asit
RIP	Ribozomal inaktive edici protein
HPLC	Yüksek performanslı sıvı kromatografisi
SCE	Kardeş kromatid değişimi
IUCN	Dünya korunma birliği
KİF	Klon İndüksiyon Frekansı
ENU	Etil nitrozoüre
MMC	Mitomisin C
GC-MS	Gaz kromatografisi-Kütle spektrometrisi
ROS	Reaktif oksijen türleri
DMSO	Dimetil sülfoksit
SOR	Serbest oksijen radikalleri
ACR	Akrolein
FAM	Fosforamid mustrad

1. GİRİŞ

Bu çalışmada kanser tedavilerinde kemoteropatik olarak kullanılan ilaç gruplarından birisi olan alkilliyici ajanlardan bazılarının genotoksik etkileri ve olası etkilerin bitki ekstraktları ile giderilmesi amaçlanmıştır.

Bakteri, maya, *Drosophila*, balıklar ve insanlar dahil tüm organizmalar, çevresel etkilere karşı korunmak için DNA onarım mekanizmaları içerirler. DNA onarımı hücre ölümünü, mutasyonu, replikasyon hatalarını, DNA hasarının devamlılığını ve genomik kararsızlığı azaltan bütün hücresel işlemlerde kullanılır. Bu işlemlerdeki herhangi bir anormallik kanser başta olmak üzere birçok hastalığa ve yaşlanmaya yol açmaktadır [1].

Kanser, vücut hücrelerinin kontrolsüz bir şekilde anormal büyümesi ve çoğalması yoluyla hücresel morfolojide hasar meydana gelmesi ile kendini gösteren ölümcül bir hastalık olarak tanımlanır [2-6].

Günümüzde kanser, görülme sıklığı, tanı, sağaltım, sosyoekonomik yönü ile tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de giderek büyüyen, geniş kitleleri etkileyen önemli bir sağlık sorunudur. Kanser dünyada ve ülkemizde ölüme yol açan hastalıklar arasında kalp-damar hastalıklarından sonra ikinci sırada yer almaktadır [7, 8].

Hücrenin biyokimyasal sürecini değiştiren ve doğrudan ya da dolaylı olarak hücrenin çoğalmasını engelleyen kemoterapi; normal hücrelere zarar vermeden anormal hücreleri yok etmek, tümör gelişimini baskılamak ya da ağrı gibi belirtileri kontrol altına almak amacıyla neoplastik hastalıkların tedavisinde cerrahi ve radyoterapi ile birlikte ya da tek başına kullanılan bir tedavi yöntemidir [9].

Kanser vakalarının artması ve tedavi gören hastalarda toksisite kontrolünün daha iyi sağlanması ile birlikte antineoplastik ilaçlar yüksek dozlarda ve daha fazla sayıda kombinasyonlarda kullanılmaya başlanmıştır. Bu durum hazırlanan ve uygulanan ilaç miktarının artmasına neden olmuştur [10].

Kanser kemoterapisinde kullanılan ilaçlar farklı etki mekanizmalarına sahip oldukları için tedavide tek ilaç kullanmak yerine birkaç ilaç birlikte kullanılarak kanser hücrelerinin kontrol altına alınması kolaylaşmakta ve ilaçların hasta üzerindeki yan etkilerini azaltmaktadır [8, 11, 12].

Birbirinden farklı yan etkilere sahip antineoplastik ilaçlar etki mekanizmalarına göre 6 grupta incelenir. Bunlar alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, antibiyotikler, vinka alkaloidleri, hormonlar ve diğer ilaçlar şeklindedir [13]. Çalışmamızda kullanılan Etil metansülfonat (EMS) ve Siklofosfamid bu gruplardan alkilleyici ajanlar içinde yer almaktadır.

Azotlu hardallar grubunda yer alan Siklofosfamid (SF), alkilleyici ilaçlardan çoğunlukla kullanılan, dokularda tahriş oluşturmayan, geniş spektrumlu ve güçlü immunosupresif etki gösteren bir antineoplastik ilaçtır. En belirgin yan etkisi kanamalı mesane enfeksiyonu olarak bilinen hemorajik sistittir [14].

Etil metansülfonat (EMS), ayrıca bazı memeli canlılarda ve birkaç balık türünde klastojenik, mutajenik, teratojenik ve karsinojenik etki gösterdiğinden genetik araştırmalarda pozitif kontrol olarak yoğun şekilde kullanılmaktadır [15, 16].

Genetik toksisite, genotoksinlerin kromozom ve DNA yapısında meydana getirdiği hasarları kapsayan bir terimdir. Bu tip genetik hasarlar; doğum defektleri, kanser, yaşlanma, infertilite ve bazı genetik ve multifaktoriyel hastalıklara yol açabildiği için, mutajen ve karsinojenlerin tanımlanması ve risklerinin en düşük seviyeye indirilebilmesi insan sağlığının korunması için önemlidir. İnsanlar sürekli çevrelerinde bulunan çok sayıda kimyasal ve fiziksel ajana maruz kaldıkları için, bu ajanların potansiyel riskleri ve olumsuz etkilerini değerlendiren genotoksisite çalışmaları gittikçe artan bir önem kazanmaktadır [17].

DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasını sağlayan enzimlerle etkileşime giren ve mutasyona neden olan genotoksik maddelerin DNA'da hasar meydana getirmesi veya bazı değişimlere yol açması ise genotoksik etki olarak tanımlanmaktadır [18-21].

Çalışmamızın ikinci kısmında antineoplastik ilaçların oluşturduğu genotoksik etkinin *Iris taochia* endemik bitki türünün ekstresi ile giderilip giderilemeyeceği *Drosophila* Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile araştırılmıştır.

Genotoksik ve antigenotoksik aktiviteleri belirlemek için çok çeşitli testler bulunmaktadır. Ancak bunların arasından SMART'ın hızlılık ve duyarlılık gibi birçok avantaj, bu, özelliği genotoksik ve antigenotoksik aktiviteleri saptamak için uygun bir test yapmaktadır [22].



2. GENEL BİLGİLER

2.1. *Iris taochia* Bitkisinin Genel Özellikleri

Iris taochia Woronow Ex Grossh. (Iridaceae) Kuzey Doğu Anadolu'da özellikle Erzurum-Tortum civarında yayılış gösteren endemik bir bitki türüdür. *Iris taochia* rizomlu bir bitkidir ve uzunluğu 18,5-30 santimetre kadardır. Çiçeklerin sayısı 2-5 kadar olup sarı ve mor renklidir. *Iris taochia*, tatlı kokulu ve gösterişli çiçekleri nedeniyle dekoratif bir bitki olarak da kullanılmaktadır (Resim 2.1) [23, 24].

Iris, Iridaceae familyasındaki en büyük cins olup Avrasya, Kuzey Afrika ve Kuzey Amerika'da yaklaşık 210 türle temsil edilmektedir [25].



Resim 2.1. *Iris taochia* Woronow Ex Grossh. bitkisinin çiçek ve gövde kısımları [26]

Iridaceae ailesi, yaklaşık 80 cins ile geniş ve çeşitli bir aile olup Kuzey Yarımküre'nin tropikal ve alt tropikal bölgesinde dağılmıştır. Bu ailenin en önemli cinslerinden biri olan Iris L., Türkiye'de beş alt cinsle temsil edilmektedir [27, 28]. Ülkemizde, çiçekleriyle ilgili çok önemli bir ekonomik potansiyele sahip 37 tür Iris L. cinsi vardır. Bu türün on dördü endemiktir ve endemizm oranı % 37,8'dir [29, 30]. Iris L. cinsinin türleri çok yıllık, rizomatoz veya soğanlı, yer altı saplı otsu bitkilerdir. Bu bitkilerin dekorasyon ve tıpta kullanılmasından bu yana ekonomik önemi giderek artmıştır. Ayrıca, yerel halk egzama tedavisinde bu bitkilerin rizomlarını kullanır. Rizomların idrar söktürücü etkilerinin olduğu ve tohumların gaz sökücü olarak kullanıldığı bilinmektedir [31, 32]. Ayrıca, bahçelerde, parklarda ve balkonlarda yetişen Iris L. türleri de öne çıkmaktadır [33, 34].

Çeşitli Iris türlerinin soyulmuş ve kurutulmuş rizomlarının, emetik, katartik, diüretik, uyarıcı, antispazmodik ve balgam söktürücü özelliklerinden dolayı geleneksel tıpta popülerlik kazandığı bilinmektedir [35]. Bazı ülkelerde Iris türleri kanser, inflamasyon, bakteriyel ve viral enfeksiyonların tedavisinde de kullanılır [36]. Ayrıca birçok Iris türü antiülser, anti-inflamatuar, pestisidal, antineoplastik, antioksidan, hipolipidemik ve antitüberküloz gibi farklı etkilere sahiptir [37-44]. Bununla birlikte, tıbbi açıdan oldukça önemli olan Iris türlerinden *I. germanica* köklerinden elde edilen ekstraktların spazmodik ve idrar söktürücü özelliklerinin olup nezle ve karaciğer hastalıklarında kullanıldığı bilinmektedir [40].

2.2. Antineoplastikler

Günümüzde kanser hastalığının kimyasal bileşiklerle önlenmesi kanser kontrol yöntemi olarak giderek artan bir biçimde önem kazanmaktadır. Kanser gelişimini önleyen kimyasal bileşikler, ilaçlar halinde veya diyet içerisinde tabii orjinli bileşikler halinde bulunabilir [45].

Antikanser ilaçlarının kullanımı, lösemi ve lenfoma gibi kanser türlerinin tedavisinde yaygın olarak kullanılmasına rağmen meme kanseri gibi solid tümörlerin erken sistemik yayılımında modern tedavi protokolleri arasında yer alır. Antikanser ilaçları, normal hücrelerin yenilenmesine ve tamirine izin verirken, tümörleri ortadan kaldırmak için aktif olarak bölünen hücreleri hedef alır [46].

Kemoterapide kullanılan ilaçlar farklı etki mekanizmalarına sahip olduklarından kanser hücrelerini yok etmek için tedavide genellikle tek ilaç yerine birkaç ilaç birbiri ile kombine edilerek uygulanmaktadır. İlaçların kombine olarak kullanılması kanser hücrelerinin daha iyi kontrol altına alınmasını ve hastalarda daha az oranda yan etkinin görülmesini sağlamaktadır. Birbirinden farklı yan etkilere sahip antineoplastik ilaçlar farmakolojik özelliklerine ve hücre döngüsü üzerine etkilerine göre başlıca altı grup altında toplanır (Çizelge 2.1) [11, 12].

Çizelge 2.1. Kemoterapötik ajanların sınıflandırılması

Sınıf/Etki Mekanizması	Kemoterapötik Ajanlar	Yan Etkiler
1- ALKİLLEYİCİ AJANLAR Hücre siklusuna özgü değildirler. DNA'nın çift sarmalı yapısını bozup RNA, protein ve DNA sentezini baskırlarlar.	Busulfan, Chlorambucil, Cyclophosphamide, Streptozotocin, Carmustine, Lomustine, Semustine, Cisplatin, Carboplatin, Ifosfamid, Melphalan, Mechlorethamine hidrochlorid, Thiotepa	Hematopoetik Gastrointestinal Reproduktif Renal
2- ANTİMETABOLİTLER Hücresinin S fazına etkilidirler. DNA sarmalını kırarak veya prematür zincirini sonlandırarak DNA sentezi için gerekli olan enzimlerin üretimini baskırlarlar.	Cytarabine, Capecitabine, Gemcitabine, Methotrexate, 5-Azacytidine, Floxuridine, 5-Flourouracil, 6 Mercaptopurine, 6-Thiuanine	Hematopoetik Gastrointestinal Dermatolojik
3- SİTOTOKSİK ANTİBİYOTİKLER Hücre siklusuna özgü değildirler. Nükleik asit sentezini ve işlevini değiştirerek RNA ve DNA sentezini baskırlar.	Bleomycin, Dactinomycin, Daunorubicin, Doxorubicin, Idarubicin, Mytomicin C, Mitoxantrone, Plicamycine	Hematopoetik Gastrointestinal Kardiyak Dermatolojik
4- VİNKA ALKOLOİDLERİ Hücresinin M fazına etkilidirler. RNA ve protein sentezini baskırlarlar.	Vinblastine, Vincristine, VP-16, VM-26, Vindesin, Topotecan, İrinotecan, Paclitaxel, Docetaxel	Hematopoetik Gastrointestinal Reproduktif Nörolojik
5- HORMONLAR Tümörü doğrudan etkilerler ya da tümörü besleyen vücut hormonlarını baskırlarlar.	Androjenler, Östrojenler, Kortikosteroidler, Progestinler, Östrojen antagonistleri	Endokrin Hematopoetik Gastrointestinal Reproduktif
6- SINIFLANDIRILAMAYANLAR Hücresinin S fazına etkilidirler. RNA, DNA ve protein sentezini baskırlarlar.	Amsacrine, Hydroxyurea, L-Asparaginase, Procarbazine	Hematopoetik Gastrointestinal

Antineoplastik ilaçların büyük bir kısmı mukoz membran, göz ve deriye son derece irritandırlar. Bu ilaçların pek çok hayvan türünde kanserojenik ve teratojenik etki gösterdiği ve tedavi dozunda maruziyetlerinde insanlarda kansere neden olduğu bilinmektedir. Bu tip etkilerin yanı sıra antineoplastiklerin gerek deney hayvanlarında ve

gerekse uzun süre kemoterapi uygulanan hastalarda kardiyotoksik etki (örn; doksorubisin), pulmoner toksik etki (örn; bleomisin), nefrotoksik etki (örn; sisplatin), ürotoksik etki (örn; siklofosfamid) ve sterilite (örn; sisplatin) şeklinde ortaya çıkan organ harabiyetlerine de neden olduğu iyi bilinmektedir [47].

2.2.1. Alkilleyici ajanlar

Alkilleyici antineoplastik maddeler, kanser tedavisinde kullanılan ve bir alkil grubunu (C_nH_{2n+1}) DNA'ya bağlayan maddelerdir. Alkil grubu, DNA'nın guanin bazına pürin halkasının 7 numaralı azot atomundan bağlanır [48].

Bilindiği gibi karsinogenik ve mutajenik bileşikler kuvvetli elektrofilik özellikler taşırlar. Elektrofilik ara ürünlere dönüşerek metabolize olan bileşikler genellikle alkilleyici ajanlar olarak bilinir. Reaktivitesi yüksek olan bu bileşikler organizmada nükleofilik özellikli, NH_2 ya da OH^- gruplarını içeren proteinlerle, RNA ve DNA gibi makromoleküllerle kovalent bağ yapabilirler. Böylesine bir bağlanma da mutasyona yol açmaktadır [49-52].

Kanser hücreleri, genel olarak, sağlıklı hücrelerden daha hızlı ve daha az hata düzeltme ile çoğaldıklarından, alkillenme gibi DNA hasarına karşı daha hassastırlar. Alkilleyici ajanlar birçok kanseri tedavi etmek için kullanılır. Bununla birlikte, normal hücrelerde, özellikle gastrointestinal sistemde, kemik iliğinde, testislerde ve yumurtalıklarda infertiliteye neden olabilecek hücreler gibi sıklıkla bölünen hücreler için toksiktirler. Alkilleyici maddelerin çoğu aynı zamanda kanserojendir [53].

Alkilleyici maddeler DNA'ya bağlanabilir ve iplik kopmaları, kromozom kopmaları veya mikronükleus oluşumu ile sonuçlanabilecek hasara neden olabilir. Bu etkiler biyosentetik yolların inhibisyonuna, teratojeniteye, hücre ölümüne ve hücre döngüsüne hasara neden olabilir [54, 55]. Alkilleyici ajanlar ise, insanların sağlıklı olmak amacıyla kullandıkları çeşitli ilaçlardır. Bu ilaçlardan farklı hastalıkların ve özellikle kanserin tedavisinde kullanılan siklofosfamid ve mitomisin C'nin genotoksik ve hatta karsinogenik oldukları çeşitli test sistemlerinde gösterilmiştir [56, 57].

Alkilleyici ajanlar kendi aralarında beş gruba ayrılarak incelenmektedir (Çizelge 2.2) [58].

Çizelge 2.2. Alkilleyici ajanların sınıflandırılması

ALKİLLEYİCİ AJANLAR	ÖRNEKLER
Azotlu Hardallar	Biskloretilamin, Siklofosfamid (Endoxan), Mekloretilamin (Mustargen), Klorambusil (Leukeran), Melfalan (Alkeran)
Etileniminler	Tiotepa (Thiotepa), Trietilenmelamin
Alkilsulfonatlar	Busulfan (Myleran)
Nitrozoüreler	Karmustin (Bi CNU), Lomustin (CiNU), Semustin, Streptozotosin (Zanosar, SF)
Triazen ve Hidrazen Türevleri	Dakarbazin (DTIC), Prokarbazin (Natulan)

Siklofosfamid (SF):

Moleküler formülü $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ olan SF azotlu hardal türevi alkilleyici bir antineoplastik ajandır.

Siklofosfamid, temel olarak kanser tedavisinde kemoterapi ilacı olarak kullanılmakla birlikte, bağışıklık sistemini baskılayan immünsüpresif bir ilaç olarak da romatizma, eklem yangıları, kronik hepatit gibi malign olmayan hastalıkların tedavisinde ve organ nakillerinde kullanılmaktadır [59]. Metabolik aktivasyonun olmadığı durumlarda Siklofosfamid DNA'ya bağlanamaz çünkü kendisi değil metabolitleri (Phosphoramid mustard ve acrolein) alkilleyici ajandır [59]. Siklofosfamidin DNA replikasyonunun inhibisyonuna, baz substitüsyonları oluşturarak DNA hasarına, kromozomal hatalara, mikronukleus oluşumuna ve somatik mutasyonlara neden olarak genotoksik etkiler gösterdiği belirtilmektedir [59, 60].

Karaciğerde P450 miks fonksiyonlu oksidazlar tarafından metabolize edilene kadar inaktiftir. Lenfositler üzerinde belirgin bir etkisi vardır ve immünsüpresan olarak da kullanılabilir. Genelde oral yoldan veya intravenöz enjeksiyon yoluyla verilse de intramüsküler olarak da kullanılabilir. Önemli toksik etkileri, bulantı ve kusma, kemik iliği baskılanması ve hemorojik sistittir. İlacın metaboliti akroleinin neden olduğu fosfamid ile de görülen hemorojik sistit yan etkisi, sıvı alımının artilması ve N-asetilsistein ve mesna

gibi sülfidril donörlerinin uygulanması ile düzeltilebilir. Bu ajanlar, özellikle akrolein ile etkileşerek toksik olmayan bileşikler oluşturur [61].

Etil metansülfonat (EMS):

EMS genomda rastgele mutasyonlar üretmek için kullanılan mutajenik ve karsinojenik bir maddedir. EMS, DNA replikasyonu sırasında yanlış bir şekilde timin ile çiftleşen, genellikle bir gen ürününün fonksiyonuna zarar verebilecek ekleme bölgelerini tahrip eden veya kodlama alanlarını tahrip eden GC'den AT'ye geçişler üreten bir guanin, O⁶-metilguanin formu üretir. Bu mutasyonlar rastgele üretilir ve bazıları fenotipte gözle görülür, hatta ölümcül olmalarına rağmen, diğerleri belirgin bir değişiklik göstermez, bu nedenle fenotipte gözlenen mutasyonlara neden olduğu bilinmektedir [62].

2.3. Genetik Toksikoloji

Kelime anlamı “zehir bilimi” olan toksikoloji, fiziksel veya kimyasal ajanların canlılar üzerindeki olumsuz etkilerini inceler. Başka bir ifadeyle, canlılar üzerinde olumsuz ya da istenmeyen etkiler bırakan ajanların yani toksikantların ortaya çıkışını, doğasını, tekrarlama oranını, mekanizmasını ve risk faktörlerini deneysel olarak inceleyen bir bilim dalıdır [63].

Toksikoloji immunotoksikoloji, hepatoksikoloji gibi çeşitli alt dallara ayrılmıştır. Bu alt dallardan biri olan “genotoksikoloji” veya “genetik toksikoloji”, fiziksel ya da kimyasal ajanların DNA ve kromozamlar üzerine etkilerini inceler [64].

Hücrede DNA ve kromozomlarda hasara neden olan toksik ajanlar genotoksin, DNA molekülleri ile genotoksinlerin etkileşmesi sonucu ortaya çıkan ve gelecek nesillere taşınan toksisite ise genotoksisite olarak tanımlanmaktadır [65]. Çeşitli *in vivo* ya da *in vitro* testlerle belirlenen mutasyonlar, kromozom hataları, DNA iplikçiklerinde kırılma ve tamiri engellenen DNA eklentileri genotoksisitenin varlığını gösterir [63].

Genetik toksisite ya da genotoksisite; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA zincir kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir. Bu tip genetik hasarlar; doğum defektleri,

kanser, yaşlanma, infertilite ile bazı genetik ve multifaktoriyel hastalıklara yol açabildiği için, mutajen ve karsinojenlerin tanımlanması, risklerinin en düşük seviyeye indirilebilmesi halk sağlığının korunması için önemlidir. Genotoksisite testleri, kimyasal ve fiziksel ajanların mutajenitelerinin belirlenmesi ve bu ajanların karsinojenik potansiyellerinin tahmin edilebilmesi için kullanılmaktadır [17].

2.3.1. Genetik toksikolojide kullanılan bazı test teknikleri

Günümüzde yapılan genetik çalışmaların büyük bir çoğunluğu genetik toksikoloji alanındadır [66]. Genetik toksikoloji hücre ve organizmada kalıtımın mekanizması ve genetik materyal üzerinde radyasyonun ve çeşitli kimyasalların etkilerini ortaya çıkarmaya çalışır [67].

Genetik toksisite ya da genotoksisite testleri 1970'lerden beri kullanılmaktadır ve günümüze kadar mutajenik ve genotoksik maddelerin karsinojenik potansiyellerini ölçebilmek için birçok genotoksisite testi geliştirilmiştir [68].

In vivo ve *in vitro* genotoksisite testlerinde, üreme hücrelerindeki veya somatik hücrelerdeki mutasyonlar temel alınmaktadır. Böylece gelecek kuşaklara çeşitli kalıtsal hastalıkları oluşturan, üreme yeteneğini etkileyen ya da somatik mutasyonlar ile karsinojenik etkili olan mutasyonlar belirlenebilmektedir. Genotoksisite testleri yalnızca genotoksik ajanları ve onların etki mekanizmalarını belirlemez aynı zamanda antigenotoksik ajanların ve bu ajanların antigenotoksisite mekanizmalarını belirlemek amacıyla da yapılmaktadır [69].

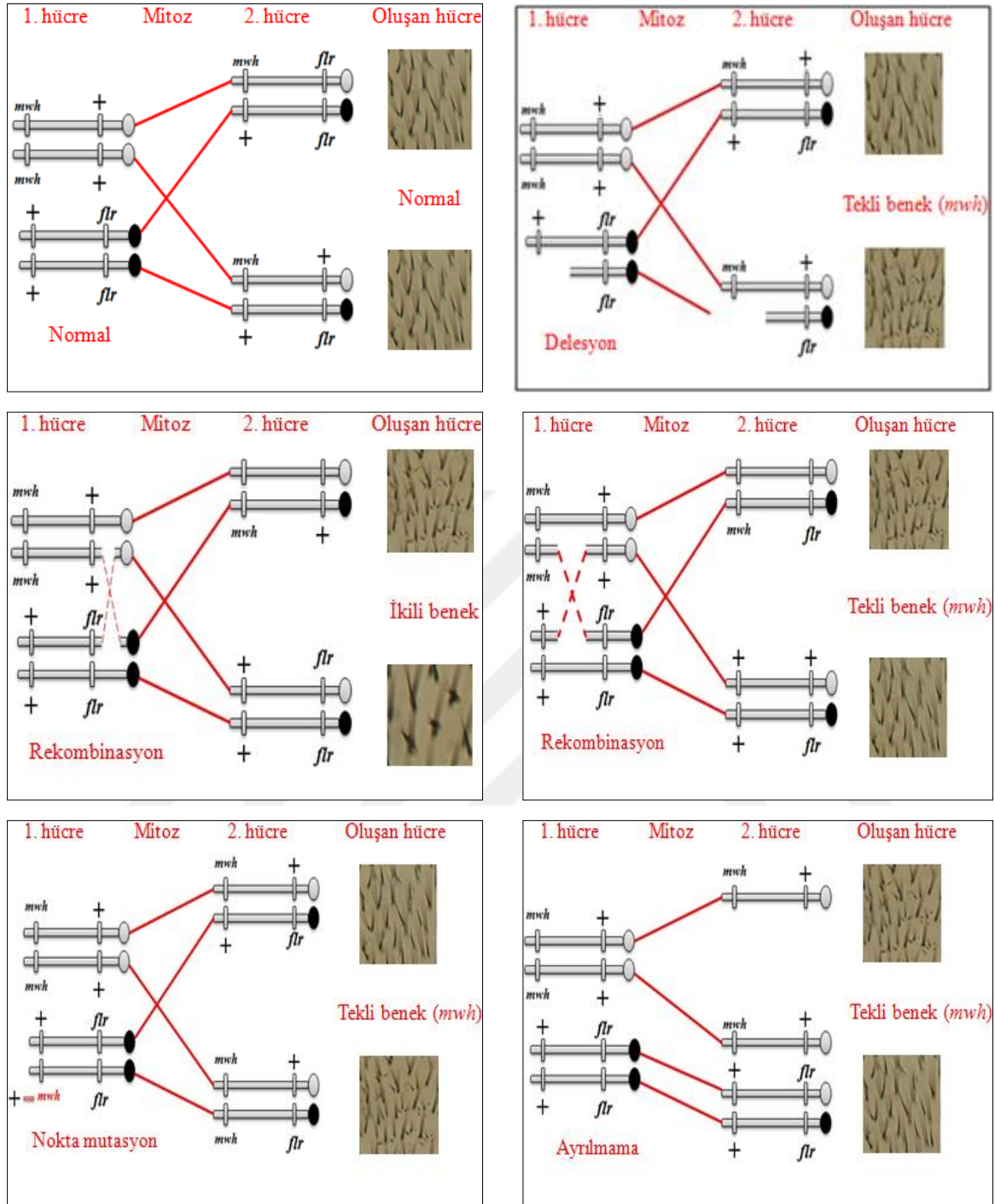
Çok sayıda test olmasına rağmen genotoksisite ve antigenotoksisite çalışmalarında çoğunlukla kullanılan testler arasında *Salmonella thyhimurium* mutant suşlarının kullanıldığı bakteriyel Ames testi, kromozomal aberasyon testi, kardeş kromatid değişimi (SCE) ve mikronükleus (MN) frekanslarının araştırıldığı sitogenetik testler, tek hücre jel elektroforezi (SCGE) testi ile dominant letalite, halkasal X kromozom kaybı, bitişik X kromozomu, resesif letalite ve somatik mutasyon ve rekombinasyon (SMART) testlerini içeren çeşitli *Drosophila* testleri bulunmaktadır [69].

Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) genetik çalışmalarında sıkça kullanılan model organizmalardan *Drosophila melanogaster*'in kullanıldığı testler arasında son yıllarda oldukça popüler olan testlerden biri olup mitotik rekombinasyon ve gen konversiyonu gibi kromozom hatalarının kesin tiplerini, delesyonları ve nokta mutasyonları gibi genetik konuların geniş bir alanda tanınmasına olanak sağlar [70, 71].

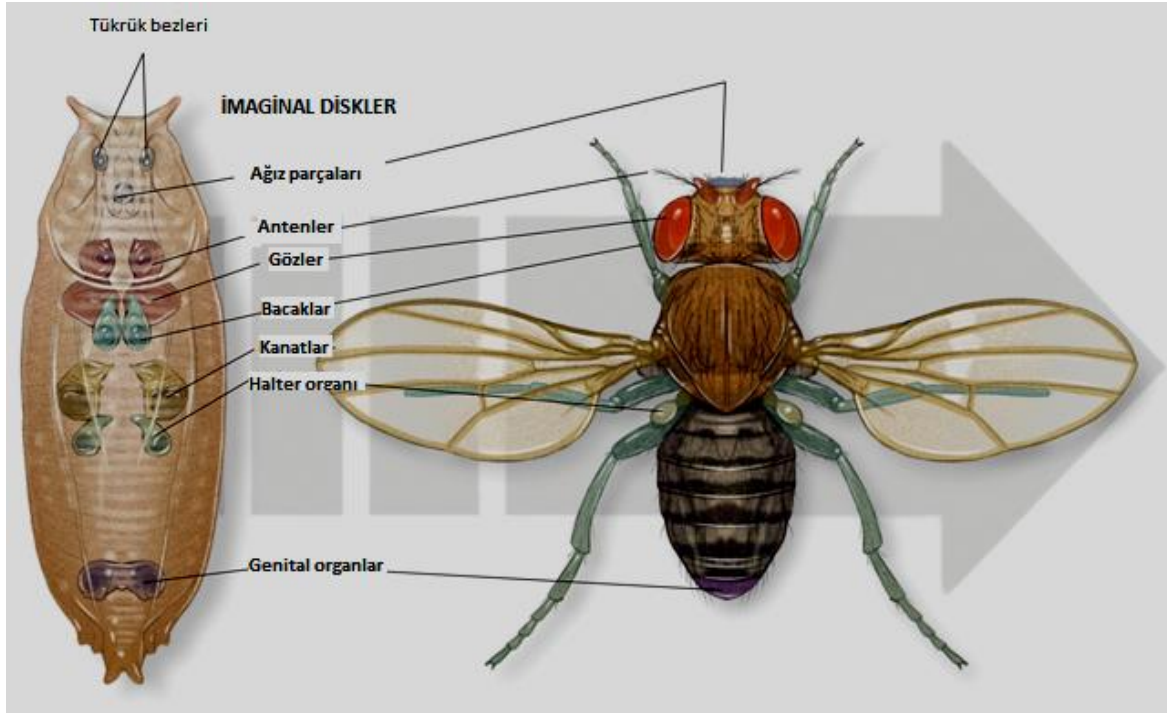
SMART'ın diğer testlere göre hızlı, ekonomik ve güvenilirliğinin kanıtlanmış olması, bir jenerasyonda sonuç elde edilmesi, tek bir sinekte kanat ya da gözlerde çok sayıda hücrenin analizine olanak vermesi ve genotoksik etkinin fenotipte kolaylıkla fark edilmesi gibi avantajları bulunmaktadır [72].

SMART, göz benek testi ve kanat benek testi olmak üzere iki çeşittir. Bunların her ikisi de nokta mutasyon, delesyon, kromozom bozuklukları ve mitotik rekombinasyonu belirlememize olanak verir [73]. Uygun işaret genlerinin heterozigotluğunun kaybını temel olarak geliştirilmiş olan bu testler, larvanın imajinal disklerinde mitotik olarak çoğalan büyük hücre gruplarını hedef alır. Eğer bu imajinal disk hücrelerinin herhangi birinde genetik bir değişiklik olursa, bundan sonraki oğul hücrelere bu değişiklik aktararak mutant hücre grupları (klonları) oluşur. Bu genetik değişiklik fenotipte gözlenebilen bir değişikliğe neden olursa, klonlar ergin sineğin kanatlarında ve gözlerinde mutant hücre benekleri olarak ortaya çıkar. Kimyasallara maruz bırakılan sineklerde indüklenmiş klonların toplam sayısı, uygulanan kimyasalın toplam genotoksik aktivitesi ile ilgili sayısal sonuçlar verirken, klonların tipi, klon oluşumunda rol oynayan mutasyon mekanizmaları ortaya çıkarır [74]. Tekli benekler, nokta mutasyon, delesyon ve iki işaret geni (*mwh* ve *flr³*) arasındaki mitotik rekombinasyonla oluşurken, ikili benekler 3. kromozomun sentromeri ve *flr³* geni arasındaki somatik rekombinasyon sonucu oluşmaktadır (Şekil 2.1).



Şekil 2.1. Somatik mutasyon ve rekombinasyonların oluşum mekanizmaları [75]

Drosophila imajinal disklerinin biyolojik özellikleri, kansere hassas birçok memeli hücresi ile benzerdir. İmajinal diskler ergin sineklerde birçok yapıyı oluşturan özelleşmiş epitel hücre keseleridir. Bu diskler tek hücre tabaka yapısındadır. Larval evrede çoğalarak karakteristik morfolojiye sahip olgun diskleri üretirler ve ergin bireylerde farklılaşırlar (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. *Drosophila melanogaster*'de imajinal diskler [76]

Çoğalmaya ve farklılaşmaya giden özelleşmiş epitel hücreleri diploittir ve memeli hücrelerindeki benzer hücre döngüsüne sahiptirler yani G1, S, G2 ve M safhalarını içerirler. Sinek ve memeli hücre döngüsündeki benzerlik sadece genel organizasyon seviyesi ile sınırlı değildir. Ayrıca moleküler seviyede de korunma vardır. Gelişimsel siklinler (A-, B- ve E- tip) ve onların siklin bağımlı kinaz partnerleri sinek ve insan arasında oldukça korunmuştur [77]. Bu amaçla *Drosophila* biyolojisi kanser araştırmalarında da önemli bir model olmuştur.

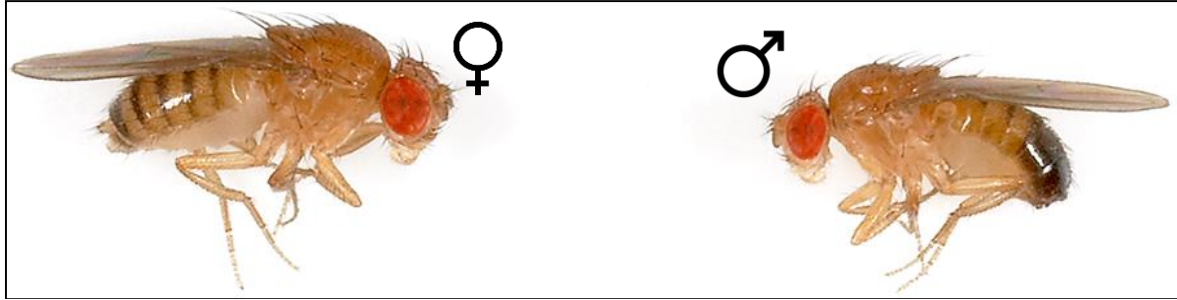
3. MATERYAL ve YÖNTEM

3.1. Materyal

3.1.1. *Drosophila melanogaster* Meigen

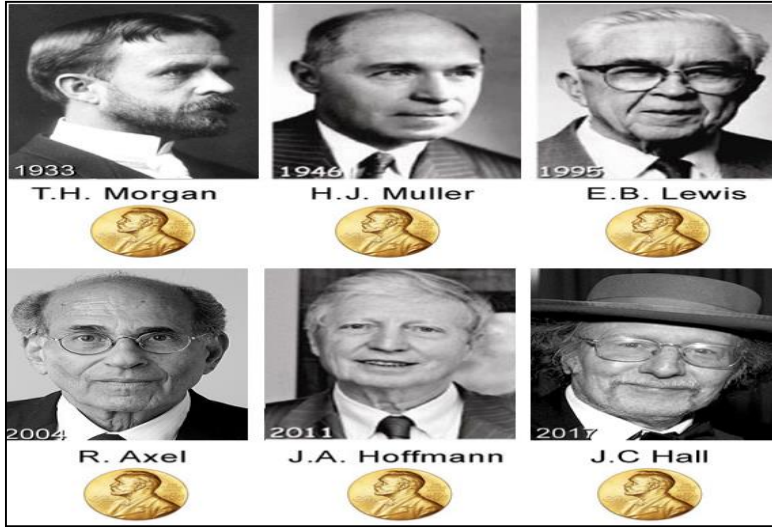
Bu çalışmada iki farklı alkilleyici maddenin oluşturduğu genotoksik etki üzerine, *Iris taochia* bitki ekstraktının antigenotoksik etkinliği halk arasında meyve sineği olarak da bilinen *Drosophila melanogaster* model organizması ile araştırılmıştır.

Daha çok meyve sineği veya sirke sineği olarak bilinen *D. melanogaster* (Resim 3.1), 100 yılı aşkın bir süredir biyolojik araştırmalar için model organizma olarak kullanılmaktadır. *Drosophila*, bugüne kadar biyomedikal bilimlerde kavramsal olarak en iyi anlaşılan hayvan organizması olup aynı zamanda okullarda biyolojinin temel kavramlarını anlatmak için iyi bir öğretim aracı olarak da kullanılmaktadır. Bugüne kadar *Drosophila*'da çığır açan keşifler yapan toplam 10 araştırmacıya “Fizyoloji ya da Tıp” dalında 6 Nobel Ödülü verilmiştir (Resim 3.2) [78].



Resim 3.1. *D.melanogaster* dişi ve erkek bireyleri

Drosophila genom haritasının yayınlanması, Mart 2000'de insan genomundan sadece 11 ay önce gerçekleşmiştir [79]. Bundan sonra yapılan *Drosophila* ve insan genleri arasındaki karşılaştırmalar, bilinen insan hastalığı genlerinin yaklaşık %75'inin meyve sineklerinin genomunda önemli bir eşleşmeye sahip olduklarını ortaya çıkarmıştır [80]. Bu durum insan hastalıklarının gen düzeyinde çalışılabilmesi açısından *Drosophila*'yı önemli bir model organizma haline getirmiştir.

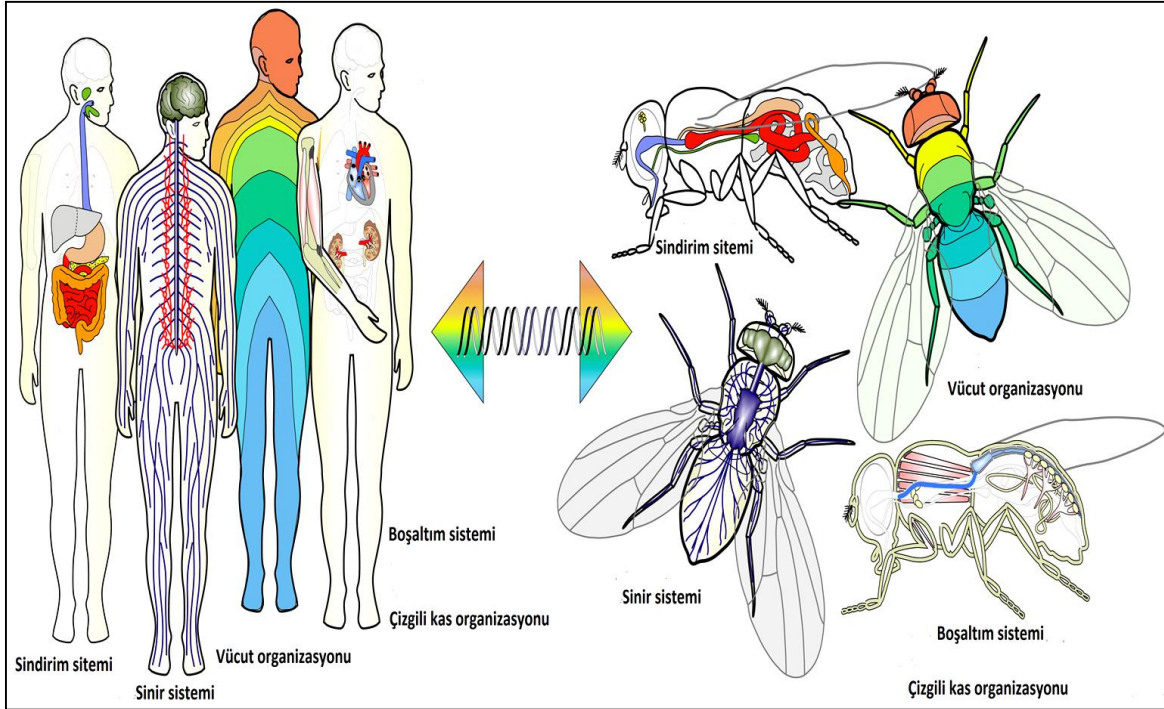


Resim 3.2. Çalışmalarında *Drosophila* kullanarak Nobel ödülü alan bilim insanları [81]

D. melanogaster, DNA onarımı veya hücre bölünmesi gibi ökaryotik hücre fonksiyonlarını incelemek için ideal olan *Saccharomyces cerevisiae* (maya) ve *Dictyostelium discoideum* (bir amip türü) gibi tek hücreli ökaryotik organizmalar arasında bir boşluğu dolduran mükemmel bir ara model canlı olarak hizmet vermektedir. Bu nedenle, organ sistemlerinin oluşumunu veya fonksiyonunu etkileyen hastalıklarda olduğu gibi hücreler arasındaki etkileşimi içeren hastalıkları da incelemek için *D. melanogaster* ideal bir organizma olarak kullanılmaktadır [82].

İnsan organlarının çoğu ile sinek organları arasında oldukça büyük bir eşleşme vardır (Şekil 3.1). Ayrıca iki canlı organizmanın genomunda bulunan ortak genler bu organların gelişimlerini, organizasyonlarını ve fonksiyonlarını benzer şekilde düzenleme eğilimindedir [78].

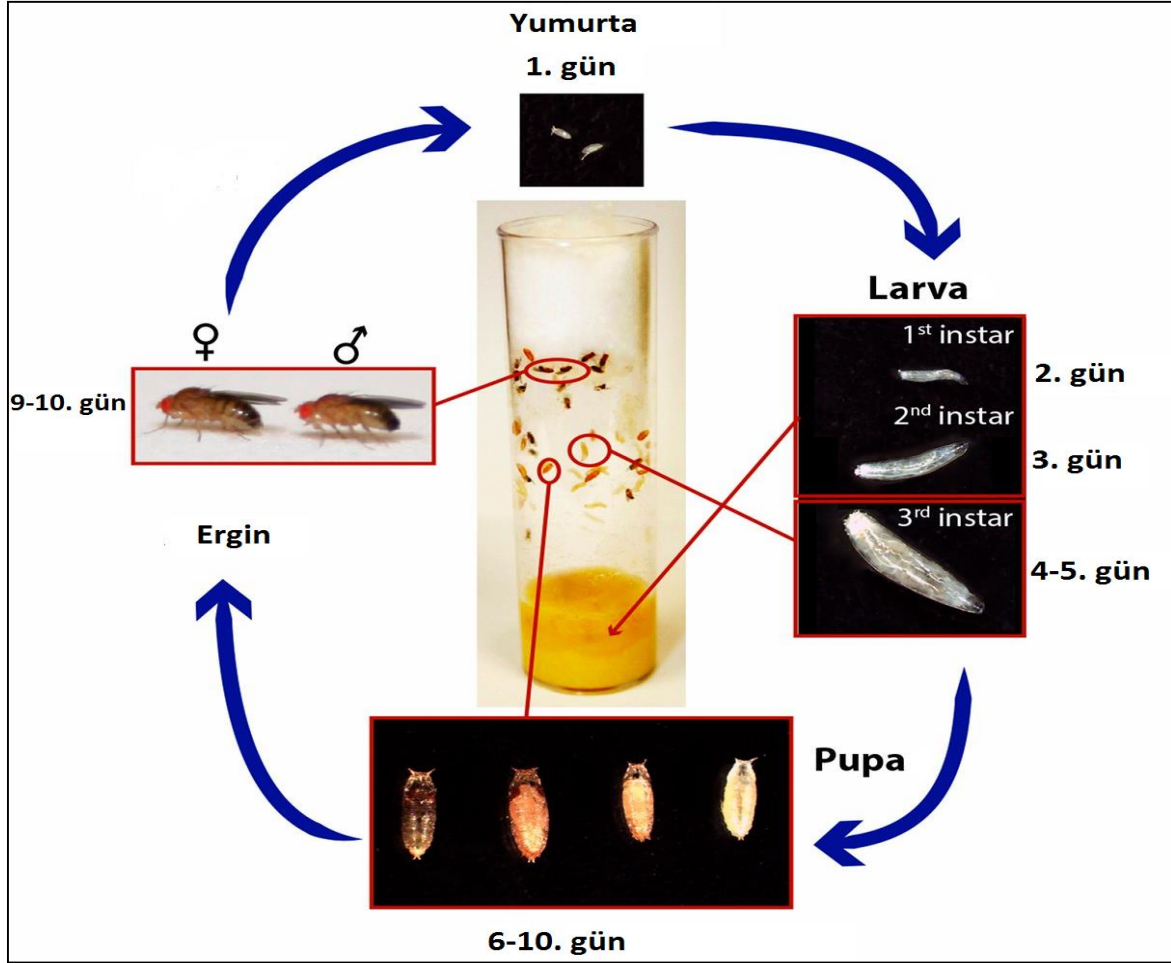
Drosophila'daki çalışmalar, klasik genetik, gelişim biyolojisi, fizyoloji, beslenme, sinir sistemi gelişimi ve fonksiyonu, kök hücre biyolojisi, davranış bilimleri (örneğin öğrenme, uyku, saldırganlık dahil) gibi birçok biyoloji alanındaki kavramsal mekanizmaların oluşturulmasına ve temel mekanizmaların çözülmesine yardımcı olmuştur. Ayrıca kanser ve nörodejeneratif hastalıklar dahil olmak üzere insan hastalıklarının altında yatan mekanizmaları incelemek için de sıklıkla kullanılmaktadır [83].



Şekil 3.1. İnsan ve sinek organizasyonundaki temel benzerlikler [84]

D. melanogaster, yaşamı boyunca holometabol ya da tam başkalaşım şeklinde vücut planında ciddi değişiklikler geçirir (Şekil 3.2). Bu sayede bir yumurtadan (embriyo), larvaya, daha sonra pupa ve nihayet yetişkinliğe kadar ilerleyen her aşamada, çok çeşitli hastalık ve durumları incelemek için benzersiz bir platform sağlamaktadır [85].

Drosophila'nın yaşam döngüsü uygun besiyeri ortamında 25°C'de yaklaşık 10 gün sürer. İlk olarak 12-15 saat sonra küçük, beyaz yumurtalar gözükür. Daha sonra ortaya çıkan 1. evre larvalar besiyerinde açtıkları galerilerde beslenir ve sırasıyla yumurtlamadan 24 ve 48 saat sonra 2. ve 3. evre larvalar gelişir. Larva safhasından sonra yaklaşık 6-10 gün arasında prepupa ve pupa aşamaları gerçekleşir. Son aşama pupadan yetişkin bireylerin çıkmasıdır (Şekil 3.2). Bu ergin bireyler yaklaşık 8 saat içinde çiftleşebilecek olgunluğa ulaşırlar [86].



Şekil 3.2. *D. melanogaster*'in yaşam döngüsü [86]

Çalışmada kullanılan *D. melanogaster* mutant soyları

Bu çalışmada, *D. melanogaster*'in *mwh* ve *flr³* mutant soyları kullanılmıştır. Bu hatlar Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümünden temin edilmiş ve Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Aktivite Laboratuvarında standart Lewis besin ortamında [75] yetiştirilmiştir (Çizelge 3.1). *Drosophila* için ideal yaşama koşullarında ($25 \pm 1^\circ\text{C}$ ve %60 bağıl nem) inkübatörlerde kültüre alınmıştır. Çalışmamızın deneysel kısmında larvalara kimyasalların uygulanmasında ise *Drosophila* hazır besiyeri (Carolina Formula 4-24 Instant Medium) kullanılmıştır.

Normal metabolik aktiviteye sahip bu türlerin genetik yapısı kısaca aşağıdaki gibidir [87].

- *mwh* / *mwh*
- *flr³* / In (3LR)TM3, *BdS*

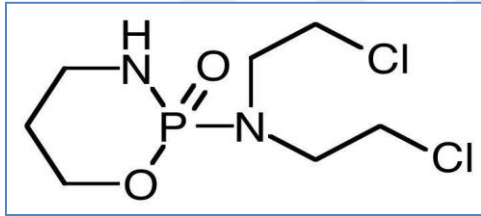
Çizelge 3.1. *Drosophila* Lewis besiyerinin içeriği

MADDE	MADDE MİKTARI
Agar agar	9 g
Toz şeker	60 g
Bira mayası	19 g
Mısır unu	50 g
Propionik asit	3,5 mL
Saf su	565 mL

3.1.2. Çalışmada kullanılan antineoplastik alkilleyici ajanlar

Siklofosfamid (SF):

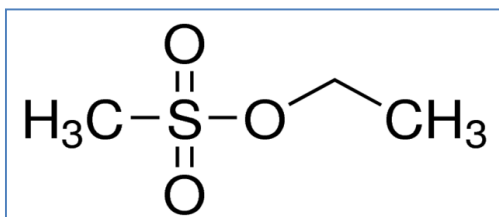
Çalışmamızda kullandığımız Siklofosfamid C-0768-1G koduyla SIGMA firmasından temin edilmiş olup, moleküler formülü $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$ (Şekil 3.3) şeklindedir. Moleküler ağırlığı 261,083 g/mol olan siklofosfamid azotlu hardal türevi alkilleyici bir antineoplastik ajandır.



Şekil 3.3. Siklofosfamid'in moleküler yapısı

Etil metansülfonat (EMS):

Çalışmamızda kullanmış olduğumuz Etil metansülfonat (EMS) M0880 koduyla SIGMA firmasından temin edilmiş olup, moleküler formülü $CH_3SO_3C_2H_5$ (Şekil 3.4) şeklindedir. Moleküler ağırlığı 124,16 g/mol olan Etil metansülfonat alkilleme özelliğine sahip antineoplastik bir ajandır.



Şekil 3.4. Etil metansülfonat'ın moleküler yapısı

3.1.3. *Iris taochia* Woronow Ex Grossh. (Iridaceae)

Iridaceae familyası üyesi bitki türleri genellikle Kuzey Doğu Anadolu'da yayılış gösterir. Çalışmamızda kullandığımız *Iris taochia* Woronow Ex Grossh. bitkisi sadece Tortum (Erzurum) civarında yetişen endemik, rizomlu bir bitki olup uzunluğu yaklaşık 18,5-30 cm civarındadır. Halk arasında “Tortum Süseni” olarak da bilinen *I. taochia* tatlı kokulu ve gösterişli çiçekleri nedeniyle dekoratif bir bitki olarak da kullanılır (Resim 3.3). Bu tür, doğal ekolojik alanın dışında yetiştirilemez [23, 24].



Resim 3.3. *Iris taochia* bitkisinin kurutulmuş, yaş ve toplandığı lokasyona ait görüntüleri

3.2. Yöntem

3.2.1. Bitkinin toplanması ve ekstraktının hazırlanması

Bitki, 2016 Nisan-Haziran aylarında Erzurum ili Tortum ilçesi kırsalından toplanmıştır. Bitkinin tür tespiti Amasya Üniversitesi, Eğitim Fakültesi, Öğretim Üyesi Prof. Dr. Nezahat Kandemir tarafından yapılmıştır.

Toplanan örneklerin toprak üstü kısımları yedi gün oda sıcaklığında kurutulmuş ve daha sonra değirmende toz haline getirilerek analizler için saklanmıştır. Bitkinin kurutma işlemi ve kalan tüm çalışmalar Amasya Üniversitesi Fen-Edebiyat Fakültesinde yapılmıştır. Kurutulup toz haline getirilen örnekten 100 gr tartılarak soxhlet kartuşu içine koyulmuş ve 40°C'de soxhlet aparatlı bir manto ısıtıcıda metanol ile ekstre edilmiştir. Metanol ekstraksiyonu Kotan ve arkadaşlarının yöntemine uygun bir şekilde yapılmıştır [88]. Ekstraksiyon işleminden sonra saf metanolün büyük bir kısmı düşük basınç altında 40°C sıcaklıkta rotary evaporatör yardımıyla uzaklaştırılmıştır (Resim 3.4).



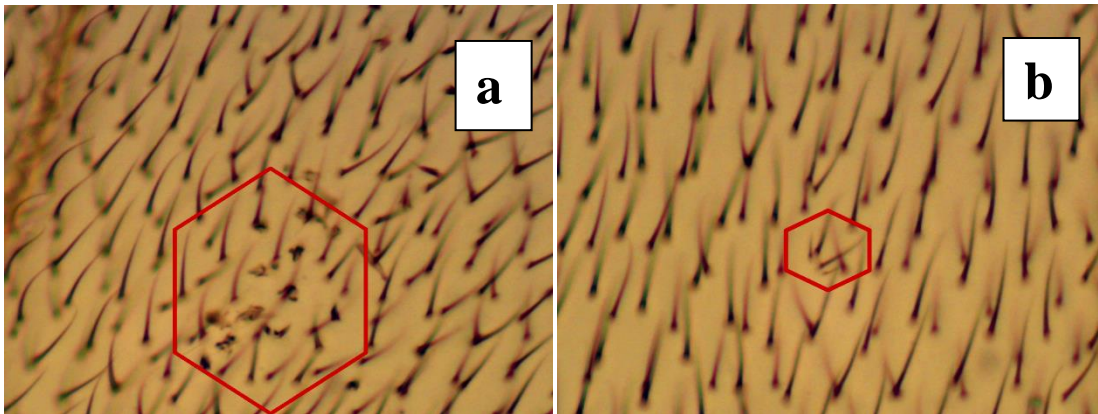
Resim 3.4. Bitki ekstraksiyon düzeneği

3.2.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

D. melanogaster ile yapılan Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) veya diğer adıyla “Drosophila Kanat Benek Testi” temel olarak potansiyel kanserojenleri tanımlamak ve mutasyon mekanizmalarını incelemek için oldukça kullanışlı kısa süreli genotoksikite testlerinden birisidir [89-91].

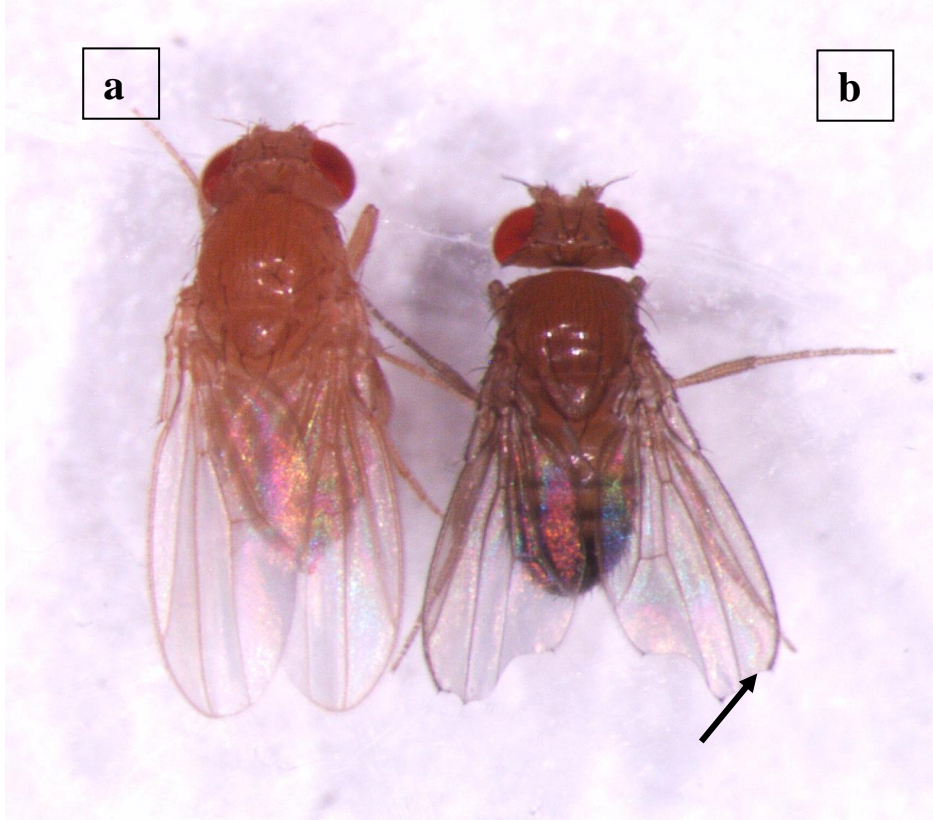
Kanat benek testi, embriyonik gelişim esnasında heterozigotluk kaybından kaynaklanan ve yetişkin sinek kanatlarında fenotipik olarak ifade edilen mutasyonların ve rekombinasyonların tespit edilmesine dayanan bir test sistemidir [70,73]. Bir başka ifadeyle, SMART sineklerin kanatlarında eksprese edilen mutasyonların fenotipleri belirleyen uygun gen markörlerinin (*mwh* ve *flr³*) heterozigote kaybını esas alan bir yöntemdir [92].

Kanat benek testi için fenotipte gözlenebilen iki uygun işaret geni kullanılmaktadır. Bu belirleyici genlerden *flare* (*flr³*, 3-38,8) geni, kanatlardaki normal düz ve uzun kıllar yerine, körelmiş, nokta şeklinde kıl oluşturmaktadır (Resim 3.5.a). *flr³* geni homozigot halde iken embriyonik evrede letal etki göstermektedir. Dolayısıyla ergin bireyler oluşamamaktadır. Hem bireyleri *flr³* geninin embriyonik letal etkisinden korumak, hem de rekombinasyonu baskılamak için dengeleyici *TM3* kromozomu kullanılmaktadır. Diğer bir belirleyici gen olan *mwh* (*multiple wing hair*=çoklu kanat kılları, 3-0,3) geni, kanat kıllarının aynı hücreden üç veya daha fazla sayıda çıkması şeklinde kendini göstermektedir (Resim 3.5.b). [93].



Resim 3.5. Kanatlardaki a) *flare* ve b) *mwh* kıl görüntüsü

Bu çalışmada, ♂♂ *mwh / mwh X flr³/In(3LR) TM3, BdS* ♀♀ (Resim 3.6) şeklinde yapılan çaprazlamalar sonucunda elde edilen trans-heterozigot larvalar (Resim 3.7) kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Ayrıca elde edilen bu larvalara madde uygulaması ve geri kalan tüm işlemler Şekil 3.5’de şematize edilmiştir.

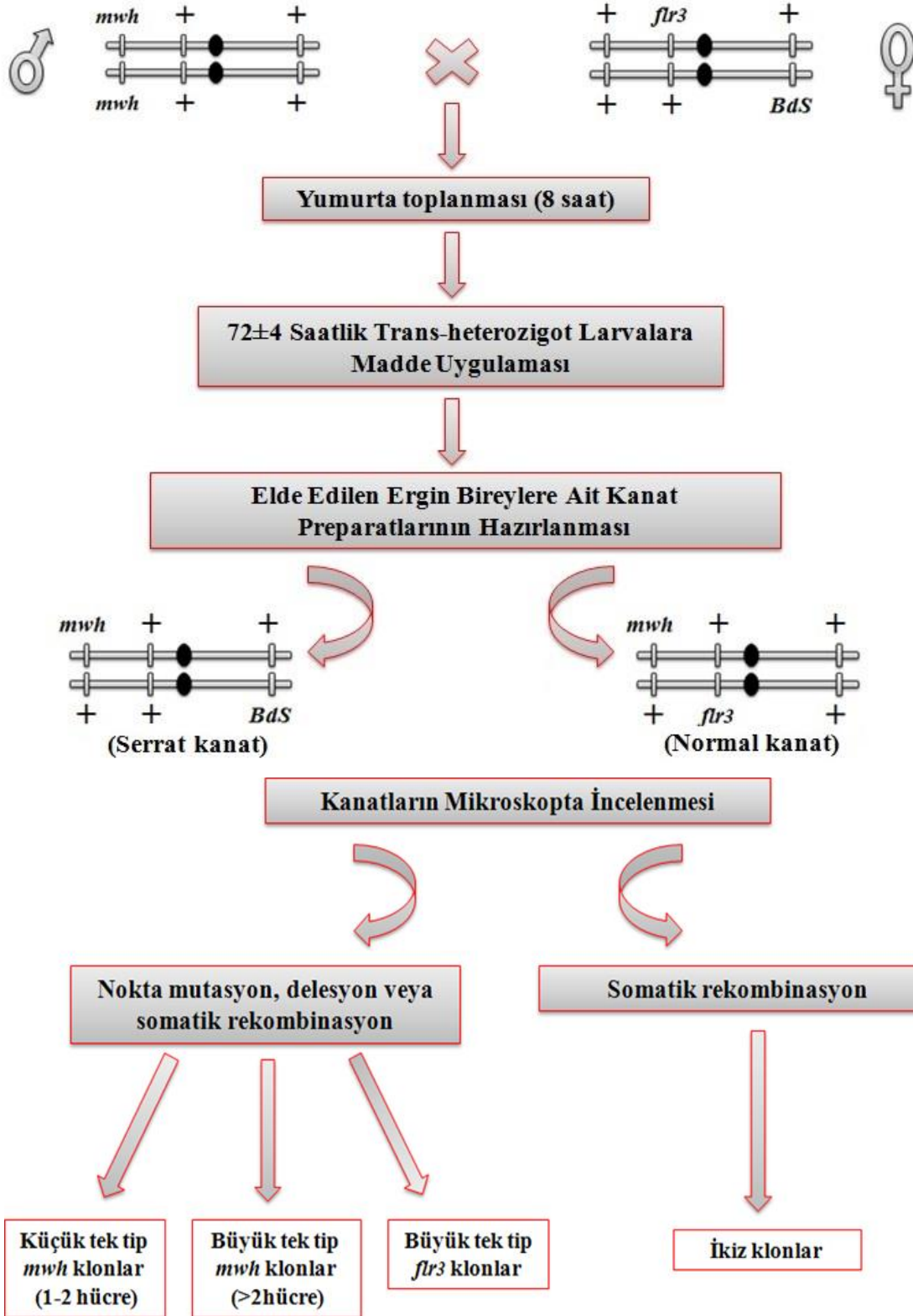


Resim 3.6. Çaprazlama yapılan bireylere ait görüntü; a) Normal kanatlı, b) Serrat kanatlı



Resim 3.7. *Drosophila* trans-heterozigot larvaları

DROSOPHILA KANAT SOMATİK MUTASYON VE REKOMBİNASYON TESTİ



Şekil 3.5. *Drosophila* kanat benek testi (SMART)'nin yapılışı [75]

Çaprazlama için birey seçimi

Çaprazlamada kullanılacak bireylerin elde edilmesi için pupadan yeni çıkmış *flare* dişi bireyler çiftleşmeleri önlemek için 4'er saat aralıklarla virgin iken toplanmıştır. Taze besiyerine aktarılan yeterli sayıdaki virgin *flare* dişi bireyler uygulamaların yapılacağı trans-heterozigot larvaların elde edilebilmesi için başka şişelere, her şişede 40 *mwh* erkek, 40 *flare* dişi olacak şekilde aktarılmıştır. Çiftleşmeleri için yaklaşık 1-2 gün aynı ortamda bırakılan bireyler daha sonra başka şişelere aktarılmış ve trans-heterozigot larvalar 3-4 gün sonra uygulamalar için toplanmıştır.

Çözeltilerin hazırlanması ve deney gruplarına uygulanması

Öncelikle çalışmamızda genotoksik etkinliğini ortadan kaldırmayı ya da azaltmayı planladığımız alkilleyici maddelerin toksik dozları literatürden taranarak belirlenmiş ve sulu çözeltileri bu oranda hazırlanmıştır. Siklofosamid ve Etil metansülfonat için bu oran 1 mM olarak belirlenmiştir. Bu maddelere karşı antigenotoksik etkinliğini araştırdığımız bitki örneği için ise 5 farklı konsantrasyon (10; 5; 2,5; 1,25 ve 0,625 mg/mL) hazırlanmıştır. Belirlenen bu konsantrasyonlarda önce alkilleyiciler tek başına daha sonra bitki ekstraktlarıyla birlikte muamele edilmiştir. Bu şekilde hazırlanan sulu çözeltilerden 5 mL alınarak içerisinde 1,5 g hazır *Drosophila* besini (*Drosophila* Instant Medium) bulunan kültür tüplerine 100'er larva konulmuş ve larvalardan ergine dönüşebilen ergin bireyler toplanmıştır. Her bir deney üçer kez tekrar edilmiştir. Ayrıca negatif (distile su) kontrol grubuna ait deney setleri de hazırlanmıştır.

Kanat preparatlarının hazırlanması ve incelenmesi

Tüm uygulama gruplarından erginleşerek toplanan bireyler eterle bayıltılarak toplanmış ve kanat preparatları hazırlanmak üzere %70'lik etil alkole konularak +4°C'de buzdolabında saklanmıştır. Daha sonra bu bireyler kanat morfolojilerine göre normal kanatlı (trans-heterozigot *mwh/flr³*) ve serrat kanatlı (dengelenmiş heterozigot *mwh/TM3, BdS*) olarak iki gruba ayrılmıştır (Resim 3.8). Normal (*mwh/flr³*) kanatlar, mutasyon ve rekombinasyonları beraber barındırabilirken serrat (*mwh/TM3, BdS*) kanatlar, *TM3* dengeleyici kromozomunun rekombinasyonu baskılaması nedeniyle sadece mutasyon sonucu oluşan klonları barındırmaktadır [94].



Resim 3.8. *Drosophila* kanat tipleri a) Normal kanat b) Serrat kanat

Kanat preparatlarını hazırlamak için kanatları mekanik darbe ve yırtılmalardan koruyan taze “Faure solüsyonu” kullanılmıştır (Çizelge 3.2). Çukur lam üzerine Faure solüsyonundan bir iki damla konulduktan sonra her bir sinek buraya aktarılmıştır. Binoküler mikroskop altında ince uçlu pens ile dikkatlice kanatlar vücuda bağlandığı yerden tutularak koparılmış ve başka bir düz lam üzerine uygun aralıklarla (48 adet) yerleştirilmiştir. Preparatlar oda sıcaklığında kuruduktan sonra lamlara bir iki damla entellan damlatılarak üzerleri lamel (24x60mm) ile kapatılmış ve sabit preparatlar hazırlanmıştır. Daha sonra bu preparatlar 10x40 büyütmede ışık mikroskopunda incelenmiştir. Kanatların hem ön hem de arka yüzeyleri ayrı ayrı incelenmiştir. Kanat yüzeyindeki her bir sektör ayrı ayrı taranmış *mwh* ve/veya *flr³* mutant klonlar sayılarak kayıtları tutulmuştur.

Çizelge 3.2. Faure solüsyonunun içeriği

MADDE	MADDE MİKTARI
Gam arabik	30 g
Gliserol	20 mL
Kloral hidrat	50 g
Distile su	50 mL

Klon indüksiyon frekansı ve inhibisyon yüzdesinin hesaplanması

Kanatlarda meydana gelen genotoksik etkinin hesaplanmasında klon indüksiyon frekansı denen oran kullanılmıştır. Bu oran aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır [95];

$$f = \frac{n}{NC} \times 10^5$$

Bu formüle göre; “*f*” *mwh* klonların indüksiyon frekansını, “*n*” gözlenen toplam *mwh* klon sayısını, “*N*” analiz edilen kanat sayısını ve “*C*” sabit bir değer olan bir kanat üzerindeki incelenebilecek hücre sayısını (24 400) göstermektedir [96].

Bitki ekstraktının antigenotoksik etkinliği değerlendirilirken ise inhibisyon yüzdeleri dikkate alınmıştır. Bu oran aşağıdaki formülle hesaplanmaktadır [97];

$$\% \text{ İnhibisyon} = \frac{a - b}{a} \times 100$$

Bu formülde “*a*” genotoksik madde (alkilleyici maddeler) uygulamasındaki toplam klon frekansını, “*b*” genotoksik madde ile antigenotoksik etkisi araştırılan *Iris taochia* ekstraktının birlikte uygulamasındaki toplam klon frekansını göstermektedir.

SMART ile elde edilen sonuçların istatistiksel analizi

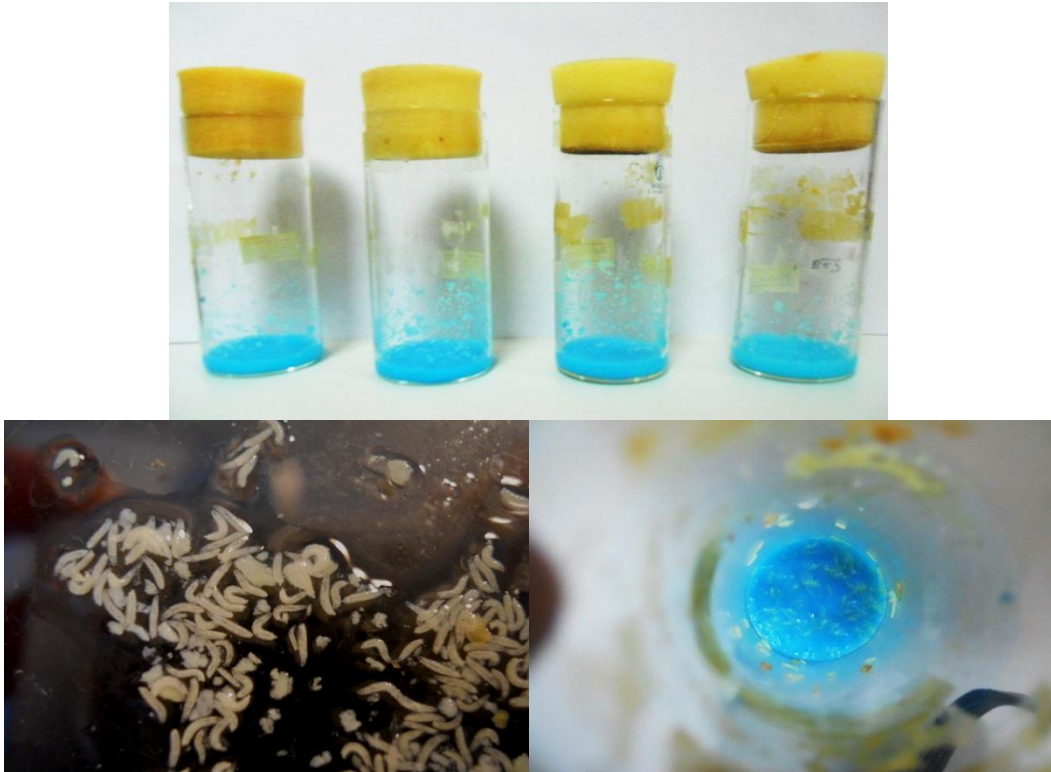
SMART ile elde edilen sonuçların istatistiksel analizi bu yöntem için tasarlanmış bilgisayar programı (MICROSTA) ile yapılmıştır [98].

4. BULGULAR

Bu çalışmada *D. melanogaster* somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) kullanılarak iki farklı alkilleyici maddenin (Siklofosfamid = SF ve Etil metansülfonat = EMS) genotoksik ve mutajenik etkilerine karşı *Iris taochia* topraküstü metanol ekstresinin antigenotoksik ve antimutajenik etkileri araştırılmış ve elde edilen veriler istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

4.1. Larval Mortalite Oranları

SMART için öncelikle iyileştirici etkinliği araştırılan *Iris taochia* topraküstü metanol bitki ekstresinin *D. melanogaster* larvaları üzerinde toksik etkilerinin olup olmadığı araştırılmıştır. Bu amaçla trans-heterozigot larvalar farklı konsantrasyonlarda (10; 5; 2,5; 1,25 ve 0,625 mg/mL) *I. taochia* ekstreleri ile kronik olarak beslenmiştir (Resim 4.1). Yaptığımız bu ön çalışma neticesinde *I. taochia* topraküstü metanol ekstrelerinin toksik etki göstermediği ve hayatta kalış oranlarını düşürmediği belirlenmiştir (Çizelge 4.1). En yüksek *I. taochia* konsantrasyonunda (10 mg/mL) larval mortalite oranının kontrol grubu (distile su) ile aynı olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.1).



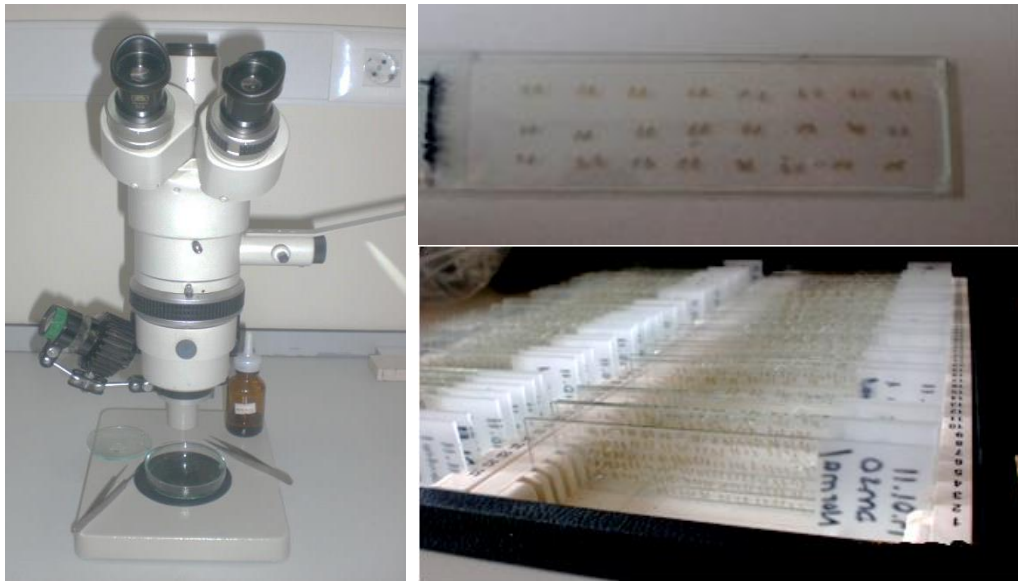
Resim 4.1. Trans-heterozigot larvalar ve uygulama grupları

Çizelge 4.1. *Iris taochia* topraküstü metanol ekstresi ile beslenen trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları

Uygulama Grupları	Konsantrasyon (mg/mL)	Larva Sayısı	Mortalite Oranı (%)	Hayatta Kalış Oranı (%)
Kontrol (Distile Su)	0	200	4	96
<i>Iris taochia</i>	0,625	100	3	97
	1,25	100	3	97
	2,5	100	5	95
	5	100	2	98
	10	100	4	96

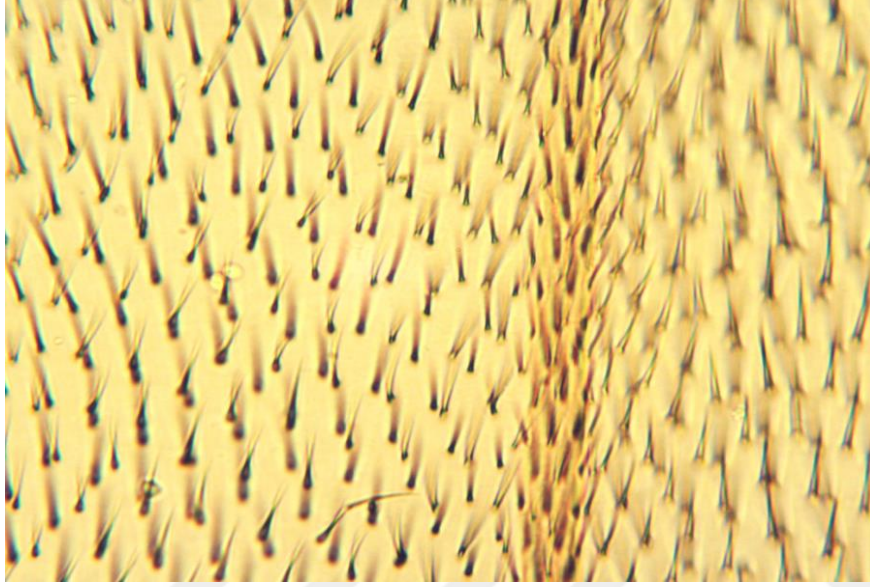
4.2. SMART Sonucu Elde Edilen Bulgular

Yapılan ön testler ve literatür taraması sonucunda *Iris taochia* topraküstü metanol bitki ekstresinin uygulama dozları 10; 5; 2,5; 1,25 ve 0,625 mg/mL olarak belirlenmişken Siklofosamid=SF ve Etil metansülfonat=EMS alkilleyici maddelerinin uygulama dozları 1mM olarak tespit edilmiştir. Bundan sonra gerçekleştirilen tüm uygulamalar bu dozlara göre yapılmıştır. İki farklı alkilleyici maddenin ve çeşitli konsantrasyonlardaki bitki ekstresinin ayrı ayrı ve birlikte trans-heterozigot larvalara uygulanması sonucunda elde edilen ergin bireylerden normal (*mwh/flr³*) ve serrat kanat (*mwh/TM3*) fenotiplerine ayrılmış, kanat preparatları hazırlanmış ve mikroskop altında incelenmiştir (Resim 4.2).

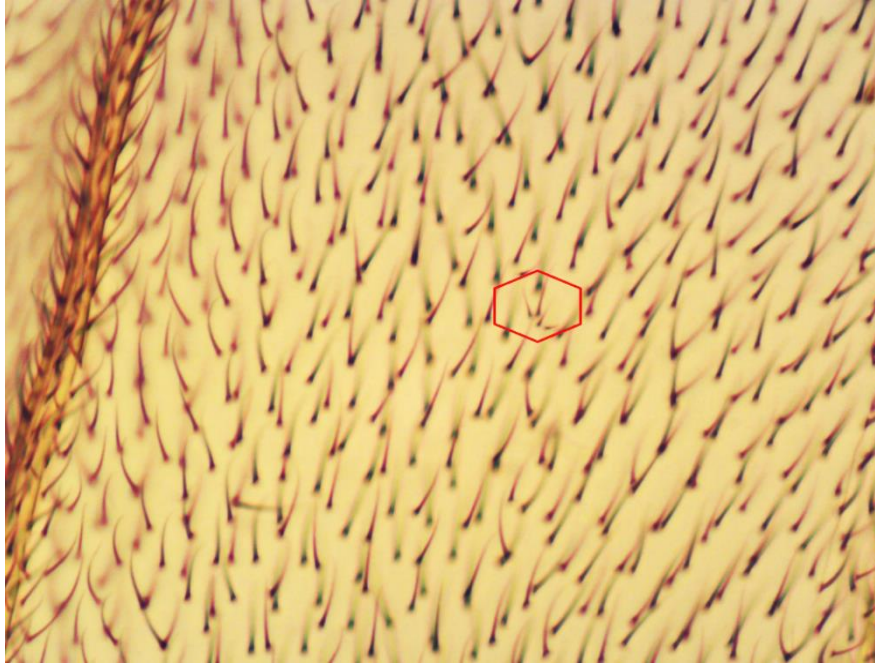


Resim 4.2. Kanat preparatlarının hazırlanışı

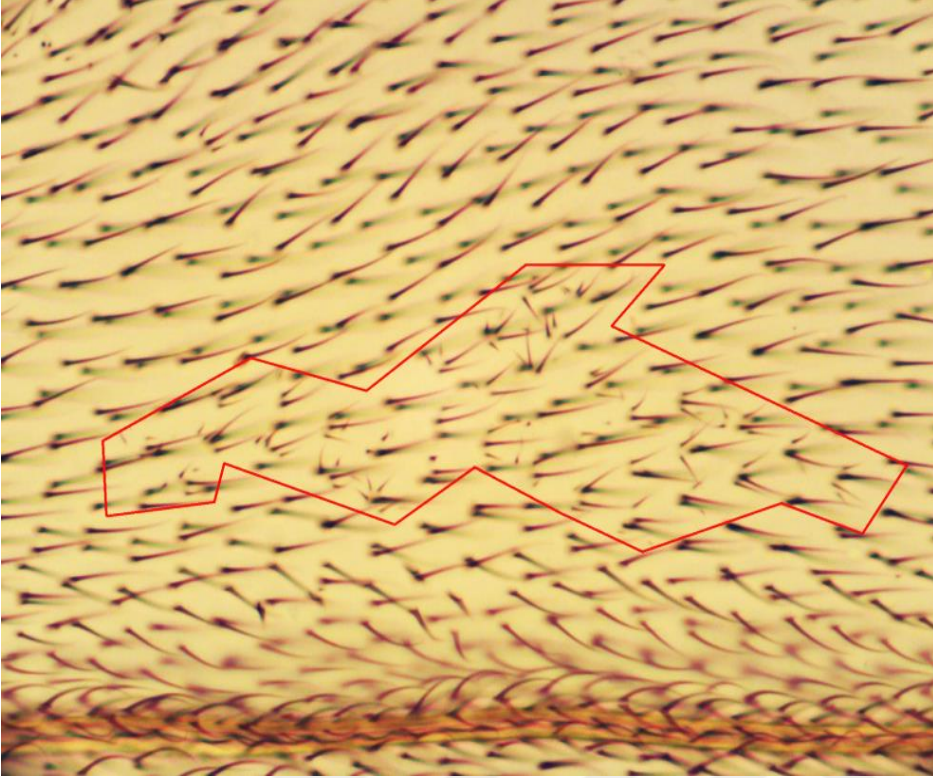
Hazırlanan kanat preparatları incelenirken gözlenen kanat benek tipleri özelliklerine göre ayrılarak sayılmış ve distile su negatif kontrol grubundan elde edilen sonuçlarla uygulama gruplarından elde edilen sonuçlar karşılaştırılarak istatistiksel veriler doğrultusunda tablolar oluşturulmuştur. Ayrıca gözlemlenen tüm kanat benek tiplerine ait fotoğraflar çekilmiştir (Resim 4.3-7).



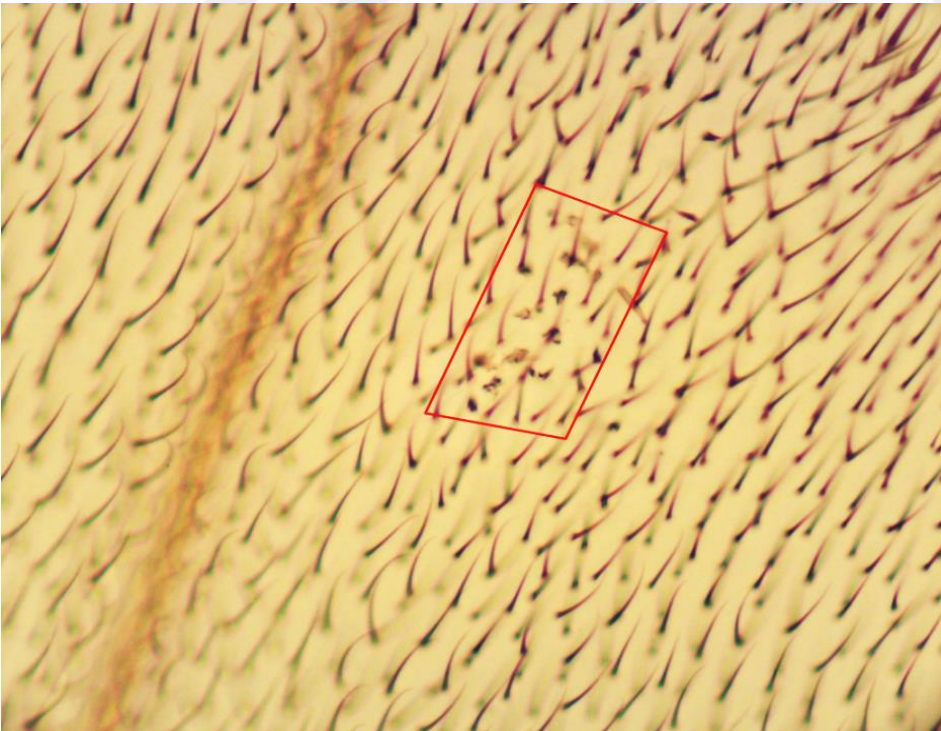
Resim 4.3. Normal kıllara sahip kanat görüntüsü (400X)



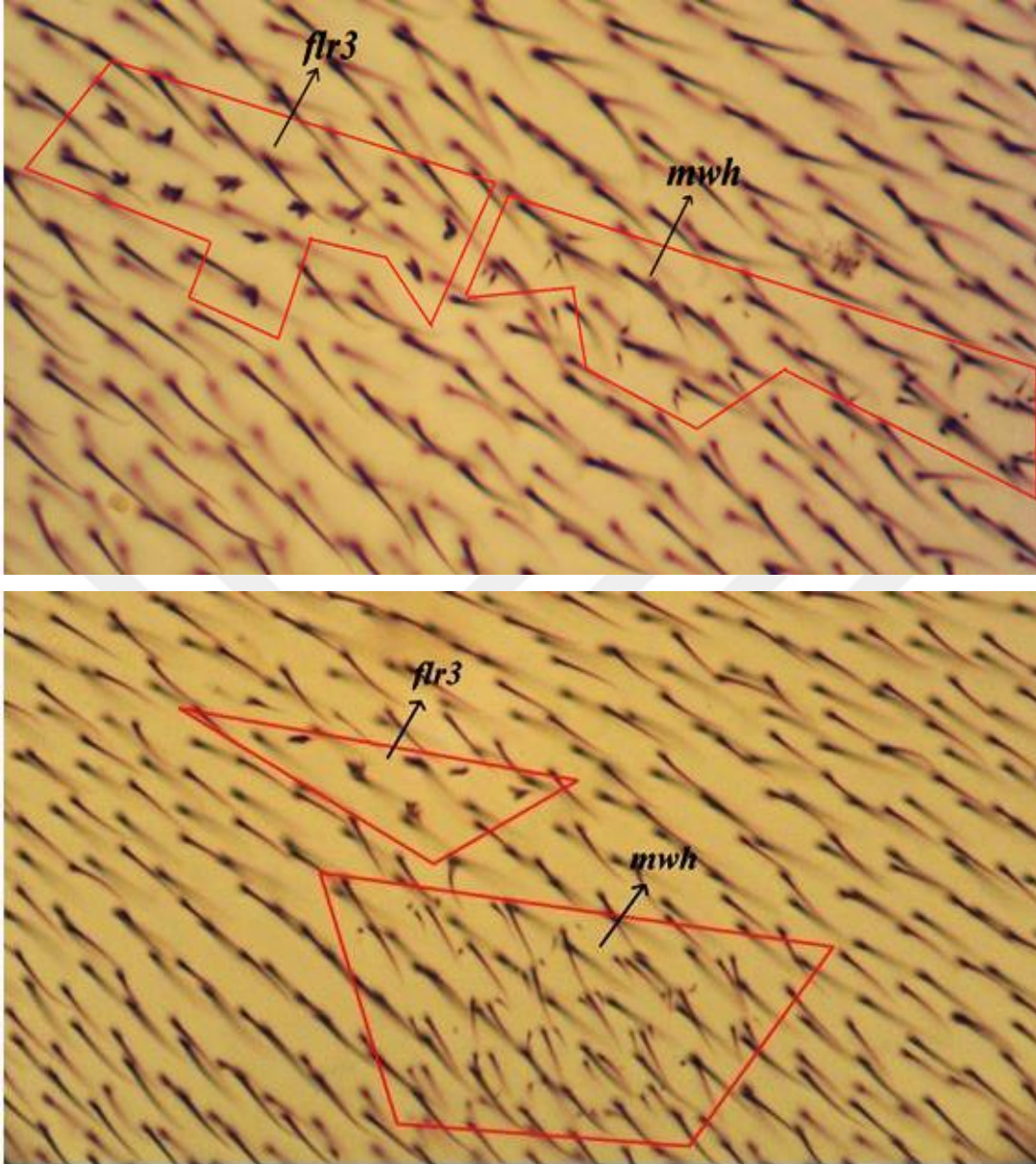
Resim 4.4. Küçük tekli *mwh* beneğe sahip kanat görüntüsü (400X)



Resim 4.5. Büyük tekli *mwh* beneğe sahip kanat görüntüsü (400X)



Resim 4.6. Büyük tekli *flr³* beneğe sahip kanat görüntüsü (400X)



Resim 4.7. İkiz beneğe ($mwh+flr^3$) sahip kanat görüntüleri (400X)

4.2.1. Etil metansülfonat (EMS) uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları

Daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan konsantrasyonlar doğrultusunda çalışmamızda kullanılacak Etil metansülfonat (EMS) dozu 1mM olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyon trans-heterozigot larvalarda imajinal diskleri etkileyip mutasyon oluşturmak için yeterli bir genotoksik doz olmasıyla birlikte ile inceleme yapabilmek için yeterli sayıda canlı birey elde edilebilecek bir orandır.

1mM EMS uygulanan grupların SMART ile elde edilen kanat preparatları incelendiğinde tüm kanat benek ya da klon tiplerinde distile su negatif kontrol grubuna oranla önemli

artışların olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.2). Elde edilen rakamsal veriler incelendiğinde; normal kanat preparatlarında küçük tek tip benek frekansı 0,31, büyük tek tip benek frekansı 0,05, ikiz benek frekansı 0,03, toplam *mwh* benek frekansı 0,38 ve toplam benek frekansı 0,39 olarak bulunurken bu oranların 1mM EMS uygulamasından elde edilen preparatlarda sırasıyla 1,96; 1,31; 0,36; 3,41 ve 3,64 olarak oldukça yüksek oranlarda artış gösterdiği belirlenmiştir (Çizelge 4.2).

Serrat kanatlardan oluşmuş preparatlar incelendiğinde ise bu oranların distile su kontrol grubunda 0,24; 0,03; 0,26 ve 0,26 olarak bulunurken EMS uygulanan gruplarda ise küçük tek tip, büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam benek frekanslarının sırasıyla 1,68; 1,10; 2,78 ve 2,78 olduğu gözlenmiştir. Tüm uygulama gruplarında gözlemlenen bu artışların istatistiksel açıdan da önemli/anamlı (+) olduğu bulunmuştur ($p < 0,05$). Serrat kanatlı bireylerde dengeleyici *TM3* kromozomunun varlığından dolayı *flr³* benekler gerçekleşmediğinden ikiz benekler oluşmamıştır (Çizelge 4.2).

Tüm tespit edilen mutasyon frekanslarından hesaplanan klon indüksiyon frekansı (KİF) oranlarına bakıldığında normal kanat fenotipinde kontrol grubunda bu değer 1,54'den EMS uygulanan grupta 13,98'e, serrat kanatlı bireylerde ise 1,08'den 11,37'ye kadar yükseldiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.2).

EMS uygulama gruplarından elde edilen tüm bu veriler ve istatistiksel hesaplamalardan Etil metansülfonat alkilleyici maddesinin *D. melanogaster* larvaları üzerinde oldukça güçlü bir genotoksik etkiye sahip olduğu ve bu tür çalışmalarda pozitif kontrol grubu olarak kullanılabileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.2. EMS uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri

Uygulama Grupları	Kanat Sayısı (N)	Küçük Tekli Benek (1-2 benek) (m=2)			Büyük Tekli Benek (>2 benek) (m=5)			İkiz Benek (m=5)			Toplam mwh benek (m=2)			Toplam benek (m=2)			KİF (10 ⁵ hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
NORMAL KANAT (mwh/flr³)																	
Kontrol (Distile su)	80	25	0,31		4	0,05		2	0,03		30	0,38		31	0,39		1,54
EMS (1mM)	80	157	1,96	+	105	1,31	+	29	0,36	+	273	3,41	+	291	3,64	+	13,98
SERRAT KANAT (mwh/TM3)																	
Kontrol (Distile su)	80	19	0,24		2	0,03		*			21	0,26		21	0,26		1,08
EMS (1mM)	80	134	1,68	+	88	1,10	+				222	2,78	+	222	2,78	+	11,37
EMS: Etil metansülfonat; No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi [98], +: pozitif, -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı; *: TM3 dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$																	

4.2.2. Siklofosfamid (SF) uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları

Daha önce yapılan çalışmalarda kullanılan konsantrasyonlar doğrultusunda çalışmamızda kullanılacak Siklofosfamid (SF) dozu 1mM olarak belirlenmiştir. Bu konsantrasyon trans-heterozigot larvalarda imajinal diskleri etkileyip mutasyon oluşturmak için yeterli bir genotoksik doz olmasıyla birlikte inceleme yapabilmek için yeterli sayıda canlı birey elde edilebilecek bir konsantrasyondur.

1mM SF uygulanan grupların SMART ile elde edilen kanat preparatları incelendiğinde tüm kanat benek ya da klon tiplerinde distile su negatif kontrol grubuna oranla EMS uygulama grubunda olduğu gibi önemli oranda artışların olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.3). Elde edilen veriler incelendiğinde; kontrol grubunun normal kanat preparatlarında küçük tek tip benek frekansı 0,31, büyük tek tip benek frekansı 0,05, ikiz benek frekansı 0,03, toplam *mwh* benek frekansı 0,38 ve toplam benek frekansı 0,39 olarak bulunurken bu oranların 1mM SF uygulamasından elde edilen normal kanat preparatlarında sırasıyla 2,48; 0,67; 0,15; 2,93 ve 3,29 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

Serrat kanatlı bireylerden elde edilen preparatlar incelendiğinde ise bu oranların distile su kontrol grubunda 0,24; 0,03; 0,26 ve 0,26 iken 1 mM SF uygulanan gruplarda ise küçük tek tip, büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam benek frekanslarının sırasıyla 1,76; 0,40; 2,16 ve 2,16 olduğu gözlenmiştir. Tüm uygulama gruplarında gözlemlenen bu artışların istatistiksel açıdan da önemli/anlamlı (+) olduğu görülmüştür ($p < 0,05$) (Çizelge 4.3).

Klon indüksiyon frekansı (KİF) oranlarına bakıldığında ise normal kanat fenotipinde kontrol grubunda bu değer 1,54'den, SF uygulama grubunda 11,98'e, serrat kanatlı bireylerde ise 1,08'den 8,86'ya çıktığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.3).

SF uygulama gruplarından elde edilen tüm bu veriler ve istatistiksel hesaplamalardan Etil metansülfonat'da olduğu gibi Siklofosfamid alkilleyici ajanının da *D. melanogaster* larvaları üzerinde oldukça güçlü bir genotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

Çizelge 4.3. Siklofosfamid uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri

Uygulama Grupları	Kanat Sayısı (N)	Küçük Tekli Benek (1-2 benek) (m=2)			Büyük Tekli Benek (>2 benek) (m=5)			İkiz Benek (m=5)			Toplam mwh benek (m=2)			Toplam benek (m=2)			KİF (10 ⁵ hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
NORMAL KANAT (mwh/flr³)																	
Kontrol (Distile su)	80	25	0,31		4	0,05		2	0,03		30	0,38		31	0,39		1,54
SF (1 mM)	80	198	2,48	+	53	0,67	+	12	0,15	+	234	2,93	+	263	3,29	+	11,98
SERRAT KANAT (mwh/TM3)																	
Kontrol (Distile su)	80	19	0,24		2	0,03		*			21	0,26		21	0,26		1,08
SF (1mM)	80	141	1,76	+	32	0,40	+				173	2,16	+	173	2,16	+	8,86
SF: Siklofosfamid; No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi [98], +: pozitif, -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı; *: TM3 dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$																	

4.2.3. *Iris taochia* uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları

Antigenotoksik etkisini araştırdığımız *Iris taochia* topraküstü metanol ekstraktlarının belirlenen dozlarının öncelikle *D. melanogaster* kanatları üzerinde herhangi bir toksik etkisinin olup olmadığına bakılmıştır. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda (10; 5; 2,5; 1,25 ve 0,625 mg/mL) *I. taochia* ekstraktı ile distile su kontrol grubu sonuçları istatistiksel açıdan karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilerden *I. taochia* uygulanan hiçbir grupta kanat benek sayılarında artış olmayıp genotoksik veya mutajenik bir etkinin oluşmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4.4). Aksine tüm uygulama gruplarında negatif kontrol grubundan daha iyi sonuçların çıktığı tespit edilmiştir. Sonuçlar istatistiksel açıdan incelendiğinde sayısal olarak anlamlı düşüşler negatif (-) olarak değerlendirilirken anlamsız düşüşler ise önemsiz (i) olarak değerlendirilmiştir ($p>0,05$).

Bu sonuçlardan örneğin kontrol grubuna ait toplam benek sayılarını frekans değerleri normal kanatta 0,39, serrat kanatta 0,26 iken aynı değerler *I. taochia* uygulama gruplarında konsantrasyon artışına bağlı olarak sırasıyla normal kanatta 0,21; 0,21; 0,20; 0,16 ve 0,23 serrat kanatta ise 0,18; 0,16; 0,16; 0,10 ve 0,18 şeklinde gerçekleşmiştir. Son uygulama grubu olan 10 mg/mL'lik *I. taochia* grubunda küçük de olsa benek sayılarında artışlar gözlenirken bu oranlar gene de negatif kontrol grubunun altında kalmıştır. Ayrıca Klon İndüksiyon Frekansı (KİF) değerlerine bakıldığında da; kontrol grubunda 1,54 olan Klon değeri *I. taochia* uygulama gruplarında sırasıyla normal kanat fenotipinde 0,77; 0,72; 0,72; 0,61 ve 0,92 şeklinde oluşmuşken bu oranlar serrat kanat fenotipinde 0,71; 0,67; 0,67; 0,41 ve 0,71 olarak hesaplanmıştır.

Elde edilen tüm bu verilerden *Iris taochia* topraküstü metanol ekstraktlarının bu çalışmanın amacına uygun olarak antigenotoksik etkinlikleri araştırılabilinecek özellikte olduğu sonucuna ulaşılmıştır.

Çizelge 4.4. *Iris taochia* uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri

Uygulama Grupları (mg/mL)	Kanat sayısı (N)	Küçük Tekli Benek (1-2 benek) (m=2)			Büyük Tekli Benek (>2 benek) (m=5)			İkiz Benek (m=5)			Toplam <i>mwh</i> benek (m=2)			Toplam benek (m=2)			KİF (10 ⁵ hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
NORMAL KANAT (<i>mwh/flr</i>³)																	
Distile su	80	25	0,31	-	4	0,05	-	2	0,03	-	30	0,38	-	31	0,39	-	1,54
<i>I. taochia</i> (0,625)	80	13	0,16	-	4	0,05	i	0	0,00	-	15	0,19	-	17	0,21	-	0,77
<i>I. taochia</i> (1,25)	80	13	0,16	-	2	0,03	-	1	0,01	-	14	0,18	-	16	0,20	-	0,72
<i>I. taochia</i> (2,5)	80	11	0,14	-	3	0,04	-	2	0,03	i	14	0,18	-	16	0,20	-	0,72
<i>I. taochia</i> (5)	80	11	0,14	-	1	0,01	-	1	0,01	-	12	0,15	-	13	0,16	-	0,61
<i>I. taochia</i> (10)	80	12	0,15	-	4	0,05	i	2	0,03	i	14	0,18	-	18	0,23	-	0,92
SERRAT KANAT (<i>mwh/TM3</i>)																	
Distile su	80	19	0,24	-	2	0,03	-	*			21	0,26	-	21	0,26	-	1,08
<i>I. taochia</i> (0,625)	80	12	0,15	-	2	0,03	i				14	0,18	-	14	0,18	-	0,71
<i>I. taochia</i> (1,25)	80	10	0,13	-	3	0,04	i				13	0,16	-	13	0,16	-	0,67
<i>I. taochia</i> (2,5)	80	11	0,14	-	2	0,03	i				13	0,16	-	13	0,16	-	0,67
<i>I. taochia</i> (5)	80	8	0,10	-	0	0,00	-				8	0,10	-	8	0,10	-	0,41
<i>I. taochia</i> (10)	80	13	0,16	-	1	0,01	-				14	0,18	-	14	0,18	-	0,71
EMS: Etil metansülfonat, No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi [98], +: pozitif, -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı; *: <i>TM3</i> dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$																	

4.2.4. EMS ile *I. taochia*'nın birlikte uygulanması sonucu elde edilen SMART bulguları

Genotoksik etkinliğini tespit ettiğimiz Etil metansülfonat (EMS)'in *Iris taochia* topraküstü metanol ekstraktları ile beraber muamelesinin yapıldığı çalışmamızın bu aşamasında elde ettiğimiz veriler tek başına 1mM'lık EMS uygulaması ile elde edilen verilerle istatistiksel açıdan karşılaştırılmıştır. Çizelge 4.5 incelendiğinde öncelikle tüm birlikte yapılan uygulama gruplarında (EMS+IT) "+" olan sonuçların "--" yöne doğru düşüş gösterdiği görülmektedir. Bu düşüşlerin artan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak tüm benek tiplerinde sayısal olarak anlamlı olduğu istatistiksel olarak da belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.5).

Sadece 1 mM EMS uygulanmış gruplarda normal kanat fenotipli bireylerde küçük tek tip, büyük tek tip, ikiz, toplam *mwh* ve toplam benek sayılarının frekansları sırasıyla 1,96; 1,31; 0,36; 3,41 ve 3,64 iken; EMS+IT uygulama gruplarında ise bu oranların özellikle 1 mM EMS+5 mg/mL IT'lik uygulama grubunda sırasıyla 0,70; 0,49; 0,14; 1,11 ve 1,33 değerlerine kadar düştüğü belirlenmiştir. Bu konsantrasyondan sonraki en yüksek konsantrasyon olan 10 mg/mL IT'lik uygulama grubunda ise düşüşün azaldığı hatta bazı benek sayılarında artışların olduğu gözlenmiştir (Çizelge 4.5). Aynı çizelgede verilen serrat kanat fenotipindeki uygulama gruplarında ise bu oranlar 1 mM EMS grubunda 1,68; 1,10; 2,78 ve 2,78 şeklinde iken yine en iyi sonuçların gözlemlendiği 1 mM EMS+5 mg/mL IT'lik uygulama grubunda bu frekanslar sırasıyla 0,64; 0,39; 1,03 ve 1,03 şeklinde hesaplanmıştır (Çizelge 4.5).

Genotoksik olduğu tespit edilen herhangi bir maddenin antigenotoksik başka bir maddeyle muamelesi sonucu toksik etkinin düşüş miktarını belirlediğimiz % İnhibisyon oranları incelendiğinde ise hem normal hem de serrat kanat fenotipli bireylerin tüm uygulama gruplarında anlamlı düşüşlerin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Örneğin normal kanatlı bireylerde en yüksek inhibisyon oranı %63,46, serrat kanatlı bireylerde ise %62,95 ile 1 mM EMS+5 mg/mL IT uygulama grubunda tespit edilmiştir (Çizelge 4.5). Tüm bu sonuçlardan *Iris taochia* topraküstü metanol ekstraktlarının EMS'nin indüklediği genotoksik etkiyi ortadan kaldırıcı önemli etkilerinin olduğu ve bu etkiyi en iyi 5 mg/mL IT'lik konsantrasyonda gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.5. EMS+*Iris taochia* uygulaması sonucu elde edilen SMART verileri

Uygulama Grupları (mg/mL)	Kanat sayısı (N)	Küçük Tekli Benek (1-2 benek) (m=2)			Büyük Tekli Benek (>2 benek) (m=5)			İkiz Benek (m=5)			Toplam mwh benek (m=2)			Toplam benek (m=2)			KİF (10 ⁵ hücre)	% inhibisyon
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D		
NORMAL KANAT (mwh/flr³)																		
Distile su	80	25	0,31		4	0,05		2	0,03		30	0,38		31	0,39		1,54	
EMS (1mM)	80	157	1,96	+	105	1,31	+	29	0,36	+	273	3,41	+	291	3,64	+	13,98	
EMS+IT(0,625)	80	134	1,68	-	92	1,15	-	28	0,35	-	190	2,38	-	254	3,18	-	9,73	12,63↓
EMS+IT (1,25)	80	121	1,51	-	93	1,16	-	31	0,39	-	176	2,20	-	245	3,06	-	9,01	15,93↓
EMS+IT (2,5)	80	88	1,10	-	71	0,89	-	27	0,34	-	125	1,56	-	186	2,33	-	6,40	35,99↓
EMS+IT (5)	80	56	0,70	-	39	0,49	-	11	0,14	-	89	1,11	-	106	1,33	-	4,56	63,46↓
EMS+IT (10)	80	64	0,80	-	58	0,73	-	10	0,13	-	93	1,16	-	132	1,65	-	4,76	54,67↓
SERRAT KANAT (mwh/TM3)																		
Distile su	80	19	0,24		2	0,03		*			21	0,26		21	0,26		1,08	
EMS (1mM)	80	134	1,68	+	88	1,10	+				222	2,78	+	222	2,78	+	11,37	
EMS+IT(0,625)	80	130	1,63	-	85	1,06	-				215	2,69	-	215	2,69	-	11,01	3,24↓
EMS+IT (1,25)	80	96	1,20	-	77	0,96	-				173	2,16	-	173	2,16	-	8,86	28,70↓
EMS+IT (2,5)	80	88	1,10	-	62	0,78	-				150	1,88	-	150	1,88	-	7,68	32,37↓
EMS+IT (5)	80	51	0,64	-	31	0,39	-				82	1,03	-	82	1,03	-	4,20	62,95↓
EMS+IT (10)	80	80	1,00	-	54	0,68	-				134	1,68	-	134	1,68	-	6,86	39,56↓
EMS: Etil metansülfonat, IT: <i>Iris taochia</i> , No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi [98], +: pozitif; -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı; *: TM3 dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$																		

4.2.5. SF ile *I. taochia*'nın birlikte uygulanması sonucu elde edilen SMART bulguları

Çalışmamızın ilk kısmında genotoksik etkinliğini tespit ettiğimiz bir diğer antineoplastik madde olan Siklofosfamid (SF)'in *Iris taochia* topraküstü metanol ekstraktları ile beraber muamelesinin yapıldığı çalışmamızın son aşamasında elde ettiğimiz veriler tek başına 1mM'lık SF uygulaması ile elde edilen verilerle istatistiksel açıdan karşılaştırılmıştır. Çizelge 4.6 incelendiğinde EMS uygulama gruplarında olduğu gibi tüm birlikte yapılan uygulama gruplarında (SF+IT) “+” olan sonuçların “-“ yöne doğru düşüş gösterdiği görülmektedir. Bu düşüşlerin artan ekstrakt konsantrasyonuna bağlı olarak tüm benek tiplerinde sayısal olarak anlamlı olduğu istatistiksel olarak da belirlenmiştir ($p<0,05$) (Çizelge 4.6).

SF'nin tek başına uygulandığı gruplarda normal kanat fenotipli bireylerde küçük tek tip, büyük tek tip, ikiz, toplam *mwh* ve toplam benek sayılarının frekansları sırasıyla 2,48; 0,67; 3,29; 2,93 ve 0,15 olarak tespit edilmiştir. SF+IT uygulama gruplarında ise bu oranların en iyi 1 mM SF+10 mg/mL IT'lik uygulama grubunda sırasıyla 0,53; 0,11; 0,08; 0,58 ve 0,71 şeklinde düşüş gösterdiği belirlenmiştir. SF+IT uygulamalarında EMS+ IT uygulama gruplarının aksine konsantrasyon artışına paralel olarak son grupta da düşüşün devam ettiği gözlenmiştir (Çizelge 4.6). Aynı çizelgede, serrat kanat fenotipindeki bireylerde bu oranlar 1 mM SF grubunda 1,76; 0,40; 2,16 ve 2,16 şeklinde iken en çok düşüşlerin gözlemlendiği 1 mM SF+10 mg/mL IT'lik uygulama grubunda bu frekanslar sırasıyla 0,50; 0,08; 0,58 ve 0,58 şeklinde hesaplanmıştır (Çizelge 4.6).

% İnhibisyon oranları incelendiğinde ise EMS uygulama gruplarında olduğu gibi SF uygulama gruplarında da hem normal hem de serrat kanat fenotipli bireylerin tüm uygulama gruplarında anlamlı düşüşlerin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.6). Örneğin normal kanatlı bireylerde en yüksek inhibisyon oranı %78,42, serrat kanatlı bireylerde ise %73,15 ile 1 mM SF+10 mg/mL IT uygulama grubunda tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Tüm bu sonuçlardan *Iris taochia* topraküstü metanol ekstraktlarının SF'nin indüklediği genotoksik etkiyi ortadan kaldırıcı önemli etkilerinin olduğu ve bu etkiyi en iyi 10 mg/mL IT'lik konsantrasyonda gösterdiği belirlenmiştir.

Çizelge 4.6. SF+*Iris taochia* uygulaması sonucu elde edilen SMART veriler

Uygulama Grupları (mg/mL)	Kanat sayısı (N)	Küçük Tekli Benek (1-2 benek) (m=2)			Büyük Tekli Benek (>2 benek) (m=5)			İkiz Benek (m=5)			Toplam mwh benek (m=2)			Toplam benek (m=2)			KİF (10 ⁵ hücre)	% inhibisyon
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D		
NORMAL KANAT (mwh/flr³)																		
Distile su	80	25	0,31		4	0,05		2	0,03		30	0,38		31	0,39		1,54	
SF (1 mM)	80	198	2,48	+	53	0,67	+	12	0,15	+	234	2,93	+	263	3,29	+	11,98	
SF+IT(0,625)	80	130	1,63	-	52	0,65	-	13	0,16	i	170	2,12	-	202	2,53	-	8,70	23,10↓
SF+IT (1,25)	80	93	1,16	-	53	0,67	i	12	0,15	i	130	1,63	-	168	2,10	-	6,67	36,17↓
SF+IT (2,5)	80	77	0,96	-	41	0,51	-	9	0,11	-	98	1,23	-	127	1,59	-	5,02	51,67↓
SF+IT (5)	80	75	0,94	-	29	0,36	-	9	0,11	-	94	1,18	-	113	1,41	-	4,81	57,14↓
SF+IT (10)	80	42	0,53	-	9	0,11	-	6	0,08	-	46	0,58	-	57	0,71	-	2,36	78,42↓
SERRAT KANAT (mwh/TM3)																		
Distile su	80	19	0,24		2	0,03		*			21	0,26		21	0,26		1,08	
SF (2,5)	80	141	1,76	+	32	0,40	+				173	2,16	+	173	2,16	+	8,86	
SF+IT(0,625)	80	120	1,50	-	33	0,41	i				153	1,91	-	153	1,91	-	7,83	11,57↓
SF+IT (1,25)	80	76	0,95	-	26	0,33	-				112	1,40	-	112	1,40	-	5,73	35,19↓
SF+IT (2,5)	80	68	0,85	-	22	0,28	-				90	1,13	-	90	1,13	-	4,61	47,69↓
SF+IT (5)	80	61	0,76	-	23	0,29	-				84	1,05	-	84	1,05	-	4,30	51,39↓
SF+IT (10)	80	40	0,50	-	6	0,08	-				46	0,58	-	46	0,58	-	2,36	73,15↓
SF: Siklofosamid, IT: <i>Iris taochia</i> , No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi [98], +: pozitif; -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı; *: TM3 dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: α=β=0,05																		

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Bitkiler ve bitki türevi bileşenler, eski zamanlardan beri, çeşitli insan hastalıklarını tedavi etmek için kullanılmıştır. İlaçlarla tedavi hızlı rahatlama sağlasa da, uzun süre tüketimleri hiperalerjik reaksiyonlar ve karaciğer hasarı gibi ciddi sağlık sorunlarına neden olabilmektedir. Bu nedenle, herhangi bir yan etkiye neden olmayan ya da nadir olan tıbbi bitkilerin araştırılması, insan sağlığı açısından oldukça önemlidir.

Bitkiler, antioksidan, anti-aging, nöroprotektif, anti-genotoksik, antimitojenik ve bioinsektisidal aktivite gibi birçok yararlı özellik içermektedir [99, 100]. Bu nedenle, bitkilerin ve bitki içeriğindeki bileşenlerin farmakolojik özelliklerinin belirlenmesi veya keşfedilmesi son derece önemlidir. Bitki kaynaklı ilaçlar önemli yan etkileri olmadan insan sağlığını iyileştirici yönde teşvik etmekte olup halen gelişmekte olan ülkelerin nüfusunun yaklaşık % 80'i bitkilerden elde edilen ilaçları kullanmaktadır [101, 102].

Farklı bitkilerin veya aktif bileşenlerin farmakolojik özelliklerini tanımlamak için birçok model organizma kullanılmıştır ve *Drosophila* da bunlardan birisidir. *Drosophila melanogaster* veya “meyve sineği” organizmanın gelişimi ve hastalıkları ile ilgili farklı biyolojik yönleri incelemek için 110 yıldan fazla bir süredir kullanılmaktadır. Gelişimsel ve hücre sinyal yollarının çoğu ve insan hastalıklarıyla ilişkili genlerin %75'i, insan ve *Drosophila* arasında oldukça benzerlik göstermektedir [103].

Drosophila model organizması ile bitkiler arasında genotoksik ya da antimitojenik çalışmaların yanı sıra immünohistokimya [104, 105], hücre ölümü [106, 107], biyokimya [108, 109], davranış [110], fenotipik bozukluklar [111-113], beslenme [114, 115], hayatta kalma [115-117], gelişimsel toksisite [118] gibi birçok deneysel çalışma yapılabilmektedir.

Özellikle çağımızın hastalığı olan kanser ve onun tedavisinde kullanılan antineoplastik ilaçlar aynı zamanda birçok sağlıklı hücreye ve dokuya zarar vermektedir. Bu nedenle bu tür ilaçların yapabilecekleri yan etkileri azaltmak veya ortadan kaldırmak için bitkilerden elde edilebilecek destekleyici alternatif gıda takviyeleriyle ilgili çalışmalar yapmak insan sağlığı açısından oldukça önemli hale gelmiştir [119].

Çalışmamızda Etil metansülfonat (EMS) ve Siklofosfamid (SF) alkilleyici ajanlarının olası genotoksik etkilerinin belirlenmesi ve bu etkilerin *Iris taochia* topraküstü metanol ekstraktları ile giderilmesi amaçlanmıştır. Bu amaçla *Drosophila melanogaster* ile yapılan Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) kullanılmıştır. Alkilleyici ajanlar olarak EMS ile Siklofosfamid'in seçilmesinin nedeni daha önce sıkça çalışılmış ve genotoksik oldukları kanıtlanmış ayrıca halen tıbbi tedavilerde kullanılmakta olmasından kaynaklanmıştır. Bununla birlikte kullanılan test tekniği benzer birçok çalışmada rastladığımız güvenilir bir test tekniği olmakla beraber antigenotoksik etkinliğini araştırdığımız bitki ise bu anlamda hiç çalışılmamış ender bir bitki türüdür. Bu anlamda çalışmamız *Iris taochia* bitkisiyle yapılan ilk antigenotoksik çalışma olma özelliğindedir.

Drosophila melanogaster mutant soyları ile yapılan ve kimyasalların neden olduğu mutasyon ve rekombinasyonları fenotipte görmemize imkân sağlayan SMART'ın hızlı, güvenilir, ucuz maliyetli, *in vivo* çalışmalara imkân veren ve ökaryotik bir organizmayla yapılması gibi pek çok avantajı vardır [120, 121]. Geleneksel olarak kullanılan birçok alternatif tıp ürünü bitkiler ile bizim de çalışmamızda tercih ettiğimiz gibi SMART'ın uygulandığı literatürde pek çok çalışma vardır. Örneğin; Alıç yaprağında bulunan bir flavonoidin doksorubusin ve benzopiren maddelerinin indüklediği genotoksik etkiyi azaltarak antigenotoksik etki gösterdiği [122], Kuzey Amerika'da alternatif tıpta halk arasında halen kullanılmakta olan *Peumus boldus* ve *Cryptocarya alba* bitkilerine ait metanol ekstraktlarının Etil metansülfonat (EMS)'a karşı antigenotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir [123]. Bu sonuçlar bizim çalışmamızda EMS'ye karşı elde ettiğimiz bulgularla paralellik göstermektedir.

Origanum onites L. ve *Origanum minutiflorum* O. Schwarz şeklindeki 2 farklı kekik türünden elde edilen uçucu yağlar ile yapılan SMART çalışması ile bu yağların Potasyum dikromat ($K_2Cr_2O_7$) ve Kobalt klorür ($CoCl_2$) 'ye karşı antigenotoksik aktivite gösterdikleri belirlenmiştir. Çalışma sonucunda, gözlemlenen bu iyileştirici etkilerin, seçilen uçucu yağların antioksidan özelliklerine bağlanabileceği vurgulanmıştır [124]. Biz de çalışmamızdan elde ettiğimiz antigenotoksik etkilerin *Iris taochia* ekstraktlarındaki yüksek antioksidan aktiviteden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

EMS'nin toksik etkisine karşı Bor madeninin iyileştirici etkinliğinin araştırıldığı başka bir SMART çalışması sonucunda tüm bor konsantrasyonlarının (0,1; 5, 10, 20 ve 40 mg/mL), indüklenen genotoksik etkileri ortadan kaldırdığı gösterilmiş yine bu etkinin borun antioksidan özellikleri ile bağlantılı olabileceği vurgulanmıştır [125].

SMART kullanılarak, rezene bitkisinin (*Foeniculum vulgare* Mill) meyve özlerinin genotoksitesisi ve antigenotoksitesisi üzerine yapılan çalışmada ise pozitif kontrol olarak metil metansülfonat (MMS) kullanılmış ve sonuçta rezenenin MMS'nin oluşturduğu genotoksik etkiyi %41,16'lık bir inhibisyon oranı ile düşürdüğü gözlemlenmiştir [126]. Bizim çalışmamızda ise *I. taochia* bitki ekstraktının EMS'nin genotoksik etkisini en yüksek normal kanatlı bireylerde %63,46, serrat kanatlı bireylerde ise %62,95'lik oranlarla 1 mM EMS+5 mg/mL IT uygulama grubunda gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.5).

Alternatif tıpta kullanılmakta olan birçok türe sahip Lamiaceae familyasına ait üç farklı bitki türünün (*Stachys annua*, *Scutellaria salviifolia* ve *Nepeta nuda*) antigenotoksik etkinliğinin SMART ile araştırıldığı çalışma sonucunda EMS'nin genotoksik etkisini en iyi *S. salviifolia* bitki ekstraktlarının ortadan kaldırdığı belirlenmiştir [127].

Prakash ve ark.'nın [128] SMART ile yaptıkları çalışmada *Dioscorea pentaphylla* bitkisinin antigenotoksik etkili olduğu belirlenmiştir. Araştırmacılar bu etkinin bitki ekstraktının içerdiği taninler, flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, fenoller ve saponinler gibi sekonder metabolitlerin MMS'nin radikal gruplarıyla etkileşime girerek oluşan mutajeniteyi etkisiz hale getirmek şeklinde olabileceği vurgusunu yapmışlardır. Bizim çalışmamızda kullandığımız *I. taochia* bitkisinin de özellikle topraküstü kısımlarında zengin sekonder metabolitler içerdiğine dair çalışmalar mevcut olup [129] biz de elde ettiğimiz iyileştirici sonuçların bu maddelerin EMS ve SF alkilleyicilerinin radikal gruplarını bağlayarak etkinliklerini azaltması şeklinde olduğunu düşünmekteyiz. Benzer bir başka çalışmada ise alternatif tıp tedavisinde kullanılan çeşitli bitki türleri (*V. officinalis*, *U. tomentosa*, *M. chamomilla*, *T.cordata*, *M.pulegium* ve *M. piperita*) ile yapılan çalışma sonucunda, H₂O₂ (hidrojen peroksit)'nin *Drosophila*'da meydana getirdiği mutajenik etkilerin çalışmada kullanılan bitkilerdeki fenolik bileşiklerin reaktif oksijen türevlerini süpürme kabiliyeti ile ortadan kaldırılabilceği SMART ile belirlenmiştir [130].

SMART kullanarak yapılan başka bir çalışmada ise 3 farklı tıbbi aromatik bitki (*Ledum groenlandicum*, *Ravensara aromatica* ve *Helichrysum italicum*)'nin kanser tedavisinde kullanılan "üretan" kimyasal maddesinin indüklediği genotoksik etkiye karşı antimutajenik ve antigenotoksik etkileri araştırılmıştır. Çalışma sonucunda bu bitkilerin tüm konsantrasyonlarda, kanatlarda meydana gelen mutasyon oranlarında düşüşe neden oldukları gösterilmiştir. Araştırmacılar tüm bu mutajenitedeki düşüşlerin bitkilerdeki uçucu yağ bileşenlerinin sitokrom P450 enzim sistemini etkileyerek olduğu vurgusunu yapmışlardır [89]. Bizim çalışmamıza benzer bir diğer çalışmada ise *Rosa canina* (Kuşburnu) bitkisinin etanol ile hazırlanmış ekstraktlarının EMS'nin indüklediği genotoksik etkiyi konsantrasyon artışına paralel olarak azalttığı tespit edilmiştir [131].

Drosophila kanat benek testi ya da SMART denilen test tekniği ile bitki ekstraktları arasında yapılan tüm bu çalışmaların sonuçları ve güvenilirlikleri incelendiğinde bizim çalışmamız için seçtiğimiz bu test tekniğinin doğru bir seçim olduğu görülmektedir.

Çalışmamızın ilk kısmında alkilleyici ajanlara karşı antigenotoksik etkinliğini araştırdığımız *I. taochia* bitkisinin genotoksik olup olmadığına araştırılmıştır. Sonuçta kullandığımız hiçbir konsantrasyonda metanol ekstraktlarının mutajenik, toksik ya da genotoksik etkinliğine rastlanmamıştır (Çizelge 4.1) ve (Çizelge 4.4). Literatür taraması yapıldığında bizim bu sonucumuzu destekleyecek ya da farklı sonuçlar ortaya konmuş bu bitkiyle yapılmış toksisite ya da mutajenite çalışmalarına rastlanmamıştır.

Çalışmamızın ikinci kısmında ise alkilleyici ajanlardan Siklofosamid (SF) ve Etil metansülfonat (EMS)'in genotoksik etkileri araştırılmıştır. Literatürde SF ve EMS ile yapılmış birçok genotoksisite çalışması olup bu maddelerin bitki ekstraktlarının olası antigenotoksik etkinliğinin araştırılması çalışmaları için uygun birer materyal oldukları kanıtlanmıştır.

Farelerde yapılan bir çalışmada; SF'nin glutatyon enzim sisteminin aktivitesini azaltıp SF'yi toksik yan ürünlere metabolize eden faz I enzim aktivitesini artırarak toksik etki oluşturduğu bu etkinin *Phyllanthus amarus* (Amla) bitki ekstresi uygulaması sonucu azaltılabileceği belirlenmiştir [132]. SF'nin toksik etkisinin araştırıldığı sıçan böbrek dokusunda yapılan histopatolojik bir diğer çalışmada tek doz SF uygulaması sonucu böbrek hücre organellerinde ve glomerulusta ağır hasarların olduğu elektron mikroskobu

ile görüntülenmiştir [133]. Ayrıca SF'nin DNA replikasyonunun inhibisyonuna, bazsubstitüsyonları (bir baz çiftinin başka bir baz çifti ile değişmesi) oluşturarak DNA hasarına, kromozomal hatalara, mikronukleus oluşumuna ve somatik mutasyonlara neden olarak genotoksik etkiler gösterdiği yapılan diğer çalışmalarla da tespit edilmiştir [59, 60].

Drosophila ile yapılan bir SMART çalışmasında, içerisinde SF'nin de bulunduğu 4 farklı bileşiğin mutajenik ve rekombinojenik aktivitesi araştırılmıştır. Sonuçta hem standart hem de biyoaktivasyonu yüksek soylarda SF'nin özellikle 5mM konsantrasyonda hem mutajenik hem de rekombinojenik etki gösterdiği belirlenmiştir [134]. Doğan ve Yeşilada [135] tarafından yapılan başka bir çalışmada ise Resveratrol adı verilen antioksidan maddenin farklı konsantrasyonlarda Siklofosfamid (SF), Mitomisin C (MMC) ve N-metil-N-nitrosourea (MNU)'nın oluşturduğu genotoksik etki üzerine antigenotoksik etkinliği *Drosophila* kanat benek testi (SMART) ile araştırılmıştır. Sonuçta SF de dahil tüm mutajen maddelerin genotoksik etki meydana getirdiği ancak Resveratrol ile eş zamanlı uygulamalar sonucunda bu genotoksik etkinin yaklaşık %16,25 ve %55,25 aralığında azaldığı tespit edilmiştir. SF uygulaması sonucu elde edilen bulgularla bizim çalışmamızda elde ettiğimiz bulgular paralellik göstermektedir. Ayrıca başka bir *Drosophila* çalışmasında SF'nin spermatogenezis aşamasında spermatid hücrelerinde kromozom kırıklarına neden olarak mutajenik etki gösterdiği vurgulanmıştır [136].

Yapılan çalışmalar sonucunda SF'nin fosforamid mustard (FAM) ve akrolein (ACR) olmak üzere iki aktif metabolitinin olduğu belirlenmiştir [137]. SF'nin antineoplastik etkinliğinin FAM metaboliti sayesinde olduğu ve FAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı ve bu sayede bağışıklık baskılayıcı ve antitümör etkinlik oluşturduğu düşünülmektedir [137]. SF'nin toksik etkisinin ise aktif metaboliti olan ACR'den kaynaklandığı ve ACR'nin bu etkiyi doku antioksidan savunma sistemine müdahale ederek yüksek oranda serbest oksijen radikalleri (SOR) oluşumuna yol açmak şeklinde yaptığı bildirilmektedir. ACR kaynaklı oluşan SOR'lar ise enzim, reseptör ve iyon pompaları gibi moleküllerle birleşerek onların fonksiyonlarını bozmakta ve toksik etkiler oluşturmaktadırlar [138]. Biz de çalışmamızda alkilleyici ajanların meydana getirdiği toksik etkilerin SOR birikimine bağlı olarak kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Bir diğer alkilleyici ajan olan EMS ile yapılan genotoksisite çalışmalarından birinde resveratrolün antigenotoksik etkileri SMART ile araştırılmıştır. Sonuçta resveratrolün 1, 5

ve 10 mM dozlarının EMS'ye karşı güçlü antigenotoksik aktiviteye sahip olduğu gözlenmiştir [139]. Benzer başka bir çalışmada ise farklı derişimlerdeki Turunç (*Citrus aurantium*) kabuğu yağıının, alkilleyici ajanlara (EMS ve ENU=Etil nitrozoüre) karşı antigenotoksik etkileri *D. melanogaster*'de kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) kullanılarak araştırılmış ve sonuç olarak, turunç kabuğu yağıının iki alkilleyici ajana karşı genotoksisiteyi önemli oranda azalttığı gözlenmiştir [140].

EMS ile yapılan başka bir SMART çalışmasında indüklenen genotoksik etkinin *Echium amoenum* Fisch&C.A. Mey (Boraginaceae) bitkisine ait farklı dozlarda kloroform ekstraktı ile giderilmesi amaçlanmıştır. Çalışmanın sonucunda genotoksik etkilerin bitkiye ait kloroform ekstraktı ile artan konsantrasyona bağlı olarak büyük ölçüde giderildiği tespit edilmiştir [141].

Çalışmamızın son kısmında ise genotoksik etkinliğini kanıtladığımız bu iki alkilleyici ajanın *I. taochia* topraküstü metanol ekstraktı ile birlikte uygulanması sonucu indüklenen mutajenitenin azalıp azalmadığına bakılmış ve birçok konsantrasyonda yüksek inhibisyon oranlarına rastlanmıştır (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6). EMS uygulama gruplarında olduğu gibi SF uygulama gruplarında da hem normal hem de serrat kanat fenotipli bireylerin tüm uygulama gruplarında anlamlı düşüşlerin olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.5 ve Çizelge 4.6).

Yapılan diğer çalışmalar incelendiğinde benzer şekilde tıbbi aromatik bitkiler ile mutajen maddelerin etkinliğini azaltıcı yönde etki gösteren sonuçların oldukça fazla olduğu görülmüştür. Ancak kullandığımız bitki ile ilgili çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır. Az sayıdaki çalışmalardan birinde; gaz kromatografisi-kütle spektrometrisi (GC-MS) metodu ile *Centranthus longiflorus* ve *Iris taochia* bitkilerinde α -amirin ve β -sitosterol'ün eş zamanlı tayini ile fitosterollerin varlığı tespit edilmiştir [129].

Bununla birlikte *Iris* cinsine ait farklı türlerle yapılan çeşitli toksisite çalışmalarına rastlanmıştır. Bitkimizin olası etki mekanizmasının anlaşılması açısından bu tür çalışmalar incelenmiştir. Örneğin; *Iris pseudopumila* Tineo çiçekleri ve rizomlarından elde edilen farklı ekstraktların *in vitro* antioksidan ve sitotoksik aktivitelerini değerlendirildiği çalışma sonucunda; bitkinin metanolik ekstraktının lipit peroksidasyonunda en iyi aktiviteyi

gösterdiği, rizomlardan elde edilen kloroform özütünün ise amelanotik melanom kanser hücre hattına (C32) karşı iyi bir sitotoksik aktivite gösterdiği bulunmuştur [142].

Farklı *Iris* türlerinin içerdikleri aktif bileşenleriyle yapılan immünoloji, enfeksiyon hastalıkları, ülser ve onkoloji gibi çeşitli araştırma alanlarında yeni tedavi olasılıkları bulmayı hedefleyen çok sayıda çalışma bulunmaktadır. Yapılan kimyasal incelemeler *Iris* türlerinin 250'den fazla bileşen içerdiğini göstermektedir. Bu bileşenler; flavonoidler, izoflavonoidler ve onların glikozitleri, benzokininleri ve triterpenoitlerini içermektedirler [143].

Kanser hücreleri üzerinde Türkiye'de yetişen *Iris unguicularis*, *Iris suaveolens* ve *Iris histrio* bitkilerinin DMSO ekstraktlarının antikanser etkilerinin araştırıldığı çalışma sonucunda; bitki ekstraktlarının doza bağımlı bir şekilde insan meme kanseri (MCF7) hücrelerinin büyümesi üzerinde azaltıcı sitotoksik etkilerinin olduğu ancak kanser kemoterapisi veya önlenmesinde faydalı olabilecek güçlü bir anti- tümörijenik bileşenlere sahip olmadıkları vurgulanmıştır [143].

Başka bir *Iris* türü olan *Iris junonia* bitkisinin farklı kısımlarının hekzan, diklorometan, metanol ve su özütleri elde edilerek antioksidan, antibakteriyel ve DNA koruyucu aktivitelerinin araştırıldığı çalışma sonucunda su ve metanol özütlerinin oldukça yüksek aktivite gösterdikleri her iki yöntemde de saptanmıştır. En yüksek antioksidan aktivitenin kökün su özütünde olduğu görülmüştür. Yine antibakteriyel aktivite açısından en etkili kök su özütü olduğu gözlenmiştir. DNA koruyucu aktivite açısından en fazla koruyucu aktivite gösteren bitki kısımları yaprak ve çiçeğin su ve metanol özütlerin olduğu belirlenmiştir [144]. Bizim çalışmamızda ise *Iris taochia* bitkisinin topraküstü metanol ekstraktları çalışılmıştır.

Muğla yöresinde doğal olarak yayılış gösteren Iridaceae familyasına ait 4 bitki türünün (*Iris germanica*, *Iris albicans*, *Gladiolus illyricus* ve *Romulea ramiflora*) toprak üstü ve toprak altı kısımlarının etanol ekstraktlarının antimikrobiyal, antioksidan ve antimutajenik aktivitelerinin belirlendiği çalışma sonucunda ise; *I. germanica* bitkisinin toprak üstü kısımlarının güçlü serbest radikal giderimi sağladığı ve antioksidan aktiviteye sahip olduğu tespit edilmiştir. Ayrıca bitkilerin tamamının toprak altı ve toprak üstü kısımları *B. subtilis*

üzerinde zayıf antimikrobiyal etki gösterdiği *G. illyricus* ve *R. ramiflora*'nın ise toprak altı kısımlarının yüksek antimitojenik aktiviteye sahip olduğu belirlenmiştir [145].

Bütün bu çalışmalarla birlikte literatürde bizim çalışma sonucumuzu destekler nitelikte daha birçok farklı *Iris* türüyle yapılmış biyolojik aktivite çalışması da mevcuttur [146-150].

Sonuç olarak, çalışmamızda kullanılan iki farklı alkilleyici maddenin (EMS ve SF) *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile somatik hücrelerde genotoksik etkili oldukları bir kez daha kanıtlanmıştır. Özellikle kemoterapotik olarak halen daha kullanılan Siklofosfamid'in tedavi esnasında olumsuz zincir reaksiyonlara neden olup sağlıklı hücreleri de etkileyebileceği ve insan sağlığı açısından tehlikeli olabileceği görülmektedir. Bu açıdan bakıldığında böyle etkiler gösteren maddelerin indüklediği genotoksik etkilerin yan etkileri az veya hiç olmayan bitkisel ekstraktlarla gidermek oldukça önemlidir.

Çalışmamızda kullandığımız tıbbi aromatik bir bitki türü olan *Iris taochia* da bu tür tedavilerde alternatif gıda kaynağı veya takviyesi olarak kullanılabilir özellikler sergilemiştir. Bu etkilerinin; içerdikleri zengin metabolitleri sayesinde DNA hasarını artıracak reaktif oksijen türlerini (ROS) temizleyecek yüksek antioksidan gücünden, sitokrom P450 aktivasyon sistemi üzerine etkilerinden, EMS ve SF gibi alkilleyicilerin radikal gruplarını bağlayarak etkinliklerini azaltabilme yeteneklerinden ve içerdikleri anti-tümörijenik bileşenlerden kaynaklandığını düşünmekteyiz.

Her geçen gün sentetik ürünlerden uzaklaşıp geleneksel tedavi yöntemlerinden birisi olan tıbbi bitkilerle uygulanan alternatif tıbbi olan güven artmaktadır. Bu çalışmayla literatürde çok az bilgiye ulaşabildiğimiz Türkiye endemiği olan *Iris taochia* bitkisinin alternatif tedavilerde kullanılabilir bir tür olduğu belirlenmiş ve literatüre bu alanda yapılan ilk çalışma olarak geçmiştir. Bundan dolayı sayısı giderek azalan ve çok küçük bir alanda varlığını gösteren endemik bu türün kültürünün yapılarak çoğaltılması ve korunma altına alınması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır. Ayrıca bitkinin tüm kısımlarıyla ve farklı çözücülerle yapılacak alternatif çalışmalarla içerik analizlerinin çıkartılıp, ileri yöntemlerle antikanserojen, antimikrobiyal ve antimitojen özelliklerinin belirlenmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. İnternet: URL: <http://www.nih.gov/sigs/dna-rep/whatis.html>.
2. Ringer, D. P., and Schnipper, L. E. (2001). Principles of Cancer Biology. İn: Lenhard RE, Osteen RT, Gansler T; eds. *Clinical Oncology Atlanta: American Cancer Society*, 21-35.
3. Karakoç, Y. ve Karakuş, L. (2005). *Onkolojik Hastalıklar ve Hemşirelik Bakımı El Kitabı*. Mavi Ambalaj. Ankara.
4. Schulz, W. (2005). *Molecular biology of human cancers: an advanced student's textbook*. Springer Science & Business Media.
5. Chen, S. M., Meng, L. H., and Ding, J. (2010). New microtubule-inhibiting anticancer agents. *Expert opinion on investigational drugs*, 19(3), 329-343.
6. Kumar, V., Abbas, A. K., and Aster, J. C. (2017). *Robbins basic pathology e-book*. Elsevier Health Sciences.
7. Tuncer A. M. (2001). *Kanser. Yeni Türkiye Dergisi*;7(39): 964–969.
8. Durna, Z. ve Aydınır, A. (2003). *Kanser Kemoterapi Rehberi ve Uygulamaya Yönelik Öneriler*. Nobel Tıp Kitabevleri, İstanbul.
9. Can, G. (2005). Antineoplastik İlaçların Yan Etkileri ve Hemşirelik Yaklaşımları.
10. Müdürlüğü, S. B. T. H. G. (2004). *Antineoplastik (Sitotoksik) İlaçlarla Güvenli Çalışma Rehberi*. Ankara SB yayınları.
11. Prensipler, D. K. K. T. (2000). İn: Topuz E, Aydınır A, Karadeniz AN; eds. *Klinik Onkoloji. İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları*, 34-47.
12. Dow, K. H., and Barnicle, M. M. (2004). Nursing care in patient management and quality of life. JR Harris, ME Lippman, M. Morrow, et CK Osborne (Éds.), *Diseases of the Breast*, 1387-1404.
13. Ölgen, S., Bıçak, I. ve Nebioğlu, D. (2002). Angiogenesis ve Kanser Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar. *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, 31(3), 193-214.
14. Aynacıoğlu, A., Özkur, M., Nacak, M., Saracaloğlu, A. (2014). “*Farmabul Kitabı 1. Baskı*”, Çukurova Nobel Tıp Kitabevi, Adana, 135-150.
15. Hooftman, R. N. (1981). The induction of chromosome aberrations in *Notobranchius rachowi* (Pisces: Cyprinodontidae) after treatment with ethyl methanesulphonate or benzo [a] pyrene. *Mutation Research Letters*, 91(4-5), 347-352.

16. Guha, B., and Khuda-Buksh, A. R. (2002). Efficacy of vitamin-C (L-ascorbic acid) in reducing genotoxicity in fish (*Oreochromis mossambicus*) induced by ethyl methane sulphonate. *Chemosphere*, 47(1), 49-56.
17. Şekeroğlu, Z. A., ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
18. Choy, W. N. (2001). *Genetic toxicology and cancer risk assessment*. CRC Press.
19. Young, R. R. (2002). Genetic toxicology: web resources. *Toxicology*, 173(1-2), 103-121.
20. Mortelmans, K., and Rupa, D. S. (2004). Current issues in genetic toxicology testing for microbiologists. *Advances in applied microbiology*, 56(3), 379-397.
21. Zeiger, E. (2004). History and rationale of genetic toxicity testing: an impersonal, and sometimes personal, view. *Environmental and molecular mutagenesis*, 44(5), 363-371.
22. Eroğlu Doğan, E. (2008). *Bazı Flavonoidlerin Drosophila Melanogaster 'de Antigenotoksik Aktivitesi ve Antioksidan Etkilerinin Araştırılması*. Doktora tezi, İnönü Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Malatya.
23. Ekim, T., Koyuncu, M., Vural, M., Duman, H., Aytac, Z. and N. Adigürel, (2000). Red Data Book of Turkish Plants, Pteridophyta and Sperrnatophyta. *The Publication of Turkish Nature Protection Society*. Number: 18.
24. Kandemir, N. (2006). An investigation on the autecological endemic *Iris taochia* Woronow Ex Grossh.(Iridaceae) distributed in the North East Anatolia region. *Pakistan Journal of Biological. Sci*, 9, 2753-2760.
25. Mabberley, D. J. (1997). *The plant-book: a portable dictionary of the vascular plants*. Cambridge university press.
26. İnternet: URL: <https://public.fotki.com/ngoosen/iridaceae/iris/iris-taochia.html>.
27. Gutter, A., (1980). Observations on the distribution areas of some *Iris* L. Species in our country. *TBTAK VII. The science congress*. Aydın.
28. Kandemir, N.,ve Engin, A. (1998). *Iris nectarifera* Güner (Iridaceae) Üzerinde Morfolojik, Anatomik ve Ekolojik bir araştırma, XIV. *Ulusal Biyoloji Kongresi*, 1, 283-299.
29. Koca, F., (1996). The morphological and anatomical investigations on endemic some *Iris* L. species (Sect. *Iris*) in Turkey. *Turkish Journal of Botany*.20: 43-57.
30. Kandemir, N., and Engin, A. (2000). An autecological investigation on the endemic *Iris galatica* Siehe (Iridaceae). Ondokuz Mayıs University, *Faculty of Arts and Science. Journal Science*, 1(1), 97-107.
31. Baytop, T. (1984). Treatment with plants in Turkey. *Istanbul Universitesi. Publ*, 3255.

32. Engin, A., Kandemir, N., Şenel, G., and Özkan, M. (1998). An autecological study on *Iris pseudacorus* L.(Iridaceae). *Turkish Journal of Botany*, 22(5), 335-340.
33. Kandemir, N.,and Engin, A. (2000). An autecological study on *Iris histrioides* Foster (Iridaceae) distributed in the central Black Sea region. *Turkish Journal of Botany*, 24(6), 347-354.
34. Kandemir, N. (2003). An autecological study on the endemic *Iris sari Schott ex Baker* (Iridaceae). *Herb J. Systematic Botany*, 10(2), 31-51.
35. Alam, M. A. (2014). Isolation characterization of bioactive isoflavone from *iris kashmiriana*; and synthesis, modification and biological evaluation of flavone analogues.
36. Han, J. (1988). Traditional Chinese medicine and the search for new antineoplastic drugs. *Journal of ethnopharmacology*, 24(1), 1-17.
37. Wong, S. M., Oshima, Y., Pezzuto, J. M., Fong, H. H., and Farnsworth, N. R. (1986). Plant anticancer agents XXXIX: Triterpenes from *Iris missouriensis* (Iridaceae). *Journal of pharmaceutical sciences*, 75(3), 317-320.
38. Bonfils, J. P., Pinguet, F., Culine, S., and Sauvaire, Y. (2001). Cytotoxicity of iridals, triterpenoids from *Iris*, on human tumor cell lines A2780 and K562. *Planta medica*, 67(01), 79-81.
39. Takahashi, K., Suzuki, S., Hano, Y., and Nomura, T. (2002). İridal tip triterpenoidlerle protein kinaz C aktivasyonu. *Biyolojik ve Farmasötik Bülten*, 25 (4), 432-436.
40. Nasim, S., Baig, I., Jalil, S., Orhan, I., Sener, B., and Choudhary, M. I. (2003). Anti inflammatory isoflavonoids from the rhizomes of *Iris germanica*. *Journal of Ethnopharmacology*, 86(2-3), 177-180.
41. Benoit-Vical, F., Imbert, C., Bonfils, J. P., and Sauvaire, Y. (2003). Antiplasmodial and antifungal activities of iridal, a plant triterpenoid. *Phytochemistry*, 62(5), 747-751.
42. Orhan, I., Nasim, S., Tener, B., Ayanoglu, F., Özgüven, M., and Choudhary, M. I. (2003). Two isoflavones and bioactivity spectrum of the crude extracts of *Iris germanica* rhizomes. *Phytotherapy Research*, 17(5), 575-577.
43. Wollenweber, E., Stevens, J. F., Klimo, K., Knauff, J., Frank, N., and Gerhäuser, C. (2003). Cancer chemopreventive in vitro activities of isoflavones isolated from *Iris germanica*. *Planta medica*, 69(01), 15-20.
44. Choudhary, M. I., Naheed, S., Jalil, S., and Alam, J. M. (2005). Effects of ethanolic extract of *Iris germanica* on lipid profile of rats fed on a high-fat diet. *Journal of ethnopharmacology*, 98(1-2), 217-220.
45. Gürbüz, K. N. (2006). Antimutajenler ve antikarsinojenler (kanser gelişiminin kimyasal bileşiklerle önlenmesi). *Turkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 26(3), 312-318.

46. Thomson, P. J., Greenwood, M., and Meechan, J. G. (2010). General medicine and surgery for dental practitioners. Part 6—cancer, radiotherapy and chemotherapy. *British dental journal*, 209(2), 65.
47. American Society of Health-System Pharmacists. (1990). ASHP technical assistance bulletin on handling cytotoxic and hazardous drugs. *American Journal of Health-System Pharmacy*, 47(5), 1033-1049.
48. Saffhill, R., Margison, G. P., and O'Connor, P. J. (1985). Mechanisms of carcinogenesis induced by alkylating agents. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Reviews on Cancer*, 823(2), 111-145.
49. Arnold, D. L., and Boyes, B. G. (1989). The toxicological effects of saccharin in short-term genotoxicity assays. *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 221(2), 69-132.
50. Henderson, P. T., Leijdekkers, C. M., and Bos, R. P. (1984). Excretion of thioethers in urine after exposure to electrophilic chemicals. *IARC scientific publications*, (59), 173-187.
51. Lauwerys, R. (1984). Basic concepts of monitoring human exposure. *IARC scientific publications*, (59), 31-36.
52. Van Sittert, N. J., and De Jong, G. (1985). Biomonitoring of exposure to potential mutagens and carcinogens in industrial populations. *Food and chemical toxicology: an international journal published for the British Industrial Biological Research Association*, 23(1), 23.
53. Wiedemann, G. J., Robins, H. I., Gutsche, S., Mentzel, M., Deeken, M., Katschinski, D. M., and Wagner, T. (1996). Ifosfamide, carboplatin and etoposide (ICE) combined with 41.8 C whole body hyperthermia in patients with refractory sarcoma. *European Journal of Cancer*, 32(5), 888-892.
54. Brookes, P. (1990). The early history of the biological alkylating agents, 1918–1968. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 233(1-2), 3-14.
55. Santos-Mello, R., Deimling, L. I., Lauer Júnior, C., and Carvalho, T. R. D. (2005). Chemoprotective effect of cysteamine against the induction of micronuclei by methyl methanesulfonate and cyclophosphamide. *Genetics and Molecular Biology*, 28(1), 156-160.
56. Nakamura, Y. K., Kawai, K., Furukawa, H., Matsuo, T., Shimoi, K., Tomita, I., and Nakamura, Y. (1997). Suppressing effects of S-methyl methanethiosulfonate and diphenyl disulfide on mitomycin C-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster* and micronuclei in mice. *Mutation Research/DNA Repair*, 385(1), 41-46.

57. Schimenti, K. J., Hanneman, W. H., and Schimenti, J. C. (1997). Evidence for cyclophosphamide-induced gene conversion and mutation in mouse germ cells. *Toxicology and applied pharmacology*, 147(2), 343-350.
58. Cingi, İ. ve Erol, K. (1996)., Kemoterapötikler. *Farmakoloji Ders Kitabı*, AÖF Yayınları, Eskişehir, 121-163s.
59. Matalon, S. T., Ornoy, A., and Lishner, M. (2004). Review of the potential effects of three commonly used antineoplastic and immunosuppressive drugs (cyclophosphamide, azathioprine, doxorubicin on the embryo and placenta). *Reproductive toxicology (Elmsford, NY)*, 18(2), 219-230.
60. Anderson, D., Bishop, J. B., Garner, R. C., Ostrosky-Wegman, P., and Selby, P. B. (1995). Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks. *Mutation research/fundamental and molecular mechanisms of mutagenesis*, 330(1-2), 115-181.
61. Humphrey, P. R., Maureen, M. D., and Ritter, J. M. (Eds.). (2012). *Rang & Dale's pharmacology*. Elsevier
62. Bökel, C. (2008). EMS Screens. *In Drosophila* (pp. 119-138). Humana Press.
63. Roberts, S. M., James, R. C., and Williams, P. L. (2014). *Principles of toxicology: environmental and industrial applications*. John Wiley & Sons.
64. Derelanko, M. J., and Auletta, C. S. (2014). *Handbook of toxicology*. CRC press.
65. Akbaba, G. (2004). Genotoksikoloji. *Bilim ve Teknik*. Eylül s.28.
66. Lüleyap, H. Ü. (2008). *Moleküler Genetiğin Esasları*, Nobel Kitabevi. İzmir, 437s.
67. Hoffman, G. R. (1991). Casaret and Doull's Toxicology. *The Basic Science of Poisons*. Pergamon Pres, New York, 201-217.
68. Bedir, A., Bilgici, B., Yurdakul, Z., Gürsel, B. Ş., ve Alvir, M. (2004). DNA Hasarı Analizinde μ -FADU ve COMET Yöntemlerinin Karşılaştırılması. *Türk Klinik Biyokimya Dergisi*, 2(3), 97-103.
69. Başaran, A.A. (2002). Farmakognezide tek hücre jel elektroforezi uygulamaları. 14. *Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*. Bildiriler.
70. Graf, U., Abraham, S. K., Guzmán-Rincón, J., and Würgler, F. E. (1998). Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 402(1-2), 203-209.
71. Kaya, B., Yanikoğlu, A., Creus, A., and Marcos, R. (2000). Genotoxicity testing of five herbicides in the *Drosophila* wing spot test. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 465(1-2), 77-84.

72. Guzmán-Rincón, J., and Graf, U. (1995). *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor. *Environmental Science Research*, 50, 169-182.
73. Graf, U., Würgler, F. E., Katz, A. J., Frei, H., Juon, H., Hall, C. B., and Kale, P. G. (1984). Somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental mutagenesis*, 6(2), 153-188.
74. Henderson, D. S. (2004). Whole-Mount Fluorescence In Situ Hybridization to Chromosomes of Embryos. In *Drosophila Cytogenetics Protocols* (pp. 235-247). Humana Press.
75. Ayar, A. (2013). *Bazı Parabenlerin Genotoksik Etkilerinin in vivo ve in vitro Şartlarda Kısa Süreli Test Teknikleri İle Belirlenmesi*. Doktora tezi, Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü. Erzurum.
76. İnternet: URL: <https://www.the-scientist.com/features/instant-messaging-39706>.
77. Potter, C. J., Trenchalk, G. S., and Xu, T. (2000). *Drosophila* in cancer research: an expanding role. *Trends in Genetics*, 16(1), 33-39.
78. Prokop, A. (2016). Fruit flies in biological research. *Biological Sciences Review*, 28(2), 2-5.
79. Adams, M. D., Celniker, S. E., Holt, R. A., Evans, C. A., Gocayne, J. D., Amanatides, P. G., and George, R. A. (2000). The genome sequence of *Drosophila melanogaster*. *Science*, 287(5461), 2185-2195.
80. Reiter, L. T., Potocki, L., Chien, S., Gribskov, M., and Bier, E. (2001). A systematic analysis of human disease-associated gene sequences in *Drosophila melanogaster*. *Genome research*, 11(6), 1114-1125.
81. İnternet: URL: <https://droso4schools.wordpress.com/why-fly>.
82. Bier, E. (2005). *Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics. *Nature Reviews Genetics*, 6(1), 9.
83. Mohr, S. E. (2018). *First in Fly: Drosophila Research and Biological Discovery*. Harvard University Press.
84. İnternet: URL: <https://evrimagaci.org/meyve-sineklerinde-beyin-gelisimi-insan-beyni-ve-insanlarda-beyin-gelisimi-ile-benzerlikler-414>.
85. Allocca, M., Zola, S., and Bellosta, P. (2018). The Fruit Fly, *Drosophila melanogaster*: Modeling of Human Diseases (Part II). In *Drosophila melanogaster-Model for Recent Advances in Genetics and Therapeutics*. IntechOpen.
86. Hales, K. G., Korey, C. A., Larracuent, A. M., and Roberts, D. M. (2015). Genetics on the fly: a primer on the *Drosophila* model system. *Genetics*, 201(3), 815-842.

87. Lindsley, D. L., and Zimm, G. G. (2012). *The genome of Drosophila melanogaster*. Academic Press.
88. Kotan, R., Cakir, A., Dadasoglu, F., Aydin, T., Cakmakci, R., Ozer, H., and Dikbas, N. (2010). Antibacterial activities of essential oils and extracts of Turkish Achillea, Satureja and Thymus species against plant pathogenic bacteria. *Journal of the Science of Food and Agriculture*, 90(1), 145-160.
89. Idaomar, M., El Hamss, R., Bakkali, F., Mezzoug, N., Zhiri, A., Baudoux, D., Muñoz-Serrano, A., Liemans, V. and Alonso-Moraga, A. (2002). Genotoxicity and antigenotoxicity of some essential oils evaluated by wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 513(1-2), 61-68.
90. Munerato, M. C., Sinigaglia, M., Reguly, M. L., and de Andrade, H. H. R. (2005). Genotoxic effects of eugenol, isoeugenol and safrole in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 582(1-2), 87-94.
91. Carmona, E. R., Creus, A., and Marcos, R. (2011). Genotoxicity testing of two lead-compounds in somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 724(1-2), 35-40.
92. Negishi, T., Arimoto, S., Nishizaki, C., and Hayatsu, H. (1989). Inhibitory effect of chlorophyll on the genotoxicity of 3-amino-1-methyl-5 H-pyrido [4, 3-b indole (Trp-P 2). *Carcinogenesis*, 10(1), 145-149.
93. Graf, U., and Würgler, F. E. (1996). The somatic white-ivory eye spot test does not detect the same spectrum of genotoxic events as the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Environmental and molecular mutagenesis*, 27(3), 219-226.
94. Zordan, M., Osti, M., Pesce, M., and Costa, R. (1994). Chloral hydrate is recombinogenic in the wing spot test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Genetic Toxicology*, 322(2), 111-116.
95. Szabad, J., Soós, I., Polgár, G., and Héjja, G. (1983). Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mosaic and the sex-linked recessive lethal tests. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 113(2), 117-133.
96. Wurgler, F. E. (1986). In vivo mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster*. *Chemical Mutagens*, 10, 1-72.
97. Abraham, S. K. (1994). Antigenotoxicity of coffee in the *Drosophila* assay for somatic mutation and recombination. *Mutagenesis*, 9(4), 383-386.
98. Frei, H., and Würgler, F. E. (1988). Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or

- inconclusive result. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 203(4), 297-308.
99. Petrovska, B. B. (2012). Historical review of medicinal plants' usage. *Pharmacognosy reviews*, 6(11), 1-5.
 100. Rakotoarivelo, N. H., Rakotoarivony, F., Ramarosandratana, A. V., Jeannoda, V. H., Kuhlman, A. R., Randrianasolo, A., and Busmann, R. W. (2015). Medicinal plants used to treat the most frequent diseases encountered in Ambalabe rural community, Eastern Madagascar. *Journal of ethnobiology and ethnomedicine*, 11(1), 68.
 101. Mahmoud, T., and Gairola, S. (2013). Traditional knowledge and use of medicinal plants in the Eastern Desert of Egypt: a case study from Wadi El-Gemal National Park. *Journal of Medicinal Plants*, 1(6).
 102. Hosseinzadeh, S., Jafarikukhdan, A., Hosseini, A., and Armand, R. (2015). The application of medicinal plants in traditional and modern medicine: a review of *Thymus vulgaris*. *International Journal of Clinical Medicine*, 6(09), 635-642.
 103. Panchal, K., and Tiwari, A. K. (2017). *Drosophila melanogaster* "a potential model organism" for identification of pharmacological properties of plants/plant-derived components. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 89, 1331-1345.
 104. Fulda, S., Gorman, A. M., Hori, O., and Samali, A. (2010). Cellular stress responses: cell survival and cell death. *International journal of cell biology*, 1-23.
 105. Shukla, A. K., Pragma, P., Chaouhan, H. S., Tiwari, A. K., Patel, D. K., Abdin, M. Z., and Chowdhuri, D. K. (2014). Heat shock protein-70 (Hsp-70) suppresses paraquat-induced neurodegeneration by inhibiting JNK and caspase-3 activation in *Drosophila* model of Parkinson's disease. *PLoS One*, 9(6).
 106. McCall, K., Peterson, J. S., and Pritchett, T. L. (2009). Detection of cell death in *Drosophila*. In *Apoptosis*. Humana Press, Totowa, NJ, 343-356.
 107. Denton, D., and Kumar, S. (2015). Studying apoptosis in *Drosophila*. *Cold Spring Harbor Protocols*, (7), pdb-top 070433.
 108. Pant, D. C., Dave, M., and Tiwari, A. K. (2013). Wheatgrass (*Triticum aestivum* L.) supplementation promotes longevity in *Drosophila melanogaster*. *Annals of plant sciences*, 2(01), 49-54.
 109. Panchal, K., Patel, K., and Tiwari, A. K. (2016). Dietary supplementation of citric acid (monohydrate) improves health span in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Applied Biology & Biotechnology Vol*, 4(02), 060-066.
 110. Nichols, C. D., Becnel, J., and Pandey, U. B. (2012). Methods to assay *Drosophila* behavior. *Journal of Visualized Experiments*, (61).

111. Hirth, F. (2010). *Drosophila melanogaster* in the study of human neurodegeneration. *CNS & Neurological Disorders-Drug Targets (Formerly Current Drug Targets-CNS & Neurological Disorders)*, 9(4), 504-523.
112. Céspedes, M. A., Galindo, M. I., and Couso, J. P. (2010). Dioxin toxicity *in vivo* results from an increase in the dioxin-independent transcriptional activity of the aryl hydrocarbon receptor. *PLoS One*, 5(11).
113. Iyer, J., Wang, Q., Le, T., Pizzo, L., Grönke, S., Ambegaokar, S. S., and Artero, R. (2016). Quantitative assessment of eye phenotypes for functional genetic studies using *Drosophila melanogaster*. *G3: Genes, Genomes, Genetics*, 6(5), 1427-1437.
114. Edgecomb, R. S., Harth, C. E., and Schneiderman, A. M. (1994). Regulation of feeding behavior in adult *Drosophila melanogaster* varies with feeding regime and nutritional state. *Journal of Experimental Biology*, 197(1), 215-235.
115. Melcher, C., and Pankratz, M. J. (2005). Candidate gustatory interneurons modulating feeding behavior in the *Drosophila* brain. *PLoS biology*, 3(9).
116. Bauer, J. H., Goupil, S., Garber, G. B., and Helfand, S. L. (2004). An accelerated assay for the identification of lifespan-extending interventions in *Drosophila melanogaster*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 101(35), 12980-12985.
117. Inford, N. J., Bilgir, C., Ro, J., and Pletcher, S. D. (2013). Measurement of lifespan in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Visualized Experiments*, (71).
118. Rand, M. D., Montgomery, S. L., Prince, L., and Vorobjeikina, D. (2014). Developmental toxicity assays using the *Drosophila* model. *Current protocols in toxicology*, 59(1), 1-12.
119. Cragg, G. M., and Newman, D. J. (2005). Plants as a source of anti-cancer agents. *Journal of ethnopharmacology*, 100(1-2), 72-79.
120. Frölich, A., and Würzler, F. E. (1990). *Drosophila* wing-spot test: improved detectability of genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 234(2), 71-80.
121. Sarıkaya, R. (2005). *Sodyum nitrit, sodyum nitrat, potasyum nitrit ve potasyum nitrat'in genotoksik etkisinin somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile araştırılması*, Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
122. Fernandes, L. M., da Rosa Guterres, Z., Almeida, I. V., and Vicentini, V. E. P. (2017). Genotoxicity and Antigenotoxicity Assessments of the Flavonoid Vitexin by the *Drosophila melanogaster* Somatic Mutation and Recombination Test. *Journal of medicinal food*, 20(6), 601-609.
123. Carmona, E. R., Reyes-Díaz, M., Parodi, J., and Inostroza-Blancheteau, C. (2017). Antimutagenic evaluation of traditional medicinal plants from South America

Peumus boldus and *Cryptocarya alba* using *Drosophila melanogaster*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 80(4), 208-217.

124. Demir, E., Kaya, B., Marcos, R., Cenkci, S. K., and Çetin, H. (2013). Investigation of the genotoxic and antigenotoxic properties of essential oils obtained from two *Origanum* species by *Drosophila* wing SMART assay. *Turkish Journal of Biology*, 37(2), 129-138.
125. Sarıkaya, R., Erciyas, K., Kara, M. I., Sezer, U., Erciyas, A. F., and Ay, S. (2016). Evaluation of genotoxic and antigenotoxic effects of boron by the somatic mutation and recombination test (SMART) on *Drosophila*. *Drug and chemical toxicology*, 39(4), 400-406.
126. Amkiss, S., Dallouh, A., Idaomar, M., and Amkiss, B. (2013). Genotoxicity and antigenotoxicity of fennel plant (*Foeniculum vulgare* Mill) fruit extracts using the somatic mutation and recombination test (SMART). *African Journal of Food Science*, 7(8), 193-197.
127. Ayar, A., Kilic, D. D., Baskan, C., and Yildirim, T. (2018). Genotoxic and Antigenotoxic Effects of Some Plant Species of Lamiaceae Family1. *European Journal of Science and Technology*, (14), 348-352.
128. Prakash, G., Hosetti, B. B., and Dhananjaya, B. L. (2014). Antimutagenic effect of *dioscorea pentaphylla* on genotoxic effect induced by methyl methanesulfonate in the *Drosophila* wing spot test. *Toxicology international*, 21(3), 258.
129. Askin, H., Yilmaz, B., Bakirci, S., and Ayar, A. (2018). Simultaneous determination of α -amyrin and β -sitosterol in *Centranthus longiflorus* Stev. Subsp. *longiflorus* Stev and *Iris taochia* Woronow ex Grossh by GC-MS method. *Progress in Nutrition*, 20(1-S), 209-217.
130. Fernández-Bedmar, Z., Anter, J., de La Cruz-Ares, S., Muñoz-Serrano, A., Alonso-Moraga, Á., and Pérez-Guisado, J. (2011). Role of citrus juices and distinctive components in the modulation of degenerative processes: genotoxicity, antigenotoxicity, cytotoxicity, and longevity in *Drosophila*. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part A*, 74(15-16), 1052-1066.
131. Kızılet, H., Kasimoğlu, C., and Uysal, H. (2013). Can the *Rosa canina* plant be used against alkylating agents as a radical scavenger. *Polish Journal of Environmental Studies*, 22, 1263-1267.
132. Kumar, K. B. H., and Kuttan, R. (2005). Chemoprotective activity of an extract of *Phyllanthus amarus* against cyclophosphamide induced toxicity in mice. *Phytomedicine*, 12(6-7), 494-500.
133. Abraham, P., and Isaac, B. (2011). Ultrastructural changes in the rat kidney after single dose of cyclophosphamide-possible roles for peroxisome proliferation and lysosomal dysfunction in cyclophosphamide-induced renal damage. *Human & experimental toxicology*, 30(12), 1924-1930.

134. Spanó, M. A., Frei, H., Würzler, F. E., and Graf, U. (2001). Recombinagenic activity of four compounds in the standard and high bioactivation crosses of *Drosophila melanogaster* in the wing spot test. *Mutagenesis*, 16(5), 385-394.
135. Dogan, E., and Yesilada, E. (2015). Evaluation of genotoxic and antigenotoxic activities of resveratrol in the wing spot test of *Drosophila*. *International Journal of Biosciences*, 7(2), 86-95.
136. Zijlstra, J. A., and Vogel, E. W. (1989). Influence of metabolic factors on the mutagenic effectiveness of cyclophosphamide in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 210(1), 79-92.
137. Kawabata, T. T., Chapman, M. Y., Dong-Hyun, K., Stevens, W. D., and Holsapple, M. P. (1990). Mechanisms of in vitro immunosuppression by hepatocyte-generated cyclophosphamide metabolites and 4-hydroperoxycyclophosphamide. *Biochemical pharmacology*, 40(5), 927-935.
138. Senthilkumar, S., Devaki, T., Manohar, B. M., and Babu, M. S. (2006). Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity. *Clinica Chimica Acta*, 364(1-2), 335-342.
139. Turna, F. (2012). *Resveratrol'ün Drosophila Melanogaster'de Antigenotoksik Etkilerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Akdeniz Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Antalya.
140. Kaya, B., Demir, E., Kocaoğlu, S. (2008). *Drosophila Kanat Benek Testinde Alkilleyici Ajanlara Karşı Turunç Kabuğu Yağının Antigenotoksik Etkisi*. 19. *Ulusal Biyoloji Kongresi Özetler*. 23-27 Haziran, Trabzon, (PZ-177), 551.
141. Uysal H., Kızılet H., Ayar A., Taheri A. (2015). The Use of Endemic Iranian Plant *Echium amoenum* Against The Ethyl Methanesulfonate and the Recovery Of Mutagenic Effects. *Toxicology and Industrial Health*, 44-51.
142. Rigano, D., Conforti, F., Formisano, C., Menichini, F., and Senatore, F. (2009). Comparative free radical scavenging potential and cytotoxicity of different extracts from *Iris pseudopumila* Tineo flowers and rhizomes. *Natural product research*, 23(1), 17-25.
143. Oğuzacan, A.F. (2016). *In Vitro Ortamda Iris unguicularis, Iris suaveolens ve Iris histrio Bitki Ekstraktlarının MCF7 Meme Kanseri Hücre Hattı Üzerindeki Antikanser Aktivitesinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
144. Erdem, M. (2014). *Endemik Iris junonia'nın Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
145. Başgedik, B. (2013). *Iris germanica, Iris albicans, Gladiolus illyricus, Romulea ramiflora'nın Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Muğla Sıtkı Koçman Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Muğla.

146. Movaket, S. (2014). *Iris sarı Schott Ex Baker'in Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
147. Hacıbekiroğlu, I. (2014). *Iris suaveolens'ten Elde Edilen Bileşiklerin Yapı Tayini Ve Antioksidan Aktivitelerinin Belirlenmesi*, Yüksek Lisans Tezi, İstanbul Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
148. Abed, E. (2014). *Iris kirkwoodii'nin Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
149. Ertürk, O. (2005). *Endemik Iris galatica'nın Biyolojik Aktivitelerinin Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Gaziantep Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Gaziantep.
150. Crişan, I., and Cantor, M. (2016). New perspectives on medicinal properties and uses of Iris sp. *Hop and Medicinal Plants*, 24(1-2), 24-36.

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Özlem ÖZÇELİK
 Uyuğu : Türkiye Cumhuriyeti
 Doğum tarihi ve yeri : 17.03.1985- Çorum
 Medeni hali : Evli
 e-posta : bio.ozlem.sahin@gmail.com



Eğitim Derecesi

Okul/ProgramMezuniyet Yılı

Lisans	İnönü Üniversitesi	2012
Yüksek Lisans	Amasya Üniversitesi	2019

Yabancı Dili

İngilizce

Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar, Bildiriler, Katıldığı Projeler)

1. Özlem Özçelik, Arif Ayar. Antigenotoxic potential of *Iris taochia* Woronow ex Grossh., an endemic plant from Turkey: In vivo wing somatic test (SMART) on *Drosophila melanogaster*. *7th International Molecular Biology and Biotechnology Congress*, Konya, Turkey, 25-27 April 2018.
2. Burak Yazgan, Özlem Özçelik, Gülin Renda, Tuba Yıldırım, Şevket Kandemir, Nezahat Kandemir, Arif Ayar. Effect of *Iris taochia* (Iridaceae) Plant Extracts on Anti-Cancer Activity in Breast Cancer Cell Line (MCF-7). *International Multidisciplinary Congress of Eurasia*, Barcelona, Spain, July 24-26 2018.
3. MCF-7 Hücre Hattında *Iris taochia* (Iridaceae) den Elde Edilen Isoflavonların Anti-Kanser Aktivitesi, Yükseköğretim Kurumları tarafından destekli bilimsel araştırma projesi, Araştırmacı, 07.07.2018 (ULUSAL).