

**BEYAZ ÇAY (*Camellia sinensis* L.)'İN *Drosophila melanogaster*'de BAZI  
ANTİNEOPLASTİKLERİN NEDEN OLDUĞU MUTAJENİK ETKİ  
ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Mehmet FİDAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2017**

**AMASYA**



**BEYAZ ÇAY (*Camellia sinensis* L.)'İN *Drosophila melanogaster*'de BAZI  
ANTİNEOPLASTİKLERİN NEDEN OLDUĞU MUTAJENİK ETKİ  
ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI**

**Mehmet FİDAN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANA BİLİM DALI**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2017**

**AMASYA**

Mehmet FİDAN tarafından hazırlanan BEYAZ ÇAY (*Camellia sinensis* L.)'İN *Drosophila melanogaster*'de BAZI ANTİNEOPLASTİKLERİN NEDEN OLDUĞU MUTAJENİK ETKİ ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

Yrd. Doç. Dr. Arif AYAR .....  
Tez Danışmanı, BİYOLOJİ Anabilim Dalı

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile BİYOLOJİ Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Tez Danışmanı :Yrd. Doç. Dr. Arif AYAR .....

Üye :Doç. Dr. Tuba YILDIRIM .....

Üye :Yrd. Doç. Dr. Deniz ALTUN ÇOLAK.....

Tarih: ...../...../....

Bu tez ile A.Ü. Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu Yüksek Lisans derecesini onamıştır.

**Doç. Dr. Mehmet KARA** .....

**Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü**

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



**Mehmet FİDAN**

**BEYAZ ÇAY (*Camellia sinensis* L.)'İN *Drosophila melanogaster*'de BAZI  
ANTİNEOPLASTİKLERİN NEDEN OLDUĞU MUTAJENİK ETKİ  
ÜZERİNE KORUYUCU ETKİSİNİN ARAŞTIRILMASI  
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Mehmet FİDAN**

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ARALIK 2017**

**ÖZET**

Beyaz çay, dünyada sudan sonra en fazla tüketilen içecek olan çay (*Camellia sinensis* L.) bitkisinin henüz tam olarak olgunlaşıp açılmamış beyaz tüylerle kaplı yapraklarından soldurma, fırınlama ve fermantasyon gibi işlemlerden geçmeden hazırlanan formudur. Bu çalışmada *Drosophila melanogaster*'de Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile Beyaz Çay (BÇ)'ın Streptozotosin (STZ) ve Siklofosfamid (SF) isimli iki farklı alkilleyici özellikteki antineoplastik kanser ilacının oluşturduğu genotoksik etkiye karşı antigenotoksik etkinliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır. SMART uygulanırken *D. melanogaster*'in genomunda çekinik flare (*flr<sup>3</sup>*) 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, farklı konsantrasyonlarda (0,625; 1,25; 2,50 ve 5 mg/mL) beyaz çay ekstresi ile kronik olarak beslenmiştir. Yapılan bu ön çalışma sonucunda beyaz çayın hiçbir konsantrasyonda genotoksik etki göstermediği belirlenmiştir. Çalışmamızın diğer bölümünde LD<sub>50</sub> değerleri (STZ:0,25 mg/mL, SF:2,5 mg/mL) bulunan iki ilacın da oldukça yüksek genotoksik etkiye sahip

oldukları belirlenmiştir ( $p<0,05$ ). Daha sonra farklı konsantrasyonlarda BÇ ekstresi ile kanser ilaçları eş zamanlı olarak larvalara uygulanmıştır. Elde edilen verilerden BÇ ekstraktının konsantrasyon artışına bağlı olarak kanatlarda benek oluşumunu sağlayan mutasyonları baskılayarak Klon İndüksiyon Frekanslarını (KİF) tüm uygulama gruplarında önemli derecede azalttığı belirlenmiştir. Ayrıca beyaz çayın kanser ilaçlarının oluşturduğu genotoksik etkiyi hangi oranlarda azaltığının tespiti için yapılan %İnhibisyon oranları incelendiğinde 0,25STZ+2,5BÇ uygulama grubunda bu oranın %55,79; 2,5SF+5BÇ uygulama grubunda ise %60,00 olduğu tespit edilmiştir. Sonuç olarak kanser tedavilerinde kullanılan Streptozotosin ve Siklofosamid ilaçlarının sağlıklı hücrelerde de genotoksik etkiler yaratabileceği bu etkilerin ise beyaz çay tüketimi ilavesiyle azaltılabileceği kanaatine varılmıştır.

Bu çalışma Amasya Üniversitesi BAP Koordinasyon Birimi tarafından FMB-BAP 15-0113 kodlu projeye desteklenmiştir.

**Anahtar Sözcükler:** Antigenotoksisite, SMART, Streptozotosin, Siklofosamid, Beyaz çay, Kanser ilacı

**RESEARCH OF WHITE TEA'S (*Camellia sinensis* L.) PROTECTIVE  
EFFECT ON *Drosophila melanogaster*, REGARDING MUTAGENIC EFFECT  
CAUSED BY CERTAIN ANTINEOPLASTICS**

**(Master's Thesis)**

**Mehmet FİDAN**

**AMASYA  
UNIVERSITY**

**INSTITUTE OF SCIENCE**

**DECEMBER 2017**

**ABSTRACT**

White tea is a form of the world's most popular non-water beverage, tea plant (*Camellia sinensis* L.), made from buds and immature tea leaves picked before the buds have fully opened, before the leaves have lost their white hair, without being subjected to procedures such as withering, drying and fermentation. In the present study, it has been aimed to determine the antigenotoxic activity of White Tea, against the genotoxic effect caused by two different alkylating antineoplastic cancer drugs Streptozotocin (STZ) and Cyclophosphamide (CP) in *Drosophila melanogaster* through the Somatic Mutation and Recombination Test (SMART). During the application of SMART, two different mutant strains were used in the genome of *D. melanogaster*, with the determinant genes being respectively recessive flare (*flr<sup>3</sup>*) and multiple wing hairs (*mwh*). Trans-heterozygote larvae of 72± hours, obtained through crossbreeding of these two mutant strains, were chronically fed with white tea extract of different concentrations (0,625; 1,25; 2,50 and 5 mg/mL). In consequence of the relevant preliminary study performed, it was determined, white tea displayed no genotoxic effect, regardless of the concentration. In our study, the LD<sub>50</sub> values of the relevant drugs were also found (STZ: 0,25 mg/mL, CP: 2,5 mg/mL), and it



was determined, both drugs have a fairly high genotoxic effect ( $p < 0,05$ ). Afterwards, white tea extracts of different concentrations were applied to larvae simultaneously with cancer drugs. From the data obtained, it was determined that white tea extract, significantly reduced the Clone Induction Frequencies (CIF) in all treatment groups, by suppressing mutations enabling the formation of spots in wings, in parallel with increasing concentration. Also, when the Inhibition percentage rates were subjected to examination in order to determine white tea's reduction rate of genotoxic effect caused by cancer drugs, it was determined that the relevant rate was 55,79% in the 0,25STZ+2,5White Tea treatment group, and 60,00% in the 2,5SF+5White Tea treatment group. In conclusion, it was satisfied that, Streptozotocin and Cyclophosphamide drugs used in cancer treatments may create genotoxic effects even in healthy cells, and these effects may be reduced by additional white tea consumption.

The present study were supported by Scientific Research Projects Coordination Unit of Amasya University, through the project with the code no. FMB-BAP 15-0113.

**Keywords:** Antigenotoxicity, SMART, Streptozotocin, Cyclophosphamide, White tea, Cancer drug

## TEŞEKKÜR

Çalıőmalarım boyunca değerli yardım ve katkılarıyla beni yönlendiren Hocam Yrd. Doç. Dr. Arif AYAR'a ve süreç içerisinde sineklerin bakımında ve laboratuvar işlerinde beni hiçbir zaman yalnız bırakmayan çok değerli kızım Zeynep FİDAN'A teőekkürü bir borç bilirim.



Mehmet FİDAN

## İÇİNDEKİLER

ÖZET .....	iv
ÖZET .....	vi
TEŞEKKÜR.....	viii
İÇİNDEKİLER.....	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ.....	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ.....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	xiii
1. GİRİŞ.....	1
2. GENEL BİLGİLER .....	5
2.1. <i>Camellia sinensis</i> (L.) Kuntze (Çay)'in Genel Özellikleri.....	5
2.2. Beyaz Çay.....	7
2.3. Antineoplastikler .....	9
2.3.1. Alkilleyici Ajanlar .....	11
2.4. Genetik Toksikoloji.....	14
2.4.1. Genetik toksikolojide kullanılan bazı test teknikleri.....	15
3. MATERYAL ve METOT .....	18
3.1. Materyal.....	18
3.1.1. <i>Drosophila melanogaster</i> Meigen .....	18
3.1.2. Çalışmada kullanılan antineoplastik alkilleyici ajanlar .....	24
3.1.3. Beyaz Çay.....	29
3.2. Metot.....	29
3.2.1. Bitki ekstraksiyonu .....	29
3.2.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART).....	31
4. BULGULAR .....	39
4.1. Trans-heterozigot Larvalar İçin Hayatta Kalış Oranlarının (Larval Mortalite) Belirlenmesi.....	39
4.2. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile Elde Edilen Bulgular .....	41
4.2.1. Etil metansülfonat (EMS) uygulaması sonucu SMART ile elde edilen bulgular .....	44
4.2.2. Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen bulgular.....	46
4.2.3. Antineoplastik ilaç uygulaması sonucu SMART ile elde edilen bulgular .....	48
4.2.4. Streptozotosin ve Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen bulgular .....	50
4.2.5. Siklofosfamid ve Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen bulgular .....	52

5. TARTIŞMA VE SONUÇ .....	54
6. KAYNAKLAR.....	65



## ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Kemoterapötik ajanlar, etki mekanizmaları ve yan etkileri .....	10
Çizelge 3.1. Drosophila standart Lewis besiyeri içeriği.....	21
Çizelge 3.2. Faure solüsyonunun içeriği .....	35
Çizelge 3.3. Hipotezlerin değerlendirilmesi tablosu .....	38
Çizelge 4.1. Farklı konsantrasyonlarda beyaz çay ile kronik olarak beslenen trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları .....	39
Çizelge 4.2. Farklı konsantrasyonlarda streptozotosine maruz kalan trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları.....	40
Çizelge 4.3. Farklı konsantrasyonlarda siklofosfamide maruz kalan trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları .....	40
Çizelge 4.4. EMS uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri .....	45
Çizelge 4.5. Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri .....	47
Çizelge 4.6. Antineoplastik ilaçların uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri.....	49
Çizelge 4.7. Streptozotosin ve Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri .....	51
Çizelge 4.8. Siklofosfamid ve Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri .....	53

## ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. Beyaz çay .....	7
Şekil 3.1. <i>D. melanogaster</i> ' in hayat döngüsü.....	20
Şekil 3.2. <i>D. melanogaster</i> 'in erkek, dişi ve virgin bireyleri .....	21
Şekil 3.3. Normal, <i>Flare</i> ve <i>mwh</i> kanat kılı tipleri.....	22
Şekil 3.4. Normal (a) ve Serrat (b) kanatlar .....	23
Şekil 3.5. Belirleyici genlerin üçüncü kromozom üzerindeki dizilişleri.....	24
Şekil 3.6. Alkilleyici ajanların etki mekanizmaları .....	26
Şekil 3.7. Streptozotosin'in moleküler yapısı .....	27
Şekil 3.8. Siklofosfamid'in moleküler yapısı.....	28
Şekil 3.9. Beyaz çay tomurcukları ve gümüş beyaz tüyler.....	29
Şekil 3.10. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğünden temin edilen Beyaz Çay.....	30
Şekil 3.11. Liyofilizatörde işlem gören beyaz çay numuneleri .....	32
Şekil 3.12. <i>D. melanogaster</i> 'de imajinal diskler ve oluşturdukları vücut kısımları.....	33
Şekil 3.13. Çeşitli kanat benek tipleri.....	35
Şekil 3.14. Normal ve serrat kanat fenotiplerine ait sektörler .....	41
Şekil 4.1. Normal kanat kıllarının mikroskop görüntüsü .....	42
Şekil 4.2. Küçük tekli <i>mwh</i> benek taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü .....	42
Şekil 4.3. Büyük tekli <i>mwh</i> benek taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü .....	21
Şekil 4.4. Büyük tekli <i>flr<sup>3</sup></i> benek taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü.....	43
Şekil 4.5. İkiz benek ( <i>mwh + flr<sup>3</sup></i> ) taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü.....	43

## SİMGELER VE KISALTMALAR

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

### Simgeler

### Açıklama

<i>BdS</i>	Beaded Serrate
BiCNU	Karmustin
BrdU	Bromodeoksiüridin
cm	Santimetre
°C	Santigrat derece
COOH	Karboksil Grubu
dk	Dakika
<i>flr</i>	Flare
<i>mwh</i>	Multiple wing hair
g	Gram
mg	Miligram
µg	Mikrogram
µM	Mikromolar
ml	Mililitre
mM	Milimolar
mm	Milimetre
<i>TM3</i>	Dengeleyici kromozom
%	Yüzde
♂	Erkek
♀	Dişi

### Kısaltmalar

### Açıklama

DNA	Deoksiribonükleik asit
DTIC	Dakarbazin
DMSO	Dimetil sülfoksid
EC	Epikateşin
ECG	Epikateşin-3-gallat

EGC	Epigallokateşin
EGCG	Epigallokateşin-3-gallat
EMS	Etil metansülfonat
GC	Gallokateşin
GCG	Gallokateşingallat
H0	Orijinal (null) hipotez
Ha	Alternatif hipotez
HIV	İnsan Bağışıklık Yetmezlik Virüsü
HT	Hipertansiyon
IARC	Uluslararası Kanser Araştırma
KDH	Kalp Damar Hastalıkları
KİF	Klon indüksiyon frekansı
KKH	Koroner Kalp Hastalıkları
KKD	Kardeş Kromatit Değişimi
LD <sub>50</sub>	Bir popülasyondaki bireylerin yarısını öldüren doz
LDL	Düşük Yoğunluklu Kolesterol
M	Molar
M.Ö	Milattan Önce
MN	Mikronükleus Testi
NH <sub>2</sub>	Amin grubu
SCGE	Tek Hücre Jel Elektroforezi
SF	Siklofosamid
SDB	Standart <i>Drosophila</i> besiyeri
SH	Standart Hazır Besiyeri
SLRLT	Eşeye bağlı resesif letal mutasyon testi
SMART	Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi
STZ	Streptozotosin
TB	Thearubigin
TF	Theaflavin
TR	Thearubigin



## 1. GİRİŞ

Hücrelerin DNA'larında meydana gelen genetik ve epigenetik düzeydeki hatalar neticesinde kontrolsüz bir şekilde büyüyüp bölünerek oluşturdukları hücreler kanser olarak tanımlanmaktadır [1, 2].

Kanser, 2014 yılında Uluslararası Kanser Araştırmaları Ajansı (IARC) tarafından hazırlanan rapora göre dünyada bir numaralı ölüm nedeni haline gelmiştir [3]. İnsidansı son yıllarda oldukça artan kanserin, farklı tedavi yöntemleri kullanılmasına rağmen ortadan tamamen kaldırılabilmesi için henüz herhangi bir tedavi geliştirilememiştir [4].

İnsan hücrelerindeki DNA, hem endojen hem de eksojen ajanlara maruz kalarak devamlı hasara uğramaktadır. İyonize veya ultraviyole radyasyon, 4000 kadar kimyasal madde karışımını içeren tütün veya tütün ürünleri, insan yapımı kimyasallar olarak niteleyebileceğimiz trafik ve çevre kirliliği ile kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötik ilaçlar insanların temas halinde olabileceği mutajen ajanlardan sadece birkaç tanesidir [5].

Kemoterapi nadiren tek başına, genellikle diğer yöntemlerle birlikte intravenöz ve/veya oral yolla tümör hücrelerinin yok edilmesi için uygulanan antineoplastik veya sitotoksik ilaçlar olarak da isimlendirilen kimyasallarla yapılan tedaviye verilen genel isimdir [6].

Antineoplastik ilaçların çoğu antitümör özelliklerini doğrudan DNA üzerine etki ederek ya da hücre bölünmesini önleyerek göstermektedirler. Bununla birlikte ideal bir kanser ilacının sadece tümör hücrelerini hedef alması ve sitotoksik veya sitostatik etki ile tümör çoğalmasını azaltması beklenmektedir. Antineoplastik ilaçların terapötik indeksleri, antimikrobik ilaçlara göre genellikle çok düşük olup bunun yanında mutajenik, teratojenik, karsinojenik toksik etkileri de vardır. Toksik etkilerin başında, kemik iliği üzerinde supresyon yapmaları gelmektedir [7].

Antineoplastik ilaçlar etki mekanizmalarına göre 6 gruba ayrılır. Bunlar alkilleyici ajanlar, antimetabolitler, antibiyotikler, vinka alkaloidleri, hormonlar ve diğer ilaçlar şeklindedir [8]. Çalışmamızda kullanılan streptozotosin ve siklofosfamid bu gruplardan alkilleyici ajanlar içinde yer almaktadır.

Alkilleyici ilaçların etki mekanizmasına baktığımızda, çoğu kanserli hücrede kendilerine uyan etilenimonyum türevlerine ve daha sonra pozitif yüklü karbon içeren karbonyum türevlerine dönüştükleri görülmektedir. Karbonyum iyonu, güçlü elektrofilik özelliği olan reaktif bir metabolittir ve negatif yüklü nükleik asitlerin özellikle de DNA'nın, diğer makromoleküllerin içerdiği amino, fosfat, tiyol, hidroksil, imidazol ve karboksil grupları gibi nükleofilik gruplara kovalent bağlarla geri dönüşümsüz olarak bağlanmakta ve böylece alkillenme gerçekleşmiş olmaktadır [9].

Azotlu hardallar grubunda yer alan Siklofosfamid (SF), alkilleyici ilaçlardan en fazla kullanılan, doku irritasyonu oluşturmayan, geniş spektrumlu ve güçlü immunosupresif etkinlik gösteren bir antineoplastik ilaçtır. En spesifik yan etkisi kanamalı mesane enfeksiyonu olarak bilinen hemorajik sistittir [7].

Çalışmamızda kullanılan diğer antineoplastik ajan ise Streptozotosin (Streptozosin, Zanosar, STZ)'dir. Onkolitik ve diyabetojenik özellikleriyle birlikte antibiyotik ve antikanser ajan olarak kullanılan streptozotosin 1960'da *Streptomyces achromogenes* kültüründen izole edilmiştir [10-12]. Genellikle intravenöz ya da intraarteriel yoldan verilip pankreas langerhans adacığı hücreleri tarafından selektif olarak alınır. İnsülin salgılandığı veya salgılanmaması, metastatik pankreas adacık hücresi tümörlerinin tedavisinde kullanılır. Bu bileşik malign karsinoid tümöre de etkilidir. En önemli yan etkileri ise renal tübüler asidoz, proteinüri ve azotemidir [13].

Kemoterapötik ilaçlar hem kemoterapi uygulanan bireyde hem de bu ilaçla temas eden sağlık görevlilerinde DNA hasarları oluşturabilmesi açısından da önem taşımaktadır. Bununla birlikte antitümör tedavisinde kullanılacak olan yeni ya da eski antineoplastik maddelerin *in vitro* ya da *in vivo* test sistemleriyle genotoksik

etkilerinin değerlendirilmesi oldukça önem arz etmektedir [14]. Bu nedenle çalışmamızda iki farklı antineoplastik maddenin olası genotoksik etkilerinin belirlenmesi için *in vivo* bir genotoksisite testi olan *Drosophila melanogaster* kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) kullanılması amaçlanmıştır. SMART; nokta mutasyonu, delesyon, kararsız translokasyon, mitotik rekombinasyon ve kromozom kaybı veya ayrılmama gibi, belirli kromozom aberasyonlarının genetik sonuçlarının geniş yelpazesinin saptanmasına izin veren önemli bir genotoksisite test sistemidir [15-17].

Genotoksisite, fiziksel ya da kimyasal ajanlar (mutajen ve kanserojenler) tarafından genetik materyalde meydana gelen hasar oluşumu şeklinde tanımlanmaktadır. Söz konusu ajanlar hem bireyin kendisini, hem de sonraki jenerasyonları etkileyebilecek anormallikler ortaya çıkarabilmektedir. Bunun için kimyasal ajanların genotoksik etkilerinin araştırılmasında farklı canlı gruplarını kapsayan çeşitli test yöntemleri geliştirilmiştir. Kısa süreli mutajenite ve kanserojenite testleri olarak bilinen bu yöntemler, bir kimyasalın potansiyel mutajen ve kanserojen olup olmadığının belirlenmesinde kullanılmaktadır [18-24]. Genotoksisite testleri ile çeşitli maddelerin mutasyonlara, kromozom anormalliklerine veya DNA hasarlarına sebep olup olmadığı belirlenebilmektedir. Bu testler 1970'lerin sonundan beri kimyasalların güvenilirliğinin değerlendirilmesinde temel noktayı oluşturmaktadır [25].

Gerçekte spesifitenin az olması nedeniyle çoğu antineoplastik ilacın vücutta patolojik biçimde çoğalmakta olan kanser hücrelerini yok ettikleri gibi, hızlı biçimde çoğalmakta olan normal hücreleri de yok ettikleri ve bu nedenle kanser ilacının kemik iliği, kan hücreleri ve diğer hızlı çoğalan hücreleri içiren dokular üzerine de yan etkilerinin olduğu bilinmektedir [26-28]. Bu yan etkilerin neler olduğu ya da nasıl ortadan kaldırılacağı sürekli olarak araştırılan önemli bir konudur. Son yıllarda, tıbbi ve aromatik bitkiler ile bunlardan elde edilen aktif maddelere gösterilen ilginin artması, bu bitkilerin insan sağlığı üzerindeki etkilerini saptamaya yönelik çalışmaları da gündeme getirmiştir. Literatürde özellikle yan etkilerin giderilmesinde bitkisel ürünlerin kullanıldığı birçok çalışma mevcuttur [29-35].

Ayrıca antineoplastik ilaçların biyolojik sistemde oksidatif stres oluşumunu artırdığı da bilinmektedir. Kanser kemoterapisi sırasında hücrel hedeflere saldırabilen çok sayıda serbest radikal aracılığıyla oksidatif stres ortaya çıkmaktadır. Dolayısıyla kemoterapi, biyolojik sistemde çeşitli yan etkilere neden olmaktadır. Yüksek doz kemoterapi uygulanan hastalarda, plazma antioksidan konsantrasyonu azalma göstermektedir. Kemoterapi sırasında kullanılan antioksidanlar, oksidatif stres ile meydana gelen radikallerin oluşumunu azaltarak tedavi etkinliğini artırabilmektedir [36].

Çalışmamızın ikinci kısmında antineoplastik ilaçların oluşturduğu genotoksik etkinin *Camellia sinensis* (L.) Kuntze bitki türünün bir formu olan beyaz çay bitki ekstresi ile giderilip giderilemeyeceği yine SMART ile araştırılmıştır.

## 2. GENEL BİLGİLER

### 2.1. *Camellia sinensis* (L.) Kuntze (Çay)'in Genel Özellikleri

Yıllardır Uzakdoğu ülkelerinde kullanılan, zamanla Avrupa, Amerika ve diğer bölgelere de yayılan *Camellia sinensis* (Çay), dünyada sudan sonra en fazla tüketilen içecektir [37-39].

Çay ilk olarak M.Ö. 2737 yılında, Çin imparatoru Shen Nung tarafından kaynayan suya bitkinin yapraklarının düşmesi sonucunda tesadüfen bulunmuştur. Oluşan bu farklı renkteki karışımın tadı ve aroması beğenilmiş; önce Çin'e, oradan da tüm dünyaya yayılmıştır [40]. Bugün Hindistan, Çin, Sri Lanka, Japonya ve Tayvan başta olmak üzere yaklaşık 50 ülkede çay üretilmektedir [41].

Çay üretimi Batı'da ilk olarak Batum ile Türkiye'nin Doğu Karadeniz kıyılarına yakın kısımlarında Ruslar tarafından Çin'den getirilen tohumlar vasıtası ile 19. yüzyılda yapılmıştır. Başarılı olduktan sonra, ticari olarak çay üretimi bu amaç için daha geniş alanlara yavaşça genişlemeye başlamıştır [42, 43]. Türkiye'de ise çay yetiştirilmesi için ilk girişim 1888 yılında yapılmıştır. Çin'den getirilen çay fidanları ve tohumlar Bursa bölgesinde denenmiş; fakat iklim ve ekolojik koşulların uygun olmaması sebebiyle sonuç alınamamıştır. Daha sonra, Doğu Karadeniz Bölgesi'nin çay yetiştiriciliği için uygun ekolojik koşullara sahip olduğunu belirten bir rapor üzerine, bu bölgelerde ekim çalışmaları yapılmış ve Rize bölgesinde 1939 yılında çay elde edilmeye başlanmıştır [40, 44].

Nemli iklimlerde yetişen bitkilerin yapraklarından elde edilen çayın *Camellia sinensis* ve *Camellia assamica* olmak üzere iki ana türü vardır. Çin'e özgü *Camellia sinensis*, uzun ömürlü ve soğuk havaya dayanabilen bir yapıya sahip olup, küçük yapraklardan oluşmaktadır. Assam'da (Hindistan'ın Çin'e bakan iç tarafları) yetiştirilen *Camellia assamica* ise daha büyük, bir ağaç gibi yapraklara sahip, daha

hassas, aromatik, kısa ömürlü olup tropikal ve yağışlı bölgelerde kolay bir şekilde yetiştirilmektedir [40].

Çay ieeğinin genellikle yeşil çay, siyah çay ve oolong çay olarak bilinen üç farklı formu tüketilmektedir. Bunların yanı sıra bazı varyetelerinin tomurcuk ve genç yapraklarından yapılan özel bir çay formu olan beyaz çayın da günümüzde kullanımı giderek artmaktadır. Dünya çapında her yıl ortalama 2 milyon ton çay üretildiği bildirilmektedir. Üretilen bu çayın yaklaşık %20'si yeşil çay olup Asya ve Orta Doğu ülkelerinde; %78'i siyah çay olup en çok batıda ve Asya ülkelerinde; %2'si ise oolong ayı olup Çin'in Güney doğusunda tüketildiği ifade edilmektedir. Benzer kimyasallardan oluşan siyah çay, yeşil çay ve oolong ayının aralarındaki temel fark üretimleri sırasında gerçekleşen kimyasal değişimlerdir. ay bitkisinin uygun varyetelerinin tomurcuk ve yapraklarından üretilen farklı oksidasyon seviyelerine sahip olan siyah, oolong ve yeşil aydan sonra beyaz çay en düşük miktarda üretilen çay formudur [45].

Yapılan çalışmalarla çayın; antioksidatif, antiinflamatuvar, antimutajenik, antikarsinojenik, antianjiyojenik, apoptotik, antiobezite, hipokolesterolemik, antiaterosklerotik, antidiabetik, antibakteriyel, antiviral ve yaşlanmayı geciktirici gibi birçok değişik farmakolojik etkisinin olduğu gösterilmiştir [46-49].

Özellikle kateşin türevleri olmak üzere çay polifenolleri, insan sağlığı üzerinde olumlu etkileri olan güçlü antioksidan ajanlardır. Serbest radikalleri temizleme ve oksidatif stresi baskılama yeteneklerinden dolayı bitkilerin antioksidan içerikleri araştırmacıların oldukça ilgisini çekmektedir. Reaktif türlerin neden olduğu oksidatif hasarın; kardiyovasküler hastalıklar, diyabet, nörodejeneratif hastalıklar ve çeşitli kanser türleri gibi insanlarda sıkça gözükten hastalıkların artışıyla bağlantılı olduğu yıllar boyunca bilinmektedir [50].

Epidemiyolojik çalışmalarda çay tüketiminin kalp krizi, koroner kalp hastalıkları, bazı kanserler ve karaciğer rahatsızlıkları riskini azalttığı da belirlenmiştir [51]. ay bileşiklerinin farelerde karsinogenezi önlediği ayrıca yeşil aydan izole edilen çay

kateşinleri ve teafavinlerin (bilhassa teafavingallat) antiviral ve antibakteriyel etkinliklerinin olduğu tespit edilmiştir [52].

Çay, bileşiminde bulunan biyoaktif maddeler nedeniyle pek çok araştırmacının dikkatini çeken bir içecek olup, literatürde çayın iyileştirici etkinliği üzerine yapılan pek çok çalışma mevcuttur [53-57].

Çay türlerinin bileşenleri arasında, kuru çay ağırlığının yaklaşık %36'sını oluşturan polifenoller çok önemli bir yer tutmaktadır. Taze yeşil çay yaprağının diğer bileşenleri kafein, proteinler, amino asitler, karbonhidratlar, lipidler, vitaminler (B vitamini) ve minerallerdir. Çay ayrıca A, K, C, B vitamini,  $\beta$  karoten ve florür içerir. Yapılan bir çalışmada beyaz çayın diğer çay formlarına oranla en yüksek oranda protein içerdiği saptanmış, bu durumun beyaz çayın hasat edilen kısmının sadece tomurcuk oluşundan kaynaklandığı düşünölmüştür [58, 59].

Yapısal olarak birbirine benzeyen çay formları farklı antioksidan etkilerini, içerdikleri farklı bileşiklerden dolayı göstermektedir. Çayda genel olarak flavonoid grubundan polifenoller fazla miktarda bulunmaktadır. Buna ek olarak polifenol grubundan kateşinler, kateşinlerden de epigallokateşingallat (EGCG)'ın bulunma oranı en yüksektir. Ayrıca epigallokateşin (EGC), epikateşingallat (ECG), epikateşin (EC), kateşin (C), gallokateşin (GC) ve gallokateşingallat (GCG), theafavinler (TF) ve thearubigin (TB) de değişik miktarlarda bulunan diğer bileşiklerdir [60].

## 2.2. Beyaz Çay

Beyaz çay (Şekil 2.1), özellikle Çin'in Fujian ve Zheijang bölgelerinde yetiştirilip toplanan hafif oksitli bir çay formudur [61-63] Önceleri sadece bu bölgelerde geleneksel olarak üretilen beyaz çay, bugün Hindistan, Sri Lanka, Kenya, Vietnam, Doğu Nepal ve çok az da olsa Türkiye'de üretilmektedir [64]. Dünyada yıllık beyaz çay üretimi 2000 ton civarında olup bu miktar siyah çay üretiminin ancak %0,1'lik bir bölümüne denk gelmektedir. Bu üretiminde %90'lık kısmı Çin'de gerçekleşmektedir [65].



**Şekil 2.1.** Beyaz çay

Yeşil ve siyah çay insan sağlığı açısından çok yararlı olmakla birlikte, beyaz çay en az üretilen ve en yüksek düzeyde antioksidan içeren çay çeşidi olarak bilinmektedir [66, 67]. Antioksidanlar, DNA yapısını bozup yaşlanmayı hızlandırarak vücuda zarar veren yapılar olarak bilinen serbest radikallerin zararlı etkilerinden onları bloke edip, nötralize ederek vücudu koruyan bileşiklerdir [68, 69]. Beyaz çayın, bu koruyucu bileşenlerle yüklü olduğu yapılan birçok çalışmayla tespit edilmiştir [70-72]. Dünyada yapılmış olan birçok klinik deney, yüksek miktarda kateşin özellikle de epigallokateşingallat (EGCG) içeren beyaz çayın bu bileşen ve diğer önemli çay bileşenleri sayesinde insan sağlığına birçok yararının olduğunu ortaya koymuştur. Beyaz çayda bulunan antioksidanların bir grubu olan flavanoidlerin kolon, prostat ve mide kanseri gibi birçok farklı kanser çeşidine karşı etkili bir koruyuculuğa sahip oldukları [73-76], kanser hücrelerinin büyümesini engelleyip yenilerinin oluşmasını önlediği belirlenmiştir [77]. Yine içerdiği antioksidanlar nedeniyle antibakteriyel ve antiviral etkiye sahip olduğu [78, 79], diğer bir antioksidan grubu olan kateşinleri sayesinde de kolesterolü düşürdüğü bulunmuştur [80]. Bunların yanı sıra beyaz çayın, dişleri daha güçlü ve sağlıklı yapan az miktarda florid ve diğer besin elementlerini içerdiği, kan basıncını düşürdüğü, kalbi koruduğu, kemikleri güçlendirdiği ve metabolizmayı hızlandırdığı bildirilmektedir [81]. Literatürde, bu etkilere bağlı olarak romatoid artrit ve diğer yangılı hastalıklarda şikâyetlerin hafifletilmesinde yardımcı olabileceği ileri sürülmektedir [82].



Yapılan araştırmalar sonucunda beyaz çayın, güçlü ve sağlıklı kan damarlarının gelişimine yardımcı olarak felcin tahribatına karşı koruyucu etki gösterdiği [83] ayrıca genel soğuk algınlığı ve gribe karşı korunmaya yardımcı olup HIV belirtilerini hafifletebileceği tespit edilmiştir [84].

Komes ve ark. [85]'nın, beyaz, yeşil, sarı, oolong ve siyah çay olmak üzere 5 farklı çay çeşidini kafein içeriği bakımından karşılaştırdıkları çalışmalarında kafein içeriği bakımından çay bitkisini, beyaz (%3.62)> sarı (%3.18)> siyah (%2.79)>oolong (%2.77)>yeşil çay (%2.35) şeklinde sıralamışlardır. Kafein miktarının orjin, genetik, çevresel faktörler, hasat zamanı, işleme yöntemi ve çay yaprağının yaşına göre değiştiğini bildirmişlerdir. Genç sürgünlerin daha yüksek miktarda kafein içerdiğini, bu nedenle genç sürgünlerden yapılan beyaz çayın da kafein miktarının diğerlerinden daha yüksek olduğunu ifade etmişlerdir [45].

Tüm bu özellikleri ile beyaz çay diğer çay formları arasında nadide ve özel bir ürün olarak öne çıkmaktadır [86].

### **2.3. Antineoplastikler**

Kanser kontrolsüz büyüme ve anormal hücre yayılımı özelliği gösteren hastalıklar grubudur. Yaşam sresinin artması, tanı ve tedavi yöntemlerindeki gelişmeler gibi birçok nedenle kanser, çağımızın önde gelen sağlık sorunlarından birisi olma özelliğini korumaktadır. Her yıl 11 milyondan fazla insana kanser tanısı konmakta ve 2020 yılına kadar her yıl 16 milyon yeni vakanın ortaya çıkacağı tahmin edilmektedir [87].

Kanser tedavisinde uygulanan yöntemler; cerrahi girişim, ilaçla tedavi (kemoterapi) ve ışınla tedavi olmak üzere başlıca üç ana başlık altında toplanabilmektedir [88]. Kanser tedavisinde, öncelikle neoplastik hücrelerin sayısının cerrahi olarak veya radyasyon tedavisi ile azaltılıp gelişiminin yavaşlatılması amaçlanmaktadır. Daha sonra bu uygulamaları kemoterapi, immunoterapi veya bu tedavi yöntemlerinin birlikte kullanılması takip etmektedir. Kanser kemoterapisinde amaçlanan,

kullanılan ilaçlarla tümörün büyümesini engelleyecek ve farklı odaklarda yeniden gelişmesini ve hatta tümüyle ortadan kaldırılmasını sağlayacak sitotoksik etki sağlamaktır [89].

Dünyada her yıl bir milyon yeni kanser hastası teşhis edilmektedir. Bu hastaların % 25'ten azı tek başına cerrahi ve/veya radyoterapi ile tedavi edilebilmektedir. Geriye kalan hastaların büyük bir bölümüne, hastalığın herhangi bir evresinde kemoterapi uygulanmaktadır. Günümüzde kanser hastalarının bir kısmında, kanserin tipine de bağlı olmak üzere, kemoterapi ile tam tedavi veya uzun bir iyileşme dönemi sağlanabilmektedir [90]. Tek başına cerrahi veya radyasyonla tedavi başarısı %20 iken, kemoterapi ile tedavi başarısı %75'lere kadar artmıştır. [91]. Kemoterapinin en büyük avantajı, metastaz gelişmişken ya da hastalığın yaygın olduğu durumlarda da uygulanabilmesidir [92-94].

Kanser tedavisinde kullanılan kemoterapötiklere genel olarak antineoplastikler de denmektedir. Antineoplastik ilaçlar kanser hücrelerini yok ettikleri gibi hızlı bir biçimde çoğalmakta olan hücreleri de (barsak ve ağız mukoza epiteli, kemik iliği hematopoietik hücreleri, kıl folikül hücreleri, testisin jerminal hücreleri, embriyo ve fötüs hücreleri) yok edebilmektedirler [95]. Ayrıca bugün uygulanan kanser terapileri, hızlı bölünen hücreleride hedef almaktadır. Ancak bu tedavi sıklıkla tümörün metastazı ile sonlanmaktadır. Bu başarısızlığın en büyük nedeni mevcut tedavi yöntemlerinin pasif olan kanser kök hücresinin öldürülmesinde gösterdiği yetersizliktir. Çünkü kullanılan ilaçlar yüksek oranda toksik ajanlar olduğundan, çoğunlukla bütün organizmada toksik etkiye neden olmaktadır [96].

Kemoterapide kullanılan ilaçlar farklı etki mekanizmasına sahip olduklarından kanser hücrelerini yok etmek için tedavide genellikle tek ilaç yerine birkaçı birbiri ile kombine edilerek uygulanmaktadır. İlaçların kombine edilerek kullanılması kanser hücrelerinin daha iyi kontrol altına alınmasını ve hastalarda daha az yan etki gösterilmesini sağlamaktadır. Birbirinden farklı yan etkilere sahip antineoplastik ilaçlar, farmakolojik özelliklerine ve hücre döngüsü üzerindeki etkilerine göre altı grup altında toplanabilmektedir (Çizelge 2.1) [97-99].

**Çizelge 2.1.** Kemoterapötik ajanlar, etki mekanizmaları ve yan etkileri

<b>Sınıf/Etki Mekanizması</b>	<b>Kemoterapötik Ajanlar</b>	<b>Yan Etkiler</b>
<b>1- Alkilleyici Ajanlar</b> Hücre siklusuna özgü değildirler. DNA'nın çift sarmallı yapısını bozup RNA, protein ve DNA sentezini baskırlarlar.	Busulfan, Chlorambucil, Cyclophosphamide, Streptozotocin, Carmustine, Lomustine, Semustine, Cisplatin, Carboplatin, Ifosfamid, Melphalan, Mechlorethamine hidroklorid, Thiotepa	Hematopoetik Gastrointestinal Reproduktif Renal
<b>2- Antimetabolitler</b> 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
<b>3- Antitümör Antibiyotikler</b> Hücre siklusuna özgü değildirler. Nükleik asit sentezini ve işlevini değiştirerek RNA ve DNA sentezini baskırlar.	Bleomycin, Dactinomycin, Daunorubicin, Doxorubicin, Idarubicin, Mytomycin C, Mitoxantrone, Plicamycine	Hematopoetik Gastrointestinal Kardiyak Dermatolojik
<b>4- Vinka (Bitki) Alkaloidleri</b> Hücresinin M fazına etkilidirler. RNA ve protein sentezini baskırlarlar.	Vinblastine, Vincristine, VP-16, VM-26, Vindesine, Topotecan, İrinotecan, Paclitaxel, Docetaxel	Hematopoetik Gastrointestinal Reproduktif Nörolojik
<b>5- Hormonlar</b> Tümörü doğrudan etkilerler ya da tümörü besleyen vücut hormonlarını baskırlarlar.	Androjenler, Östrojenler, Kortikosteroidler, Progesterinler, Östrojen antagonistleri	Endokrin Hematopoetik Gastrointestinal Reproduktif
<b>6- Sınıflandırılmayanlar</b> Hücresinin S fazına etkilidirler. RNA, DNA ve protein sentezini baskırlarlar.	Amsacrine, Hydroxyurea, L-Asparaginase, Procarbazine	Hematopoetik Gastrointestinal

### 2.3.1. Alkilleyici Ajanlar

Alkilleyici ajanlar içerdikleri alkil grubuyla DNA ile kovalent bağ oluşturmak üzere reaksiyona giren ve böylece DNA'ya hasar vererek hücre ölümünü indükleyen en sık kullanılan kemoterapötik ilaçlardır [100].

DNA'nın alkilenmesi tümör hücresi için kritik bir sitotoksik reaksiyon olup alkilleyici ajanlar da sitotoksik etkilerini hücre yapısında bulunan nükleofilik gruplara kovalent bağlanarak gösterirler. Alkilleyici ajanlar bölünme sırasında ve

dinlenme döneminde olan hücreleri ayırt edemeyip daha çok bölünen hücreler üzerine toksik etki gösterirler. Alkillenme DNA'nın transkripsiyon ve replikasyonunu bozar veya olanaksız hale getirir. Lenfatik ve katı tümörlerin tedavisinde diğer ilaçlarla birlikte kullanılırlar. Sitotoksiteye ek olarak mutajenik ve karsinojenik oldukları ve lösemi gibi sekonder kanserlere de yol açabilecekleri tespit edilmiştir [9].

Bu ilaçların hücrelerde meydana getirdiği değişiklikler hücrelerin X-ışınlarına maruz kalması durumunda ortaya çıkan değişikliklere çok benzediğinden bu ilaçlara radyomimetik ilaçlar da denilmektedir. Yapılan araştırmalarla radyomimetik ilaçların, doku toksisitesini artırdıkları için radyoterapi ile aynı zamanda kullanılmaması gerektiği sonucuna ulaşılmıştır [101] Hücrede rezistans oluşumu, esas itibariyle ilaca karşı permeabilitenin değişmesine ya da hücrenin DNA dışındaki komponentlerinde ilacı bağlayan nükleofilik grupların miktarının artmasına bağlıdır. Yan etki olarak kemik iliği ve lenfoid doku üzerinde depresyon, bağırsak ve ağız mukozasında iltihap ve ülser oluşturmaları sayılabilir [7].

Alkilleyici ajanlar kendi aralarında beş gruba ayrılarak incelenmektedir [102].

**1) Azotlu Hardallar**

Biskloretilamin, Siklofosfamid (Endoxan), Mekloreタミン (Mustargen), Klorambusil (Leukeran), Melfalan (Alkeran)

**2) Etileniminler**

Tiotepa (Thiotepa), Trietilenmelamin

**3) Alkilsulfonatlar**

Busulfan (Myleran)

**4) Nitrozoüreler**

Karmustin (Bi CNU), Lomustin (CiNU), Semustin, Streptozotosin (Zanosar, SF)

**5) Triazen ve Hidrazen Türevleri**

Dakarbazin (DTIC), Prokarbazin (Natulan)

- Streptozotosin (STZ)

Moleküler formülü  $C_8H_{15}N_3O_7$  olan Streptozotosin (STZ), ilk olarak 1960 yılında *Streptomyces achromogenes* mantar kültüründen izole edilmiş geniş spektrumlu N nitroso türevli alkilleyici bir kemoterapötik glikozamindir [103, 104].

STZ pankreasın langerhans adacık hücreleri tarafından selektif olarak alınmaktadır. Bu özelliğinden dolayı malign pankreatik insülinoma ve malign karsinoid tedavisinde sıklıkla kullanılmaktadır. Bunun yanısıra en önemli yan etkisi ise renal tübüler asidozudur [7].

Pankreatik B hücreleri için toksik olan STZ B hücrelerinin hızlı ve geri dönüşümsüz olarak nekrozuna neden olur. STZ toksisitesinin pankreasa özgü olması yapısındaki glikoz molekülünden kaynaklanmaktadır. Bu yapısal özelliği sayesinde hücre membranında bulunan glikoz reseptörüne kolayca bağlanır ve glikozla uyarılan insülin salınımını engeller.

- Siklofosamid (SF)

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

Siklofosamid; lenfoma, multiplmyelom, kronik lenfositik lösemi ve waldenström makroglobulinemisi gibi özellikle hematolojik malignansilerde ve osteojenik sarkom, nöroblastom, retinoblastom gibi bazı solid tümörlerin ve meme kanserinin tedavisinde kullanılmaktadır [105]. Bunun yanında farklı uygulama dozlarında immüsupresif bir ajan olarak da klinik kullanımda yeri vardır [106]. İntravenöz ve oral yolla uygulanabilir [9].

Alkilleyiciler arasında en sık kullanılan, doku irritasyonu oluşturmayan, ön ilaç formunda geniş spektrumlu bir kemoteropattir. Güçlü immüsupresif etkinlik

gösterdiğinden romatoid artrit (RA), behçet hastalığı, sistemik lupus eritematozus (SLE), nefrotik sendrom ve diğer otoimmün hastalıklarda sıklıkla kullanılmaktadır. En spesifik yan etkisi metaboliti olan akroleine bağlı hemorajik sistittir. Bununla birlikte mesane kanserine de neden olabileceğini vurgulayan çalışmalar da mevcuttur [7].

#### **2.4. Genetik Toksikoloji**

Günümüzde teknolojik gelişmelere paralel olarak endüstri, tarım, hayvancılık gıda ve tıp gibi temel alanlarda kullanılan biyolojik, fiziksel ve kimyasal maddelerin de sayı ve üretim miktarlarında artışlar olmuştur. Bu nedenle kimyasal maddelerin canlılar üzerindeki toksik etkileri de gün geçtikçe daha ciddi boyutlara ulaşmıştır.

Toksikoloji; kimyasal maddeler ile biyolojik ve fiziksel ajanların canlı organizmalarda istenmeyen zararlı sonuçlar doğuran etkileşimlerini inceleyen bir bilim dalıdır [107]. Bu bilim dalında toksik maddelerin oluşturduğu etkiler geniş bir biyolojik ve fizyolojik spektrumda incelenir. Kelime anlamı “zehir bilimi” olan toksikoloji; 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 [108].

Toksikolojinin bir alt dalı olan genetik toksikoloji ise organizmanın normal biyolojik işleyişi sırasında veya kimyasal, fiziksel ve biyolojik etkenlere bağlı olarak hücrelerin DNA moleküllerinde meydana gelen değişiklikleri inceler [109-111]. İlk olarak 1927’de X ışınlarının *Drosophila*’da mutasyon oranlarını normalden 15000 kat daha fazla arttırdığını belirleyen Müller’in çalışmaları ile başlayan genetik toksikoloji bugün, gelişen teknoloji ile artan risk ve analiz yöntemlerine bağlı olarak en önemli araştırma dallarından biri haline gelmiştir [112].

“Genetik toksisite” ya da “genotoksisite”; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom yapısı anormallikleri ve anöploidi gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir. 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 [113].

#### 2.4.1. Genetik Toksikolojide Kullanılan Bazı Test Teknikleri

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 [114]. Çeşitli *in vivo* ya da *in vitro* testlerle belirlenen mutasyonlar, kromozom hataları, DNA iplikçiklerinde kırılma ve tamiri engellenen DNA eklenmesi gibi olasılıklar genotoksisitenin varlığını gösterir [115].

Bir genotoksisite test yönteminde olması istenen temel özellikleri şöyle sıralayabiliriz [116];

- Uygulama açısından basit olması,
- Genetik hasarları belirlemede etkin olması,
- Hızlı sonuç vermesi,
- Ekonomik açıdan ucuz olması,
- Analiz için az sayıda örneğin yeterli olması.

Genetik toksikoloji testlerinde ana hedef DNA molekülü olduğundan, herhangi bir organizmadan elde edilen sonuçlar aynı zamanda insan sağlığı ile ilgili olarak ortaya çıkabilecek problemlerin tahmininde de kullanılabilir. Bu nedenle bir türde DNA hasarı oluşturduğu bilinen bir kimyasal maddenin, diğer türlerde de benzer etkiler gösterebileceğini söylemek mümkündür. Günümüzde genotoksik etkilerin incelenmesi amacı ile mikroorganizmalar, böcekler, bitkiler ve omurgalı hayvanlar üzerinde birçok kısa süreli test yöntemi kullanılmaktadır [117-123]. Sıklıkla kullanılan kısa süreli genotoksisite testleri arasında *Allium* testi [124], *Salmonella* testi [125], mikronükleus testi (MN) [126], kardeş kromatid değişimi testi (KKD) [127], tek hücre jel elektroforezi (SCGE) [128] ile somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) [15] bulunmaktadır.

Genotoksisite testleri ile çeşitli maddelerin mutasyonlara, kromozom anormalliklerine veya DNA hasarlarına sebep olup olmadığı belirlenmektedir. Bu testler 1970'lerin sonundan beri kimyasalların güvenilirliğinin değerlendirilmesinde temel noktayı oluşturmaktadır [25]. Bu tarihten günümüze kadar mutajenik ve genotoksik maddelerin karsinojenik potansiyellerini ölçebilmek için birçok genotoksisite testi geliştirilmiştir. Bu testler, çeşitli mekanizmalarla doğrudan ya da dolaylı olarak genetik materyalde meydana gelen hasarları saptamak amacıyla geliştirilmiş *in vitro* ve *in vivo* testlerden oluşmaktadır [111].

*In vivo* ve *in vitro* genotoksisite testlerinde, üreme hücrelerindeki veya somatik hücrelerdeki mutasyonlar temel alınmaktadır. Böylece gelecek nesillerde 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 [129].

Son yıllarda yapılan birçok çalışma, insan hastalıklarında *Drosophila melanogaster*'in model organizma olarak kullanılmasını desteklemektedir. Bir canlıda bir kimyasalın genotoksik etkilerini belirlemede kullanılan testlerin bazıları için sirke veya meyve sineği olarak da bilinen *D. melanogaster* en sık başvurulan model organizmadır. *D. melanogaster*'in bu testler için kullanılması 1927'de Müller'in eşeye bağlı resesif letal mutasyon testi (SLRLT)'ni bilim dünyasına kazandırmasıyla başlamıştır [130].

#### Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

Böceklerle yapılan genotoksisite testlerinden en yaygın olanı genetik yapısı çok iyi bilinen *Drosophila* ile yapılan somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)'dir. Son yıllarda sıklıkla kullanılan SMART, çeşitli kimyasal maddelerin mutajenik ve rekombinojenik aktivitelerinin saptanması için oldukça uygun ve etkili bir *in vivo* test sistemidir [15]. *Drosophila* ile yapılan bu *in vivo* test yöntemi,



mikroorganizmal *in vitro* ve memeli *in vivo* genotoksisite test sistemleri arasında bağlantı oluşturabilir [131]. SMART, nokta mutasyonu, delesyon, translokasyon, mitotik rekombinasyon ve kromozom kaybı veya ayrılmama gibi, belirli kromozom aberasyonlarının genetik sonuçlarının geniş yelpazesinin saptanmasına izin vermektedir [15-17].

SMART'ın avantajı, mitotik rekombinasyonların ve mutasyonların etkilerini fenotipte gösterebilmesidir. İşaret genlerinin trans-heterozigot sineklerde bulunması ve kullanılması genotoksik denemede bu özelliklerin gözlenmesi, çalışmanın yöntem olarak kolay ve ucuz bir yol olduğunu göstermektedir. Mutasyon ve karsinojen etkilenme sonucu oluşan ölçümleri yapmak *Drosophila* somatik hücrelerinde, diğer organizmalara göre de kolaydır [132].

SMART, göz ve kanat benek testi olmak üzere iki çeşittir. Her ikisi de erken embriyonik gelişim sırasında hücre gruplarının (imajinal disk) ayrılması esasına dayanmaktadır. Bunlar, larval gelişimleri esnasında yetişkin sineğin vücut yapısına farklılaşmaya kadar, mitotik olarak çoğalırlar [16,17]. Somatik sistem çok sayıda avantaj sunmaktadır. Testi yapabilmek için sadece bir generasyon gereklidir. Kanat ve göz gibi iki iyi bilinen somatik doku tek bir sinekte çok sayıda hücrenin (bir kanatta yaklaşık 25 000 hücre, bir gözde de yaklaşık 800 ommatidium) analizine izin verir. Bu hücrelerin sayımı kolay ve hücre belirleyicileri güvenilirdir [133].

Günümüzde ilaç, gıda, kozmetik, tarım ve endüstride kullanılan her kimyasal maddenin insan sağlığı ve çevreye olan etkisi birçok ulusal sağlık kuruluşu tarafından kabul edilemez ölçüde risk taşıyanların kullanımına izin verilmemektedir [134,135].

Bu çalışmada; antineoplastik ilaçlardan streptozotosin ve siklofosamid alkilleyici ajanlarının muhtemel genotoksik etkilerinin ve bu etkiler üzerine beyaz çayın antigenotoksik etkinliğinin SMART yöntemi kullanılarak belirlenmesi amaçlanmıştır.

### 3. MATERYAL ve METOT

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. *Drosophila melanogaster* Meigen

Bu çalışmada antineoplastik ilaçlardan Streptozotosin ve Siklofosamid'in indüklediği genotoksik etki üzerine beyaz çay ekstraktının antigenotoksik etkileri *D. melanogaster*'de araştırılmıştır.

*D. melanogaster* ilk olarak 1910 yılında zooloji, embriyoloji, gelişim biyolojisi ve genetik alanında çalışmalar yapan Amerikalı Thomas Hunt Morgan (1866-1945) tarafından genetik çalışmalarda kullanılmaya başlanmıştır. Morgan *Drosophila* ile yaptığı çalışmalar sonucunda kalıtımda kromozomların rolünü ortaya koyarak 1933 yılında Fizyoloji veya Tıp alanında Nobel ödülünü almıştır [136].

*D. melanogaster* bugün deneysel araştırmalarda, genetik başta olmak üzere birçok bilim dalında sıklıkla kullanılan model organizmalardan birisidir. Çeşitli kalıtım mekanizmalarının çalışılmasında ve anlaşılmasında memeli organizmalar dışında *Drosophila*'nın çok fazla kullanılmasının nedeni sahip oldukları üstün özelliklerden ileri gelmektedir. Hayat devrinin 9-10 gün gibi çok kısa olması, bir seferde çok fazla yumurta bırakması (40-50 yumurta/gün), çok çeşitli doğal ve yapay varyasyonların (göz rengi, göz şekli, kanat şekli, kanat kıl tipi vb. ) çıplak gözle bile gözlenebildiği bir organizma olması, laboratuarda kolay ve ucuz bir şekilde yetiştirilebilmeleri, kontrollü çaprazlama yapılabilen en uygun canlılardan biri olması, mitotik kromozomlardan kolayca ayırt edilebilen dev kromozomları (politen kromozom) taşınması gibi bazı özellikler *Drosophila*'ya ideal bir model organizma olma özelliğini kazandırmaktadır.

Ayrıca *D.melanogaster*'in ökaryotik bir canlıda *in vivo* çalışma olanağı sağlaması, karmaşıklığı ortadan kaldıracak az sayıda kromozoma sahip olması (X/Y çiftinden

biri ve üç otozom), biyoaktivasyondan sorumlu enzim sistemlerinin memelilerin enzim sistemleriyle büyük benzerlik göstermesi, diğer biyomedikal çalışmalarda kullanılan omurgalı canlılar için alınması gerekli olan etik kurul izinlerine ihtiyaç duyulmaması gibi özellikler de genetik çalışmalarda model organizma olarak tercih edilmesinin önemli nedenleri arasındadır [137].

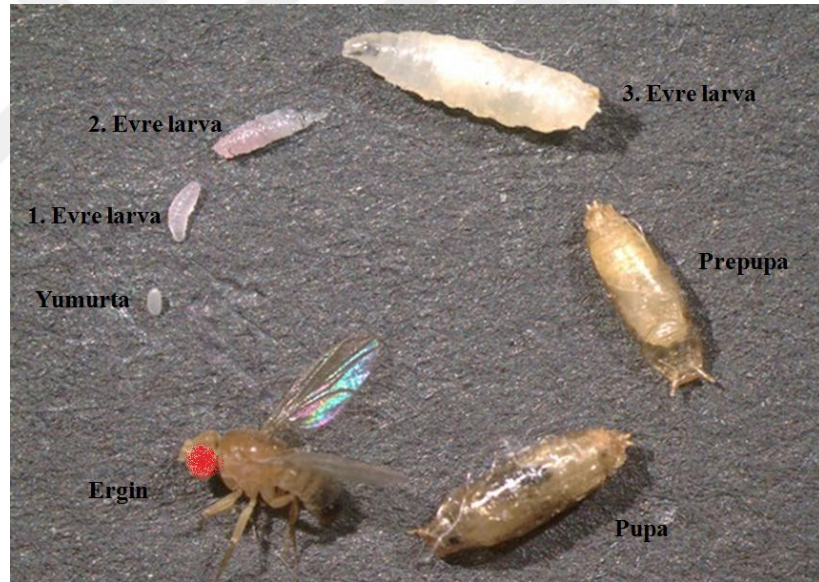
Sinek proteinlerinin yaklaşık yarısı memeli proteinleri ile benzer dizilime sahiptir. *Drosophila* genom dizi analizi ile insanlarda görülen hastalıkların tespit edilen genlerinin %60'ından fazlasının *Drosophila* ortoloğu olduğu gösterilmiştir. Bu da insan hastalıklarında mutasyon, amplifikasyon veya delesyon ile değişime uğrayan 287 civarında genin *Drosophila*'da benzer şekilde bulunduğu anlamına gelmektedir [138-141]. Bu hastalıkların başında gelişim bozuklukları, kardiyovasküler ve nörolojik hastalıklar, metabolizma ve depolama hastalıkları ile genetik temelli görsel, işitsel ve immün sistem fonksiyon bozuklukları gelmektedir [142].

Ayrıca *Drosophila* imajinal disklerinin biyolojik özellikleri, kansere hassas birçok memeli hücresi ile benzerdir. Çoğalmaya ve farklılaşmaya giden özelleşmiş epitel hücreleri diploittir ve memeli hücrelerindeki hücre döngüsüne benzer özelliğe sahiptirler (G1, S, G2 ve M safhalarını içerirler). Sinek ve memeli hücre döngüsündeki benzerlik sadece genel organizasyon seviyesi ile sınırlı olmayıp moleküler seviyede de korunma vardır. Gelişimsel siklinler (A, B ve E tip) ve onların siklin bağımlı kinaz partnerleri sinek ve insan arasında oldukça korunmuştur [143].

*Drosophila* ve insanlardaki tüm özellikler ve hücre siklusu ile hücresel döngüsünü düzenleyici proteinlerin benzerliği kanser araştırmalarında da *Drosophila*'nın sıkça tercih edilmesinin sebeplerindedir. Bununla birlikte pek çok fizyolojik ve nörolojik olayın temel biyolojik mekanizması ve moleküler yolları *Drosophila* ve memeli organizmalarda benzer olduğu için özellikle biyoloji ve tıp alanında çalışan bilim insanlarının oldukça ilgisini çekmiş ve tüm bu nedenlerden dolayı *Drosophila* memeli olmayan önemli bir model organizma haline gelmiştir [144].

*D. melanogaster*; Arthropoda (Eklembacaklılar) şubesinin Insecta (Böcekler) sınıfı ve Diptera (İki kanatlılar) takımına ait, yaşam döngüsünde yumurta, larva, pupa ve ergin olmak üzere dört farklı evre bulunan holometabol bir böcektir. Döllenmeden yaklaşık 22-24 saat sonra yumurtadan larva (1. larva evresi) çıkar. İki deri değişiminden sonra (2. ve 3. larva evreleri) önce prepupa daha sonra pupa meydana gelir. Yumurtadan ergin bireyin oluşması için geçen süre, yaklaşık 9-10 gündür (Şekil 3.1).

*D. melanogaster*'in hayat döngüsü ve ömür uzunluğu sıcaklık [145-148], beslenme [149-151], populasyon yoğunluğu, çiftleşme, radyasyon, nem [152, 153] gibi faktörler tarafından farklı şekilde etkilenmektedir.



**Şekil 3.1.** *D. melanogaster*' in hayat döngüsü

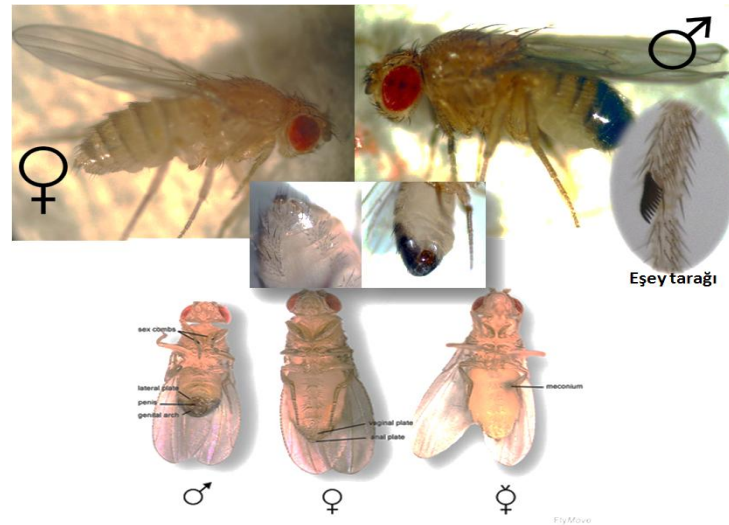
Bu çalışmada, *D. melanogaster*'in *mwh* ve *flr*<sup>3</sup> mutant soyları kullanılmıştır. Bu hatlar Akdeniz Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nden temin edilmiş ve Amasya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyolojik Aktivite Laboratuvarı'nda standart Lewis besin ortamında [154] yetiştirilmiştir. (Çizelge 3.1), *Drosophila* için ideal yaşama koşullarında (25±1°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.

**Çizelge 3.1.** *Drosophila* standart Lewis besiyeri içeriği

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

Kimyasal maddelerin uygulanması için kullanılacak 3.evre larvaları elde etmek amacıyla virjin dişi ve erkek bireylerin çaprazlanması gerekmektedir. Ergin sineklerin bazı özellikleri çıplak gözle eşey tayinine olanak tanır (Şekil 3.2). Örneğin dişi sineklerin abdomenleri 7 segmentlidir ve abdomenin ucu sivridir, erkek sineklerin abdomenleri ise 5 segmentten oluştuğu için kısmen kısadır ve abdomen ucu dişi sineklerininkine göre küttür. Ancak çıplak gözle görülebilen en önemli eşeysel dimorfizm, erkeğin 1. çift bacaklarının, tarsus eklemlerinin, bazal kısmında siyah ve kalın bir seri kıldan oluşan eşey tarağıdır (Şekil 3.2). Bu yapı dişilerde bulunmaz [155].



**Şekil 3.2.** *D. melanogaster*'in erkek, dişi ve virjin bireyleri

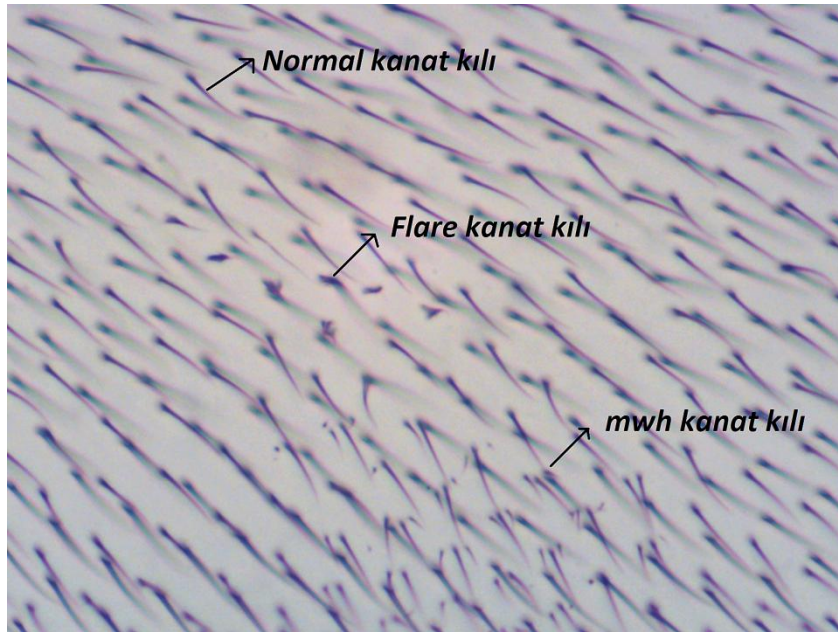
### Çalışmada kullanılan *D. melanogaster* mutant soyları

Çalışmamızda, *D. melanogaster*'in *mwh* ve *flr<sup>3</sup>* mutant soyları kullanılmıştır. Normal metabolik aktiviteye sahip bu türlerin genetik yapısı aşağıdaki gibidir [156].

- *mwh* / *mwh*
- *flr<sup>3</sup>* / In (3LR)TM3, *BdS*

*mwh* geni (*multiple wing hair*=çoklu kanat kılları); resesif bir gen olup, 3. kromozomun sol kolunda, telomere yakın bir bölümde yer alır (3-0,3) (Şekil 3.3). Bu gen somatik hücrelerde homozigot durumda (*mwh/mwh*) bir kanat trikomu yerine, çoklu kanat trikomlarının oluşmasına neden olmaktadır (Şekil 3.3) [131].

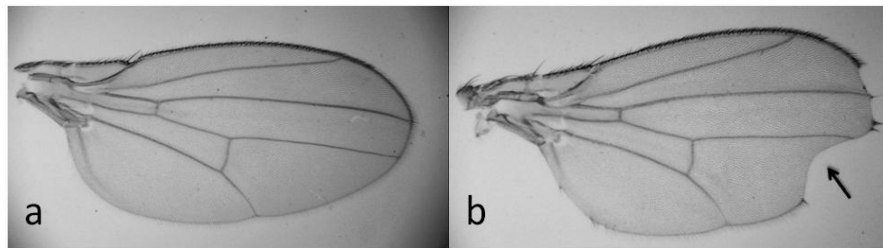
*Flare* (*flr<sup>3</sup>*) geni ise sentromere daha yakın olacak şekilde, yine 3. kromozomun sol kolunda bulunan resesif bir gendir (3-38,8) (Şekil 3.4). Bu gen *Drosophila*'nın kanatlarındaki normal trikomlar yerine, kısalmış ve koyulaşmış, körelmiş veya balon şeklindeki amorfik trikomların oluşumuna neden olmaktadır (Şekil 3.3) [15].



**Şekil 3.3.** Normal, *Flare* ve *mwh* kanat kılı tipleri (400X)

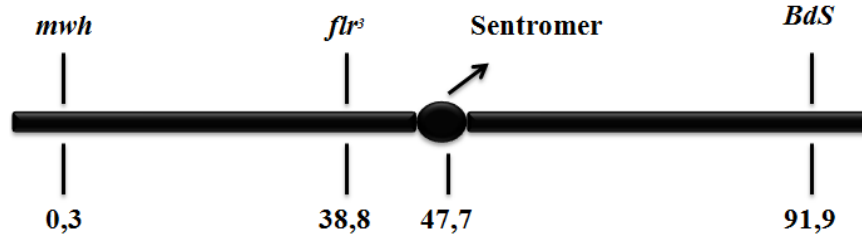
*Flare* geninin üç mutant alleli de embriyonik evrede letal etki göstermektedir. Bu nedenle ergin birey oluşumu gözlenmemektedir. Ancak bu gen açısından heterozigot olan bir bireyin, imajinal disk hücrelerinden gelişen ve fenotipik olarak *flare* geninin özelliğini taşıyan kanat kılları gözlemlenebilir. Bu nedenle bireyler, *flare* geninin embriyonik letal etkisinden kurtulmak ve rekombinasyonu baskılamak amacıyla TM3 dengeleyici kromozomunu taşımaktadır. TM3 dengeleyici kromozomu, letal etki gösteren genin bulunduğu homolog kromozomlardan birinde yer almaktadır [17, 131,157]. Dengeleyici kromozomlar sayesinde homozigot olduğunda embriyonik evrede letal etki gösteren genlerin bu öldürücü etkisinden o hattı korumak mümkündür. Bu kromozomların rekombinasyonu baskılaması nedeniyle mutasyon veya rekombinasyon ile oluşan fenotipik değişimlerin hangi oranda rekombinasyonun etkisiyle oluştuğu belirlenebilmektedir [156].

*BdS* (Beaded-serrat) geni dominant bir gen olup TM3 dengeleyici kromozom üzerinde yer almaktadır ve homozigot durumda letal etki göstermektedir. Normal bir *D. melanogaster* bireyinde kanatlar düzgün kenarlı iken *BdS* genini taşıyan bireylerde ise kanat testere ağzı (Şekil 3.4) şeklindedir [133]. Bu genin ortaya çıkarttığı fenotipik farklılık, bireyin TM3 dengeleyici kromozomu taşıyıp taşımadığına işaret etmektedir [156].



**Şekil 3.4.** Normal (a) ve Serrat (b) kanatlar

Belirleyici olarak kullanılan *mwh*, *flr<sup>3</sup>* ve *BdS* genleri *Drosophila*'nın en büyük kromozomu olan üçüncü kromozom üzerinde bulunmaktadır (Şekil 3.5). Belirleyici genler arasındaki mesafenin uzak olması, rekombinasyon ve mutasyonların büyük aralıkta incelenmesi açısından avantaj sağlamaktadır.



**Şekil 3.5.** Belirleyici genlerin üçüncü kromozom üzerindeki dizilişleri

Bu çalışmada, çaprazlamalar sonucunda elde edilen trans-heterozigot larvalar kullanılarak değerlendirmeler yapılmıştır. Bu çaprazlamaların genotipik gösterimi aşağıdaki gibidir;

$$\text{♂♂ } mwh / mwh \text{ X } \text{♀♀ } flr^3 / In(3LR) TM3, BdS$$

Yapılan çaprazlamada  $flr^3$  stoklarının dişi bireylerinin tercih edilmesinin nedeni, yumurta veriminin,  $mwh$  stoklarının dişilerine göre daha yüksek olmasıdır.

### 3.1.2. Çalışmada Kullanılan Antineoplastik Alkilleyici Ajanlar

Bu grup ilaçlar etkilerini yapılarındaki alkil gruplarını DNA çift zincirine bağlayıp kanser hücrelerinin inhibisyonuna yol açarak gösterirler [158].

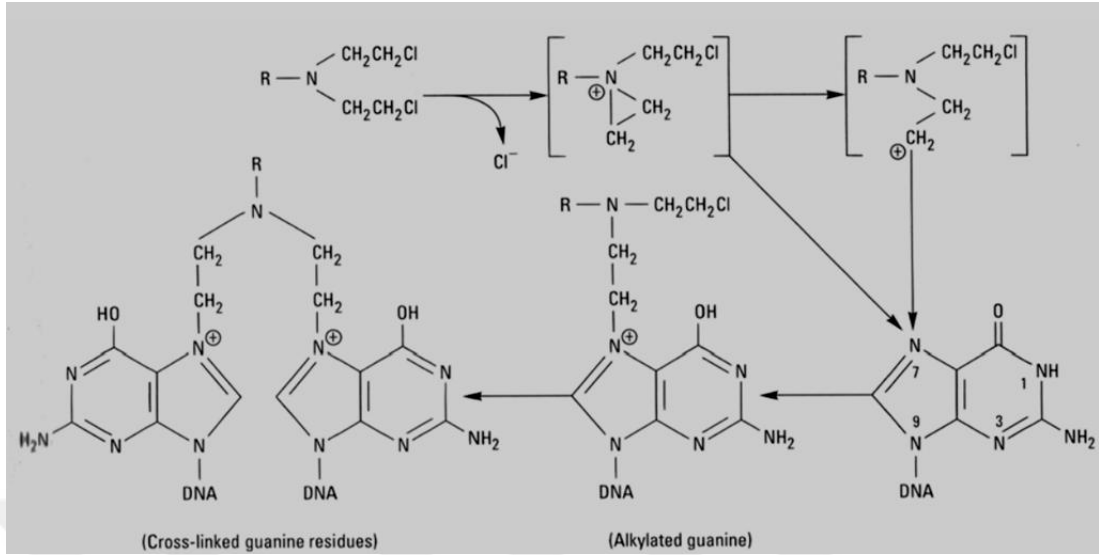
Alkilleyici ilaçlar 1.Dünya Savaşında Almanlar tarafından kimyasal silah olarak kullanılan kükürtlü hardal (sülfür mustard veya dikloroetilsülfür) maddesinin insanlarda lenfoid doku ve kemik iliği üzerinde toksik etkili olduğunun saptanması sonrasında uzun yıllar hem kimyasal silah hem de hayvan tümör modellerinde antikanser ilaç olarak kullanılmaya başlanmıştır. Bu çalışmalar, 1948’de bir azotlu hardal olan ve mekloreタミン olarak adlandırılan ilacın klinik kullanıma girmesi ile sonuçlanmış ve böylece modern kanser kemoterapisi çağı başlamıştır. Alkilleyici ilaçlar, bu alanda ilk olmanın yanı sıra halen en sık kullanılan kemoterapötiklerin başında gelmesi açısından da önemlidir. Alkilleyiciler, en çok G1 ve S olmak üzere hücre döngüsünün herhangi bir dönemi üzerine etkili antineoplastik ilaçlardır [9].



Alkilleyici ilaçlar ön ilaçlar olup kanserli hücrelerde kendilerine uyan etilenimonyum türevlerine ve daha sonra da pozitif yüklü karbon içeren karbonyum türevlerine dönüşürler (Şekil 3.6). Karbonyum iyonu, güçlü elektrofilik özelliği olan reaktif bir metabolittir. Negatif yüklü nükleik asitlerin, özellikle de DNA'nın ve diğer makromoleküllerin içerdiği amino, fosfat, tiyol, hidroksil, imidazol ve karboksil grupları gibi nükleofilik gruplara kovalent bağlarla geri dönüşsüz olarak bağlanarak alkillemeyi gerçekleştirirler. Antineoplastik etki, aktif metabolitin, DNA'ya kovalent olarak bağlanmasıyla ortaya çıkar. Monofonksiyonel ilaçlar DNA'ya bir noktadan bağlanırlar; fakat alkilleyici kanser ilaçlarının çoğu bifonksiyonel niteliktedirler ve çift sarmal DNA'ya iki noktadan bağlanırlar. Bu iki nokta, çift sarmalın ipliklerinden her biri üzerinde ise iplikler arası çapraz bağlanmadan, aynı iplik üzerinde ise iplik-içi bağlanmadan söz edilir. Aktif veya reaktif metabolitin bağlandığı noktalardan biri DNA, diğeri de histon üzerinde ise, DNA protein bağlanmasından söz edilir. Alkillenme, DNA'nın replikasyon ve transkripsiyonunu bozar. Terapötik konsantrasyonlarda, karbonyum iyonu veya alkilleyici ilaçlardan oluşan benzeri reaktif metabolitlerin, DNA molekülü üzerinde sıklıkla bağlandıkları bir yer, guanin 7 sayılı azot atomudur ve bu yerin alkillenmesi, DNA molekülünde aşağıdaki üç önemli değişiklikten birine yol açar.

Guaninin 7. azottan alkillenmesi, bu maddenin 1 numaralı azot atomunun asiditesini artırır. Molekülde oluşan sözkonusu değişme, onun sitozin yerine timin ile baz çifti yapmasını teşvik eder. Alkilleyicilerin bağlanması sonucu anormal baz çiftinin oluşması, genetik kodun yanlış okunmasına yani replikasyon ve transkripsiyon sırasında guaninin, adenin gibi işlem görmesine neden olur. Bu olay yeni DNA zincirinde ve mRNA molekülünde önemli bozukluklara yol açar. Guaninin imidazol halkası açılır ve böylece guanin parçalanır ve ortadan kalkar. Sonuçta DNA zinciri buradan kırılmış olur.

Hepsinden önemlisi oluşan reaktif metabolit, iki ayrı zincirdeki guanin arasında köprü yapar ve bu durumda DNA'nın replikasyonu ve transkripsiyonu mümkün olmaz [159].



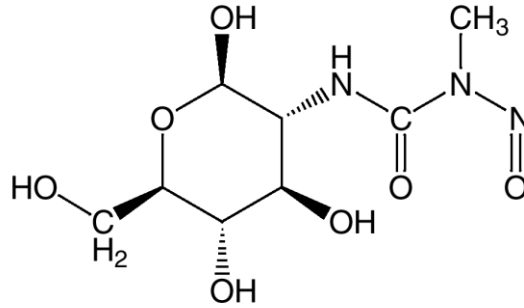
**Şekil 3.6.** Alkilleyici ajanların etki mekanizmaları

Alkilleyici ajanlar etki gösterirken dinlenen veya bölünen hücreleri ayırmazlar. Sitotoksik olmalarının dışında mutajenik ve karsinojenik olup akut lösemi gibi sekonder malignensilere yol açabilirler. Ayrıca alkilleyicilerin tümü kemik iliğini deprese eder ve gasrointestinal sisteme ait yan etkiler ortaya çıkartır. Uzun süreli kullanımda gametogenez deprese olmakta ve sekonder lösemi riski artmaktadır [160].

Bu çalışmada streptozotosin ve siklofosfamid alkilleyici ajanlarının genotoksik etkileri araştırılmıştır.

### Streptozotosin (STZ)

Çalışmamızda kullandığımız STZ 18883-66-4 koduyla SİGMA firmasından temin edilmiştir. Moleküler formülü C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub> (Şekil 3.7); moleküler ağırlığı 265,2 g/mol olan bu molekül geniş spektrumlu N-nitroso türevli bir glikozamindir [161-164].



**Şekil 3.7.** Streptozotocin'in moleküler yapısı

Nitrozürelere grubunda yer alan bu ilaçlar DNA zincirlerinin arasındaki çapraz bağlanmaları alkilleyip RNA ve protein sentezini indüklerler. Bu grup ilaçların ortak yan etkileri dışında akciğer ve karaciğer üzerine yoğun toksik etkileri de vardır. STZ selektif olarak Langerhans adacıklarında beta hücrelerini parçalar [161]. Ayrıca STZ'nin yapısı glikoza çok benzeyip pankreas beta hücrelerine spesifik olduğu için özellikle insülinomalarda (pankreas langerhans adacıklarının B hücrelerinden kaynaklanan bir tümör) kullanılmaktadır.

Nitrozürelere değişik habis tümörlerde ve değişik dozlarda uygulandığı gibi STZ hipoglisemi durumunda da kullanılan bir ilaçtır. Pankreasta insülin salgılayan beta hücrelerini tahrip ederek hiperglisemi oluşturur [158]. Ayrıca pankreas T hücrelerini hasara uğratarak hem tip 1 hem de tip 2 diyabete neden olmaktadır [104].

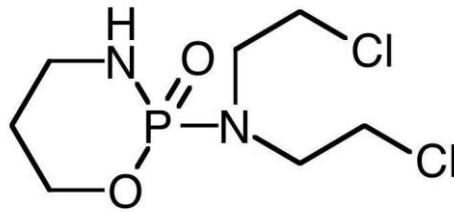
STZ bakteri ve memeli hücrelerinde DNA sentezini önler. Bakteri hücrelerinde dejenerasyon ve yıkımla sonuçlanan sitozin gruplarıyla özel reaksiyon verir. Memelilerde bu biyokimyasal mekanizma hücre ölümüyle sonuçlanır. STZ, DNA'nın substratla ilişkisini veya DNA sentezinde yer alan enzimlerin birçoğunu engellemek için ihtiyaç duyulan dozdan daha az doz ile hücresel üretimi önler [165]. STZ, hücrelerin mitozu girmesini engellemesine rağmen, hücresel döngünün hiçbir özel fazı özellikle onun ölümcül etkilerine duyarlı değildir.

Pankreas kanserinin tedavisinde sıkça kullanılan STZ'nin en çok görülen yan etkileri arasında; bulantı, kusma, iştah kaybı, ishal, uyuşukluk, konfüzyon, depresyon, şişlik,

kızarıklık, yanma, ve hassasiyet gelmektedir. Diğer ciddi yan etkiler arasında ise alerjik reaksiyon, böbrek hasarı veya karaciğer sorunları bulunmaktadır.[166]

### Siklofosamid

Çalışmamızda kullandığımız Siklofosamid C-0768-1G koduyla SİGMA firmasından temin edilmiştir. Moleküler formülü  $C_7H_{15}Cl_2N_2O_2P$  (Şekil 3.8); moleküler ağırlığı 261.083 g/mol olan siklofosamid azotlu hardal türevi alkilleyici bir antineoplastik ajandır.



**Şekil 3.8.** Siklofosamid'in moleküler yapısı

Siklofosamid alkilleyici ilaç gruplarından biri olan azotlu hardallar grubunda yer alan ve alkilleyici ilaçlar arasında en sık kullanılan kemoterapotiktir. İntravenöz ve oral yolla uygulanabilir. Karaciğerde aktif metaboliti olan fosforamid hardalına dönüşür. Siklofosamid özellikle lösemi, morbus-hodgkins lenfoma, plazmasitosis, bronşiyal, meme ve ovariyal karsinoma gibi kanser türlerinde kullanılmaktadır. Antikanser etkileri yanında aşırı immünsupresif etkileri nedeniyle organ nakillerinde doku uyumsuzluğu ve reddine karşı ayrıca romatoid artrit, Behçet hastalığı, nefrotik sendrom ve diğer bazı otoimmün hastalıklarda da kullanılmaktadır [167].

En sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, diğer gastrointestinal bozukluklar ve kemik iliği baskılanmasıdır. Siklofosamid'in spesifik bir yan etkisi de üroteliyal toksisite ve steril hemorajik sistittir. Bu durum, idrar yolu ile atılan bir metabolit olan akroleine bağlıdır. Sistit zamanla fibroze dönüşebilir ve mesane kanseri gelişebilir [159]. Diğer önemli yan etkileri ise eşey hücrelerinin çoğalmasını engellediğinden amenore, testislerde atrofi ve kısırılıktır [168]. Ayrıca yapılan araştırmalarda

siklofosfamidin kalpte bozukluk, pulmoner toksisite ve antidiüretik hormon salgılanmasında bozukluk yapan bir sendroma neden olabileceği de tespit edilmiştir [169,170].

### 3.1.3. Beyaz Çay

Beyaz çay, ismini *Camellia sinensis* bitkisine beyaz bir görünüm veren açılmamış tomurcuğunun gümüş-beyaz tüylerinden almaktadır (Şekil 3.9). İçecek olarak beyaz veya renksiz bir görüntüde değil de ayva sarısı rengindedir. Bunun nedeni yeşil çaya da siyah çay gibi soldurma, fırınlama, kurutma ve fermentasyon işlemlerinden geçmediği için dem renginde bir dönüşüm gerçekleşmemesindedir. Çok hafif, tatlımsı bir lezzete sahip olan beyaz çay yetiştirilmesi oldukça güç olan, dünyanın en nadide ve en pahalı çay formu olarak gösterilmektedir [171].



Şekil 3.9. Beyaz çay tomurcukları ve gümüş beyaz tüyler

## 3.2. Metot

### 3.2.1. Bitki ekstraksiyonu

Çalışmada kullanılan Beyaz İksir (Beyaz Çay) marka çay, Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü (ÇAYKUR) firmasından temin edilmiştir (Şekil 3.10). Örnekler analiz yapılana kadar orijinal ambalajlarında, karanlık ve serin laboratuvar ortamında muhafaza edilmiştir. Beyaz çaydan 20 g alınarak üzerine 500 mL taze olarak

kaynatılmış su eklendikten sonra 15-20 dakika süreyle demlemeye bırakılmıştır. Demlenen stok çay örneği  $-20^{\circ}\text{C}$ 'de 24 saat dondurulduktan sonra liyofilize edilerek kurutulmuş ve liyofilizatlar analiz yapılana kadar  $+4^{\circ}\text{C}$ ' de buzdolabında saklanmıştır (Şekil 3.11).



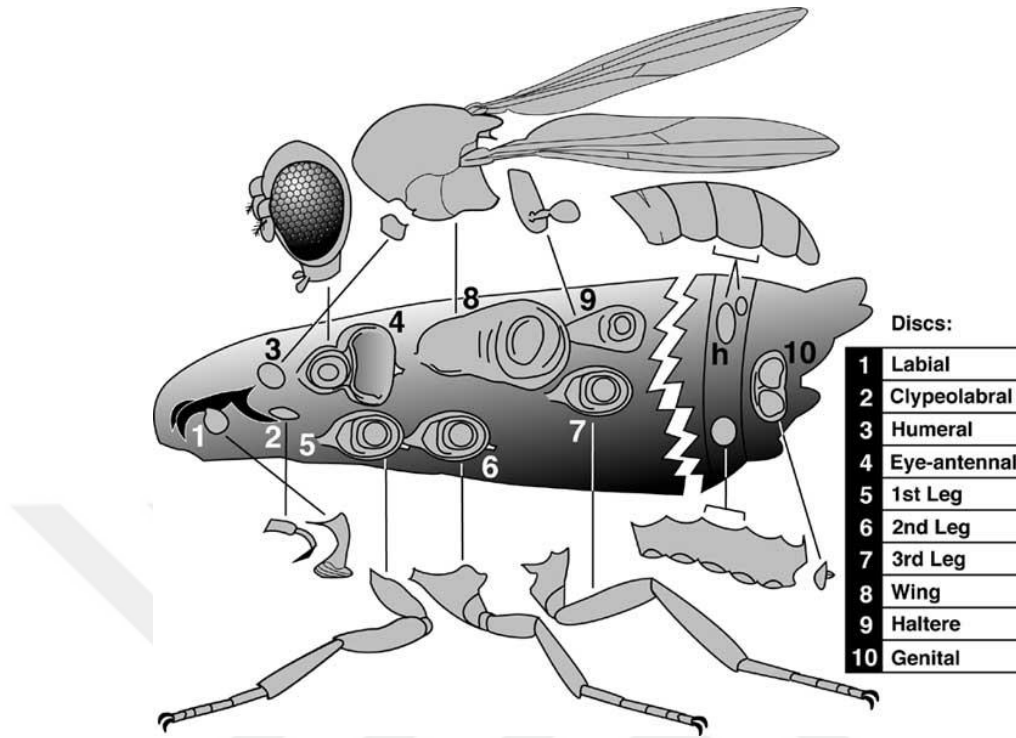
Şekil 3.10. Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü'nden temin edilen beyaz çay



Şekil 3.11. Liyofilizatörde işlem gören beyaz çay numuneleri

### 3.2.2. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART)

Model organizma olarak *Drosophila*'nın kullanıldığı testler arasında son yıllarda oldukça popüler olan testlerden birisi de, nokta mutasyon, delesyon, kromozom bozukluğu ve mitotik rekombinasyonun tespit edilmesine olanak sağlayan somatik mutasyon ve rekombinasyon testidir (SMART). SMART diğer testlerle karşılaştırıldığında, daha hızlı, güvenilir ve ekonomik olması nedeniyle oldukça avantajlıdır. Ayrıca SMART, kimyasal maddelerin somatik hücrelerde oluşturduğu mutasyonun genetik olarak ölçülmesinde daha doğru sonuçlar vermesi bakımından da oldukça üstün bir yöntemdir. SMART göz benek testi ve kanat benek testi olmak üzere iki çeşittir. Bu testler, hücre gruplarının düzenlendiği ilk embriyonik gelişim dönemini temel almaktadır. Uygun işaret genlerinin heterozigotluğunun kaybını temel alarak geliştirilmiş olan bu testler, larvanın imajinal disklerinde mitotik olarak çoğalan büyük hücre gruplarını hedef alır. İmajinal diskler, larval gelişim sırasında mitozla çoğalır ve metamorfoz ile ergin bireyin kanat, göz, bacak gibi farklı vücut yapılarını oluşturur (Şekil 3.12). Eğer bu imajinal disk hücrelerinin herhangi birinde genetik bir değişiklik olursa, bundan sonraki oğul hücrelere de bu değişiklik aktarılarak mutant hücre grupları (klonlar) oluşur. Bu genetik değişiklik fenotipte gözlenebilen bir değişikliğe neden olursa, klonlar ergin sineğin kanatlarında ve gözlerinde mutant hücre benekleri olarak ortaya çıkar. Kimyasal maddelere 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 [15,172].



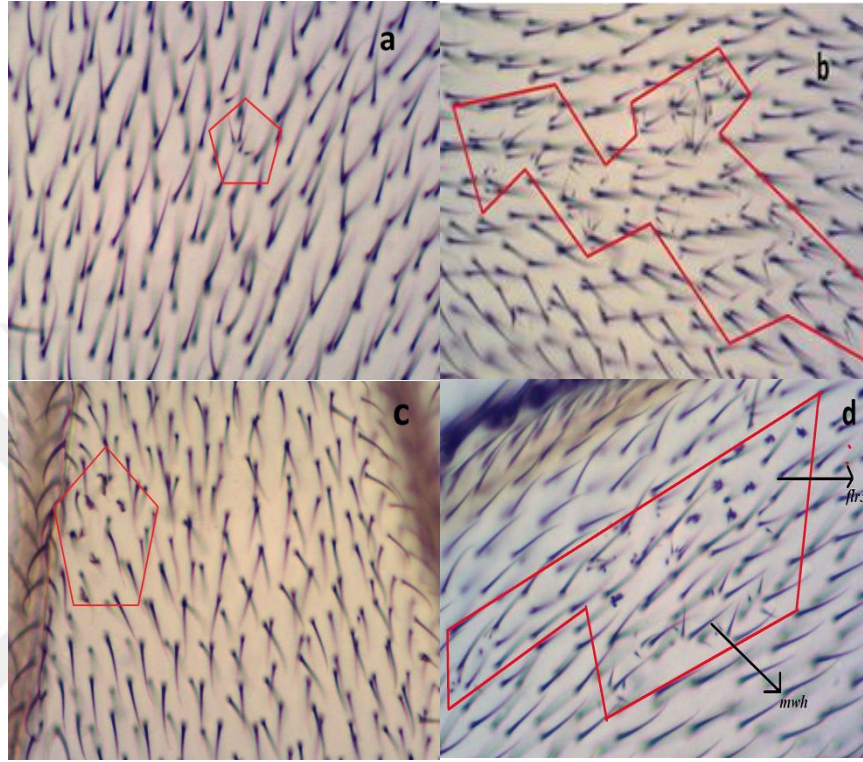
**Şekil 3.12.** *D. melanogaster*'de imajinal diskler ve oluşturdukları vücut kısımları [173]

Bu çalışmada, *D. melanogaster*'de kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ya da diğer adıyla *Drosophila* kanat benek testi kullanılmıştır.

Kanat kıllarında beklenen somatik mutasyonu belirlemek amacı ile kanatlar ayrılarak mikroskop altında taranmıştır. Böylece, mutasyon ya da mitotik rekombinasyon sonucu heterozigotluğun kaybedilmesi ile ortaya çıkan mutant hücre klonları araştırılmıştır. Mutant hücre klonları farklı benek gruplarına ayrılarak kaydedilmiştir. Tekli benekler *mwh* veya *flr*<sup>3</sup> fenotipinde iken, ikiz benekler *mwh* ve *flr*<sup>3</sup> fenotiplerini birlikte taşımaktadır. Tekli benekler arasında 1-2 hücreli olanlar küçük tekli benek olarak isimlendirilirken 3 ve daha fazla sayıda hücre gruplarından oluşan beneklere ise büyük tekli benekler denilmektedir (Şekil 3.13). Ayrıca, somatik hücrelerde genetik değişikliğin indüksiyon zamanı ve beneklerin büyüklüğü arasında pozitif bir ilişkinin olduğu belirtilmektedir. Eğer mutasyon, hücre bölünmesinin yoğun olduğu erken dönemde olursa, bu mutant hücreden köken alan hücreler daha fazla ve daha büyük benekler içerecektir [172]. İstatistik analizlerde kanat beneklerinin içerik ve



büyüklüğüne göre sınıflandırılması (küçük tekli benek, büyük tekli benek ve ikiz benek) ile oluşturulan veriler kullanılmaktadır (Şekil 3.13).



**Şekil 3.13.** Çeşitli kanat benek tipleri (10x40)

**a:** *mwh* genotipindeki küçük tekli benek **b:** *mwh* genotipindeki büyük tekli benek, **c:** *flr<sup>3</sup>* genotipindeki büyük tekli benek, **d:** İkiz benek

#### Çaprazlama için birey seçimi

Trans-heterozigot larvaların elde edilmesi için *flare* dişiler 4'er saat aralıklarla virgin iken toplanmış ve yeni bir besin ortamına alınmıştır. Yeterince virgin dişi birey toplandıktan sonra uygulamaların yapılacağı trans-heterozigot larvaların elde edilebilmesi için her şişede 40 *mwh* erkek, 40 *flare* dişi olacak şekilde çaprazlamalar yapılmıştır. Oogenezin gerçekleşmesi için erkek ve dişi bireyler en az bir gün süre ile aynı ortamda bırakılmıştır. Uygulama yapılacak olan larvaların aynı evrede olabilmesi için oogenezi gerçekleştirmiş olan bireylerin 8 saat boyunca yeni bir besin ortamına alınarak bu süre boyunca yumurta bırakmaları sağlanmıştır. Aynı bireyler yumurta toplama işlemi için defalarca kullanılmıştır.

### Çözeltilerin hazırlanması ve deney gruplarına uygulanması

Öncelikle çalışmamızda kullandığımız antineoplastik ilaçların sulu çözeltileri hazırlanmıştır. Çalışmamızda ilk olarak antineoplastik ilaçların *D. melanogaster* larvaları üzerindeki LD<sub>50</sub> (bir popülasyondaki bireylerin yarısını 24 saatte öldüren doz) dozları belirlenmiştir. Bu amaçla streptozotosin için farklı konsantrasyonlarda (0,0625; 0,125; 0,25; 0,5 ve 1 mg/mL) hazırlanan ilaç çözeltilerinden 5 mL alınarak içerisinde 1,5 g hazır *Drosophila* besini (*Drosophila* Instant Medium) bulunan kültür tüplerine 100'er larva konulmuş ve larvalardan ergine dönüşebilen bireyler sayılmıştır. Her bir deney üçer kez tekrar edilmiştir. Sonuçta streptozotosin için *D.melanogaster* larvalarında LD<sub>50</sub> dozu 0,25 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Diğer ilaç olan siklofosfamid için ise 0,25; 0,5; 1; 2,5 ve 5 mg/mL oranlarında çözeltiler hazırlanmıştır. Aynı uygulamalar yapıldığında siklofosfamid için LD<sub>50</sub> dozu 2,5 mg/mL olarak tespit edilmiştir. Ayrıca hem pozitif etil metansülfonat (EMS) hem de negatif (distile su) kontrol gruplarına ait deney setleri hazırlanmıştır.

### Ergin bireylerin toplanması ve kanat preparatlarının hazırlanması

Uygulama ortamında antineoplastik ajanlara maruz bırakılan larvalardan, pupa evresini takiben, çıkan ergin bireyler günlük olarak, eterle bayıltılarak toplanmış ve kanat preparatlarını hazırlamak için bu bireyler %70'lik etil alkole konularak +4°C'de buzdolabında muhafaza edilmiştir. Daha sonra bu bireyler kanat morfolojilerine göre normal kanatlı (trans-heterozigot *mwh/flr<sup>3</sup>*) ve serrat kanatlı (dengelenmiş heterozigot *mwh/TM3, BdS*) olarak iki gruba ayrılmıştır. Bunlardan normal fenotipe sahip (*mwh/flr<sup>3</sup>*) olan kanatlar, hem mutasyon, hem de rekombinasyon sonucu oluşan mutant klonları içermesine karşın, serrat kanatlar (*mwh/TM3, BdS*), dengeleyici kromozomun rekombinasyonu baskılanması nedeniyle sadece mutasyon sonucu oluşan klonları içermektedir [174]. Bu nedenle, her iki fenotipteki kanatların da preparatları ayrı ayrı hazırlanarak değerlendirilmiştir.

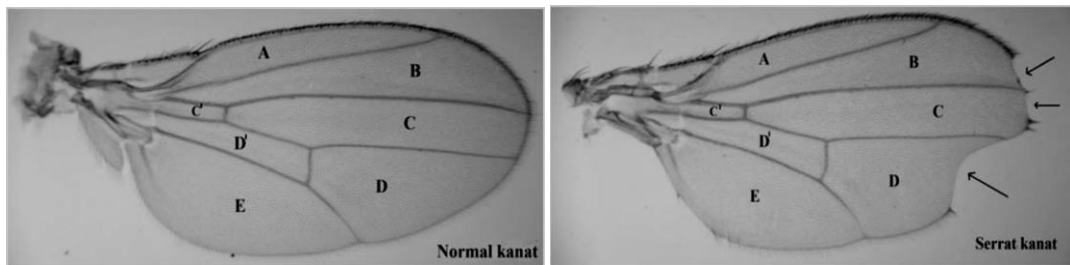
Kanat preparatlarını hazırlamak için Negishi et al. [175] ile Schaik ve Graf [176]'ın çalışmalarında kullandıkları “Faure solüsyonu” hazırlanmıştır (Çizelge 3.2). Kanat preparatları hazırlanırken çukur lam üzerine Faure solüsyonundan bir iki damla konulmuştur. Distile suya alınmış olan her bir sinek, Faure solüsyonu damlatılmış çukur lama alınmıştır. Binoküler mikroskop altında ince uçlu pens ile kanatlar vücuda bağlandığı yerden tutularak kanat üzerindeki kıllara ve kanada zarar verilmeyecek şekilde vücuttan özenle ayrılmıştır. Her bir bireyin kanadı ayrıldıktan sonra aynı bireye ait kanatlar lam üzerine uygun aralıklarla yerleştirilmiştir. Lam üzerine yeterince kanat çifti (96 adet) yerleştirildikten sonra preparatlar kuruması için tozsuz bir ortamda bir gün bekletilmiştir. Preparatlar kuruduktan sonra lamlara bir iki damla entellan damlatılarak hava kabarcığı kalmayacak şekilde üzeri lamel (24x60mm) ile kapatılmıştır.

**Çizelge 3.2.** Faure solüsyonunun içeriği

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

#### Kanat preparatlarının mikroskopik analizi

Temiz bir şekilde hazırlanmış olan kanat preparatları 10X40 büyütmede ışık mikroskopunda incelenmiştir. Kanatların incelenmesinde, kolaylık olması açısından kanatlar Şekil 3.14'deki gibi A, B, C, C', D, D' ve E sektörlerine ayrılmıştır.



**Şekil 3.14.** Normal ve serrat kanat fenotiplerine ait sektörler (10x10)

Kanatların mutant klon taşıyıp taşımadığını incelemek için, hem dorsal hem de ventral yüzeydeki hücre tabakaları ayrı ayrı incelenmiştir. Kanat yüzeyindeki her bir sektör ayrı ayrı taranarak *mwh* ve/veya *flr<sup>3</sup>* mutant klonlar sayılarak kayıtları tutulmuştur. Sayımda kayıtları tutulan mutant klonlar aşağıdaki gibidir;

- Küçük tek tip klon (1-2 *mwh* hücre)
- Büyük tek tip klon ( $\geq 3$  *mwh* veya  $\geq 4$  *flr<sup>3</sup>* hücre)
- İkiz klon (*mwh* ve *flr<sup>3</sup>* hücrelerin ikisini de yan yana içeren klonlar)

Bu sınıflandırmanın biyolojik açıdan anlamlı olduğu Graf et al. (1984) [15] tarafından gösterilmiştir. Sınıflandırmada küçük tek tip klonlar yalnızca *mwh* hücrelerden oluşmaktadır. Varyasyonla oluşan ve *flr<sup>3</sup>* gibi görünen hücreleri mutantlardan ayırmak için sayıma 4'den daha fazla sayıdaki *flr<sup>3</sup>* hücreler dahil edilmiştir [15]. Büyük tek tip klonlar ise 3 veya daha fazla *mwh* ya da *flr<sup>3</sup>* mutant hücrenin oluşturduğu klonlardır. İkiz klonlar, *mwh* ve *flr<sup>3</sup>* hücreler aynı klon içerisinde dağılmış olarak bulunduğu durumda oluşan klonlardır. İkiz klon, *mwh* ve *flr<sup>3</sup>* hücrelerin yan yana iki ayrı klon olarak bulunmasıyla da oluşabilir. Ancak, yan yana bulunan *mwh* ve *flr<sup>3</sup>* klonların arasındaki yabancı tip trikomların sayısı üçü geçmiyorsa aynı klon içerisinde değerlendirilerek ikiz klon denilmektedir.

#### Klon indüksiyon frekansının hesaplanması

Klon indüksiyon frekansı aşağıdaki formülle hesaplanmıştır [177].

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

Bu formüle göre, sadece *mwh* klonları göz önüne aldığımızda, “*f*” *mwh* klonların indüksiyon frekansını, “*n*” gözlenmiş olan toplam *mwh* klon sayısını, “*N*” analiz edilmiş olan kanat sayısını ve “*C*” bir kanat üzerindeki incelenebilecek hücre sayısını göstermektedir. Bir kanat üzerinde incelenebilecek hücre sayısının önceki çalışmalarla 24 400 olduğu bildirildiğinden [178] çalışmamızda da bu sabit değer kullanılmıştır.

### İnhibisyon yüzdesinin hesaplanması

Beyaz çayın antigenotoksik etkisinin değerlendirilmesinde kullanılan inhibisyon yüzdelерinin hesaplanmasında aşağıdaki formül kullanılmıştır [179].

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

Bu formülde “a” genotoksik madde (antineoplastik ilaçlar) uygulamasındaki toplam klon frekansını, “b” genotoksik madde ile antigenotoksik etkisi araştırılan beyaz çay ekstraktının (beyaz çay) 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. Değerlendirmeler yapılırken iki farklı hipotez kurgulanmıştır. Bunlar aşağıdaki şekildedir;

- 1- Orijinal (null) hipotez ( $H_0$ )’de uygulamalar ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark yoktur.
- 2- Alternatif hipotez ( $H_a$ )’de uygulama grubundaki indüklenen mutasyon oranı kontrol grubundakinden  $m$  defa daha fazladır.

Daha sonra  $H_0$  ve  $H_a$  hipotezlerin istatistiksel anlamları binomial şartlı test kullanılarak hesaplanmıştır. Hipotezlerin kabul veya red edilmesine karar verilirken Kastenbaum ve Bowman (1970)’ın çizelgesinden yararlanılmıştır (Çizelge 2.3). Hesaplama sonucunda eğer uygulama grubundaki mutant benek sayısı bu çizelgedeki değere eşit veya bu değerden büyükse  $H_0$  reddedilmiş, kontrol grubundaki mutant benek sayısı eğer çizelgedeki değere eşit veya bu değerden büyükse  $H_a$  reddedilmiştir.  $H_0$  ve  $H_a$ ’nın kabul ya da reddedilmesine göre sonuçlar, Pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) ve negatif (-) olarak değerlendirilmiştir (Frei and Würzler, 1988) (Çizelge 2.3) [180,181].

**Çizelge 3.3.** Hipotezlerin değerlendirilmesi tablosu

<b>HİPOTEZLER</b>		<b>H<sub>a</sub> (Alternatif)</b>	
		<b>KABUL (1-β)</b>	<b>RED (β)</b>
<b>H<sub>0</sub> (Null)</b>	<b>KABUL (1-α)</b>	ÖNEMSİZ FARK (i) $P=(1-\alpha)(1-\beta)= 1-\alpha-\beta + \alpha\beta$	NEGATİF (-) $P=(1-\alpha)\beta= \beta-\alpha\beta$
	<b>RED (α)</b>	POZİTİF (+) $P=\alpha(1-\beta)= \alpha- \alpha\beta$	ZAYIF POZİTİF (z) $P= \alpha\beta$

## 4. BULGULAR

Bu çalışmada *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile kanser tedavisinde sıklıkla kullanılan iki antineoplastik ilacın mutajenik etkilerine karşı beyaz çayın antigenotoksik ve antimutajenik etkileri araştırılmış ve elde edilen veriler istatistiksel açıdan değerlendirilmiştir.

### 4.1. Trans-heterozigot Larvalar İçin Hayatta Kalış Oranlarının (Larval Mortalite) Belirlenmesi

Çalışmamızda öncelikle beyaz çayın *D. melanogaster* üzerindeki olası toksik etkilerini tespit etmek amacıyla 3 günlük trans-heterozigot larvalar farklı konsantrasyonlarda (5; 2,5; 1,25; 0,625 ve 0,3125 mg/mL) beyaz çay ile kronik olarak beslenmiştir. Yapılan bu ön çalışma sonucunda beyaz çayın hiçbir konsantrasyonda toksik etki göstermediği ve larval mortaliteyi artırmadığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.1). En yüksek beyaz çay konsantrasyonunda (5 mg/mL) bile larvadan erginleşemeyen birey sayısının negatif kontrol grubu olan distile su grubundan daha düşük olduğu görülmüştür (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Farklı konsantrasyonlarda beyaz çay ile kronik olarak beslenen trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları

Uygulama Grupları	Konsantrasyon (mg/mL)	Larva Sayısı	Mortalite Oranı (%)	Hayatta Kalış Oranı (%)
Kontrol (Distile Su)		100	4	96
Beyaz Çay	0,3125	100	4	96
	0,625	100	3	97
	1,25	100	4	96
	2,5	100	2	98
	5	100	2	98

Daha sonra çalışmamızda kullanılan antineoplastik ilaçların (Streptozotosin ve Siklofosamid) *D. melanogaster* larvaları üzerindeki LD<sub>50</sub> dozları belirlenmiştir. Bu amaçla her antineoplastik ilaç için ayrı ayrı deney setleri oluşturulmuş ve farklı konsantrasyonlarda hazırlanan ilaç çözeltileri ile *Drosophila* larvalarının beslenmesi

sağlanmıştır. Sonuçta *D. melanogaster*'in 72±4 saatlik trans-heterozigot larvalarında streptozotosin için LD<sub>50</sub> dozu 0,25 mg/mL, siklofosfamid için ise 2,5 mg/mL olarak belirlenmiştir. Bu ön çalışmayla aynı zamanda kanser ilaçlarının larval mortalite oranları da belirlenmiştir (Çizelge 4.2 ve Çizelge 4.3).

Ayrıca araştırmamızda elde edilen verilerle karşılaştırma yapılabilmesi için negatif kontrol grubu için distile su, pozitif kontrol grubu için alkilleyici bir ajan olan Etil metansülfonat (EMS) 1mM konsantrasyonda kullanılmıştır.

**Çizelge 4.2.** Farklı konsantrasyonlarda streptozotosine maruz kalan trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları

Uygulama Grupları	Konsantrasyon (mg/mL)	Larva Sayısı	Mortalite Oranı (%)	Hayatta Kalış Oranı (%)
Kontrol (Distile su)		100	2	98
Streptozotosin	0,0625	100	8	92
	0,125	100	40	60
	0,25	100	52	48
	0,50	100	92	8
	1	100	100	0

Streptozotosin için en düşük doz olan 0,0625 mg/mL'de hayatta kalış oranı %92 iken en yüksek doz olan 1 mg/mL'de hiç larvadan erginleşebilen hiçbir birey olmamıştır (Çizelge 4.2). Siklofosfamid uygulamasında ise en yüksek dozda (5 mg/mL) mortalite oranının %88 olduğu görülmüştür (Çizelge 4.3).

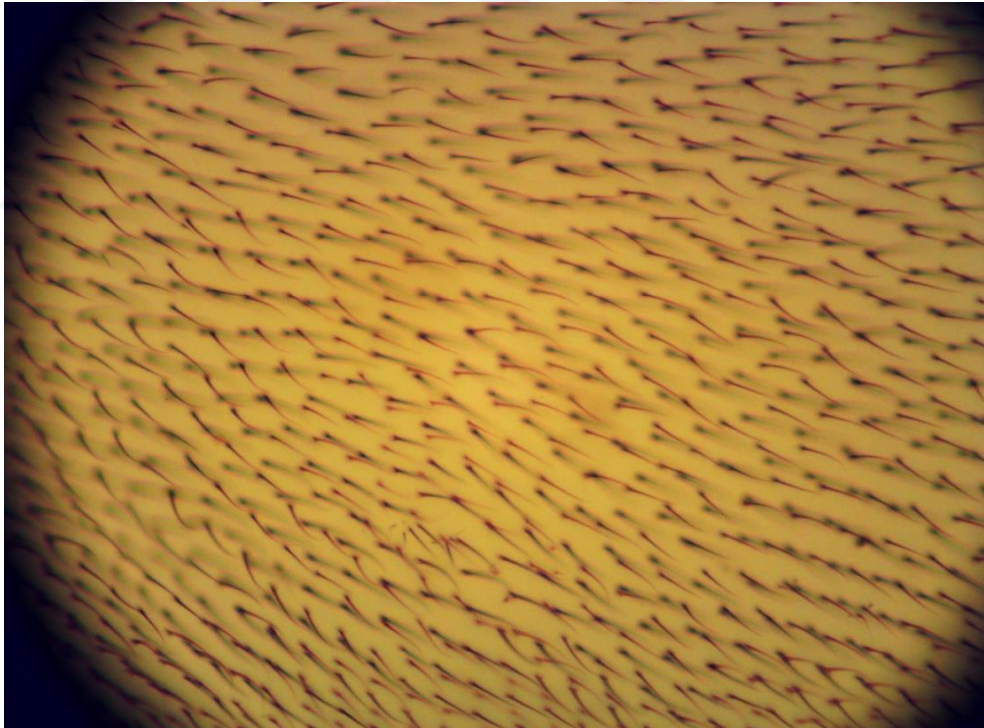
**Çizelge 4.3.** Farklı konsantrasyonlarda siklofosfamide maruz kalan trans-heterozigot larvaların hayatta kalış ve mortalite oranları

Uygulama Grupları	Konsantrasyon (mg/mL)	Larva Sayısı	Mortalite Oranı (%)	Hayatta Kalış Oranı (%)
Kontrol (Distile su)		100	2	98
Siklofosfamid	0,25	100	2	98
	0,5	100	10	90
	1	100	34	76
	2,5	100	48	52
	5	100	88	12

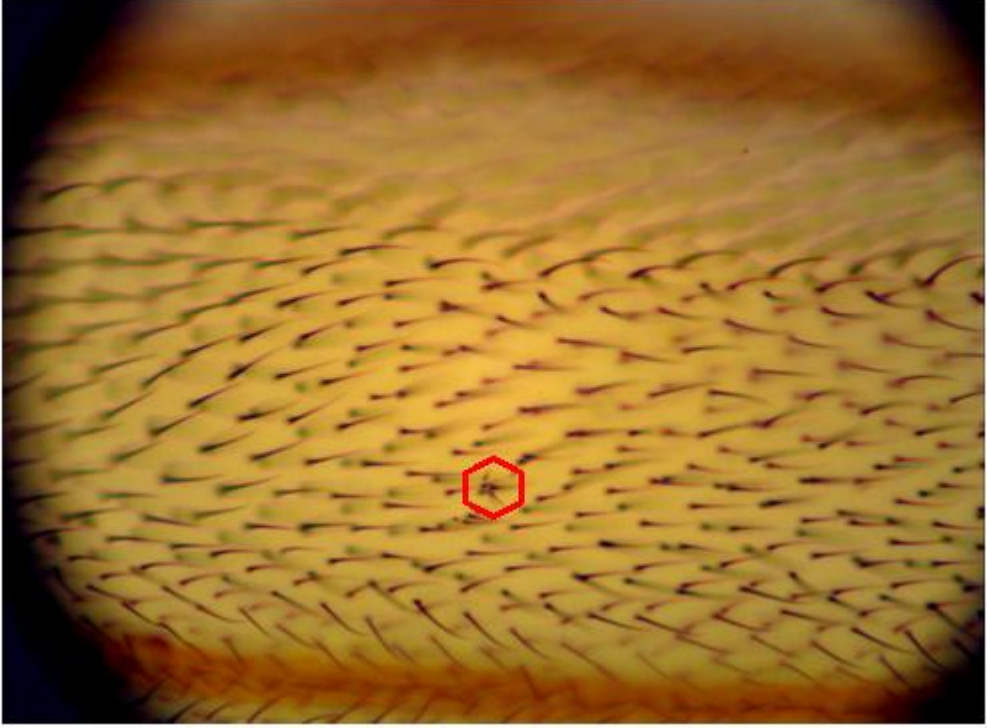


## 4.2. Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile Elde Edilen Bulgular

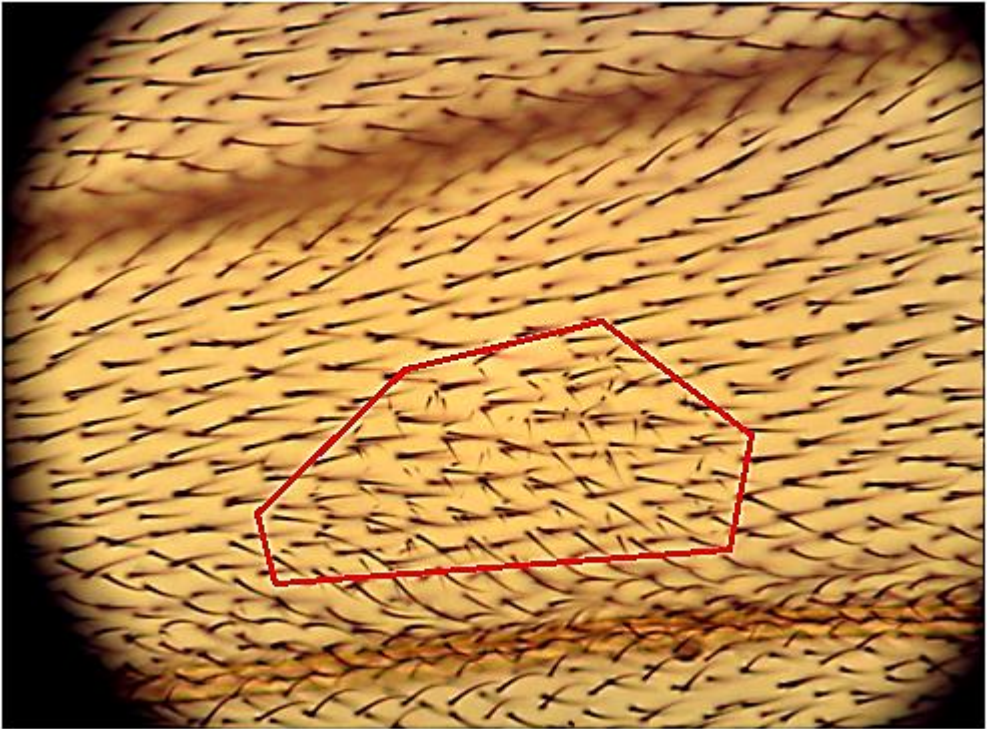
SMART verilerinin değerlendirilmesi için, iki farklı antineoplastik ilacın çeşitli konsantrasyonlarda trans-heterozigot larvalara uygulanması sonucunda elde edilen ergin bireylerden normal (*mwh/flr<sup>3</sup>*) ve serrat kanat (*mwh/TM3*) fenotipine ait olanları ayrılarak kanat preparatları hazırlanmış ve bu preparatlar ışık mikroskopunda incelenmiştir. İnceleme esnasında kanatlarda tespit edilen benekler özelliklerine göre sınıflandırılarak sayılmış ve kontrol grubundan elde edilen verilerle yapılan karşılaştırmalar sonucu elde edilen istatistiki bilgiler çizelgeler oluşturularak kaydedilmiştir (Çizelge 4.4). Ayrıca incelenen preparatlarda karşılaşılan tüm kanat benek tiplerine ait fotoğraflar çekilerek sunulmuştur (Şekil 4.1-5).



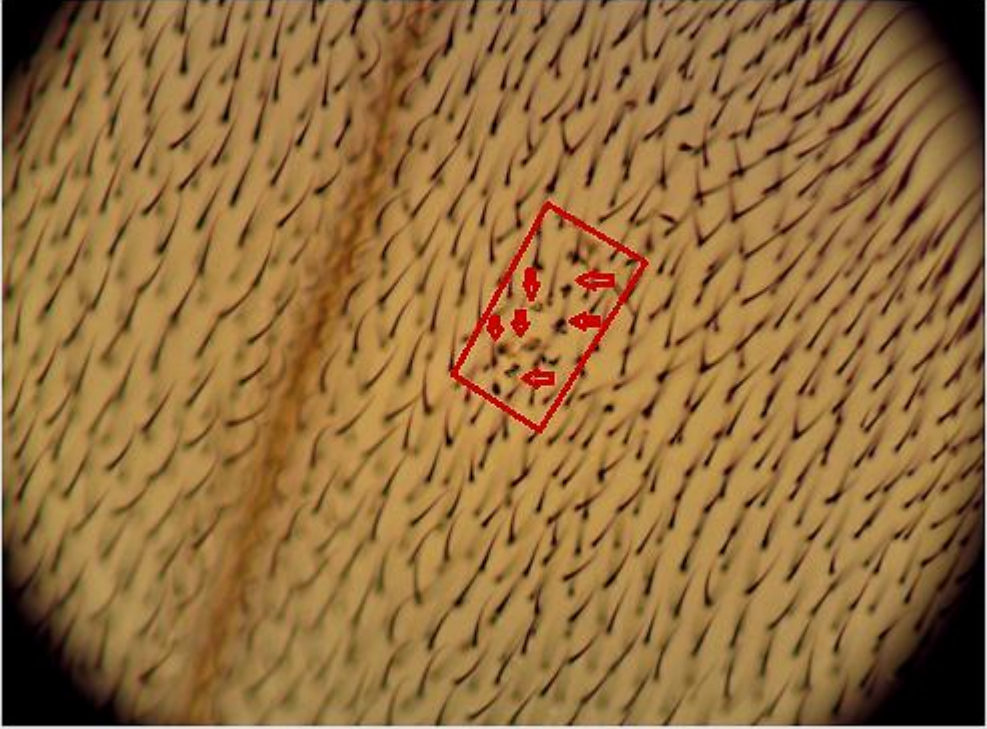
Şekil 4.1. Normal kanat kıllarının mikroskop görüntüsü (400X)



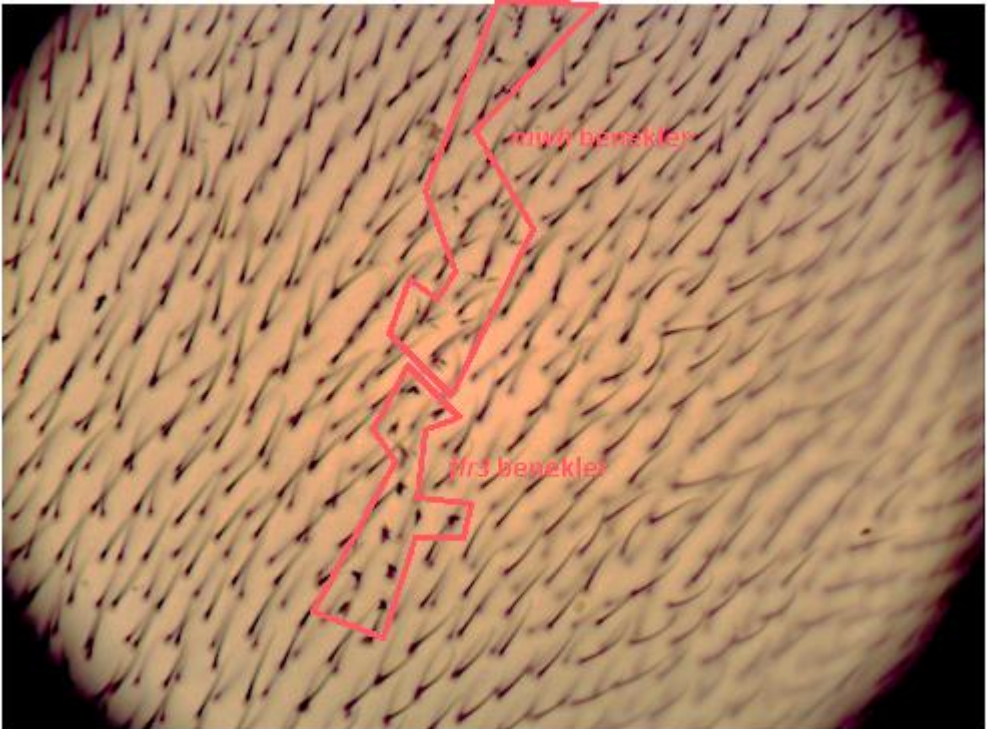
Şekil 4.2. Küçük tekli *mwh* benek taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü (400X)



Şekil 4.3. Büyük tekli *mwh* benek taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü (400X)



Şekil 4.4. Büyük tekli  $flr^3$  benek taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü (400X)



Şekil 4.5. İkiz benek ( $mwh + flr^3$ ) taşıyan kanata ait mikroskop görüntüsü (400X)

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

Çalışmamızda gerek literatür bilgileri ve gerekse yaptığımız ön çalışmaların sonuçları doğrultusunda pozitif kontrol grubu olarak 1mM'lık EMS'nin kullanılması uygun bulunmuştur. Bu konsantrasyon ile genotoksik olarak etkilenmiş yeteri sayıda canlı birey elde etmek mümkün olmuştur.

1mM EMS uygulama grubuna ait SMART sonuçları incelendiğinde larvalardan gelişen ergin bireylerin kanatlarında tüm klon tiplerinde distile su kontrol grubuna göre sayısal olarak önemli artışların olduğu belirlenmiştir (Çizelge 4.4). Negatif kontrol grubunun normal kanat fenotipinde küçük tek tip, büyük tek tip, ikiz, toplam *mwh* ve toplam klon frekansları sırasıyla 0,14; 0,04; 0,01; 0,15 ve 0,19 iken bu oranlar EMS uygulama grubunda sırasıyla 1,15; 0,73; 0,48; 2,18 ve 2,35 olarak tespit edilmiştir (Çizelge 4.4). Serrat kanat fenotipinde ise bu oranların negatif kontrol grubunda 0,80; 0,03; 0,15 ve 0,15 iken EMS pozitif kontrol grubunda ise 1,18; 0,50; 1,60 ve 1,60 olarak neredeyse onar kat arttığı gözlemlenmiştir. Gözlemlenen tüm bu artışların istatistiksel olarak anlamlı (+) olduğu hesaplanmıştır. Serrat kanat özelliğine sahip bireylerde *TM3* dengeleyici kromozomunun etkinliğinden dolayı *flr<sup>3</sup>* mutasyonunun gerçekleşmediği ve bundan dolayı ikiz klon meydana gelmediği görülmüştür (Çizelge 4.4).

Klon İndüksiyon Frekans (KİF) değerleri incelendiğinde ise normal kanatta kontrol grubuna ait değer 0,61 iken EMS uygulama grubunda bu değer 8,91'e, serrat kanat fenotipinde ise 0,61'den 6,56'ya çıktığı görülmüştür (Çizelge 4.4). Elde edilen tüm bu veriler EMS'nin güçlü bir genotoksik ajan olduğunu kanıtlar niteliktedir.

**Çizelge 4.4.** EMS uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri

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 <sup>5</sup> hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
<b>NORMAL KANAT (mwh/flr<sup>3</sup>)</b>																	
<b>Kontrol (Distile su)</b>	80	11	0,14		3	0,04		1	0,01		12	0,15		15	0,19		0,61
<b>EMS (1mM)</b>	80	92	1,15	+	58	0,73	+	38	0,48	+	174	2,18	+	188	2,35	+	8,91
<b>SERRAT KANAT (mwh/TM3)</b>																	
<b>Kontrol (Distile su)</b>	80	10	0,13		2	0,03		*			12	0,15		12	0,15		0,61
<b>EMS (1mM)</b>	80	94	1,18	+	40	0,50	+				128	1,60	+	128	1,60	+	6,56
EMS: Etil metansülfonat; No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi (Frei and Würgler, 1995), +: 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																	

#### 4.2.2. Beyaz Çay uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları

Çalışmamızda antijenotoksik etkisini araştırdığımız beyaz çay ekstraktları için belirlenen dozların öncelikle *D. melanogaster*'de genotoksik bir etkisinin olup olmadığına bakılmıştır. Bu amaçla farklı konsantrasyonlarda (5; 2,5; 1,25 ve 0,625mg/mL) beyaz çay ekstresi ile beslenen trans-heterozigot larvalardan elde edilen kanat benek verileri ile negatif kontrol grubu olan distile su verileri istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Sonuçta beyaz çay (BÇ) uygulama gruplarından hiçbirinde *mwh*, *flare* ya da ikiz benek sayılarında artış olmadığı ve mutajenik bir etki göstermediği belirlenmiştir (Çizelge 4.5). Sonuçlar istatistiksel açıdan incelendiğinde ya önemsiz fark (i) ya da negatif (-) olarak değerlendirilmiştir ( $p>0,05$ ).

Örneğin negatif kontrol grubunda toplam benek sayısının frekansı normal kanatta 0,19, serrat kanatta 0,15 iken bu değerler BÇ uygulama gruplarında konsantrasyon artışına göre sırasıyla normal kanatta 0,18; 0,18; 0,15 ve 0,14 serrat kanatta ise 0,16; 0,16; 0,13 ve 0,10 şeklinde olmuştur. Bununla birlikte distile su negatif kontrol grubunda 0,61 olan Klon İndüksiyon Frekansı (KİF) değeri BÇ uygulama gruplarında konsantrasyon artış sırasına göre normal kanat fenotipinde 0,71; 0,71; 0,61 ve 0,56 şeklinde olmuşken bu oranlar serrat kanat tipinde 0,67; 0,67; 0,41 ve 0,51 olarak hesaplanmıştır.

**Çizelge 4.5.** Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri

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 <sup>5</sup> hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
<b>NORMAL KANAT (mwh/flr<sup>3</sup>)</b>																	
Distile Su	80	11	0,14		3	0,04		1	0,01		12	0,15		15	0,19		0,61
1mM EMS	80	92	1,15	+	58	0,73	+	38	0,48	+	174	2,18	+	188	2,35	+	8,91
0,625 BÇ	80	11	0,14	i	2	0,03	-	1	0,01	i	14	0,18	i	14	0,18	-	0,71
1,25 BÇ	80	10	0,13	-	3	0,04	i	1	0,01	i	14	0,18	i	14	0,18	-	0,71
2,5 BÇ	80	10	0,13	-	1	0,01	-	1	0,01	i	12	0,15	i	12	0,15	-	0,61
5 BÇ	80	8	0,10	-	3	0,04	i	0	0,00	-	11	0,14	-	11	0,14	-	0,56
<b>SERRAT KANAT (mwh/TM3)</b>																	
Distile su	80	10	0,13		2	0,03		*			12	0,15		12	0,15		0,61
1mM EMS	80	94	1,18	+	40	0,50	+				128	1,60	+	128	1,60	+	6,56
0,625 BÇ	80	10	0,13	i	3	0,04	i				13	0,16	i	13	0,16	i	0,67
1,25 BÇ	80	11	0,14	i	2	0,03	i				13	0,16	i	13	0,16	i	0,67
2,5 BÇ	80	8	0,10	-	0	0,00	-				8	0,10	-	8	0,10	-	0,41
5 BÇ	80	9	0,11	-	1	0,01	-				10	0,13	-	10	0,13	-	0,51
BÇ: Beyaz Çay, No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi (Frei and Würger, 1995), +: 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. Antineoplastik ilaç uygulaması sonucu elde edilen SMART bulguları

Genotoksik etkilerini araştırdığımız iki farklı antineoplastik ilacın daha önce belirlenen LD<sub>50</sub> konsantrasyonları ile yapılan SMART uygulamasından elde edilen veriler ile negatif kontrol grubu olan distile su uygulamasından elde edilen veriler istatistiksel olarak karşılaştırılmıştır. Elde edilen verilere göre tüm benek tiplerinde kontrol grubuna göre oldukça fazla artışın olduğu gözlemlenmiştir. Sonuçlar istatistiksel açıdan da pozitif (+) olarak değerlendirilmiştir ( $p < 0,05$ ) (Çizelge 4.6). Benek sayılarındaki artışların pozitif kontrol grubuna yaklaştığı gözlemlenmiştir.

Normal kanat fenotipinin negatif kontrol grubunda küçük tekli benek, büyük tekli benek, ikiz benek, toplam *mwh* benek ve toplam benek frekansları sırasıyla 0,14; 0,04; 0,01; 0,15 ve 0,19 iken Streptozotosin (STZ) uygulama grubunda bu oranlar sırasıyla 0,93; 0,35; 0,10; 1,31 ve 1,38 şeklinde olmuştur (Çizelge 4.6). Aynı oranlar Siklofosfamid (SF) uygulama grubunda ise sırasıyla 0,87; 0,34; 0,10; 1,24 ve 1,29 olarak belirlenmiştir (Çizelge 4.6).

Benzer sonuçlara serrat kanat fenotipinde de rastlanmıştır. Klon indüksiyon frekansı (KİF) değerleri incelendiğinde; kontrol grubunda 0,61 olan değer EMS'de 8,91; STZ'de 5,04; SF'de ise 5,10 gibi değerlere çıktığı tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Tüm sonuçlar incelendiğinde çalışmamızda kullandığımız antineoplastik ilaçların ikisinin de genotoksik etkili olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ). Kendi aralarında ise Streptozotosinin Siklofosfamide oranla daha fazla genotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).



**Çizelge 4.6.** Antineoplastik ilaçların uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri

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 <sup>5</sup> hücre)
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	
<b>NORMAL KANAT (<i>mwh/flr</i><sup>3</sup>)</b>																	
Distile Su	80	11	0,14		3	0,04		1	0,01		12	0,15		15	0,19		0,61
1mM EMS	80	92	1,15	+	58	0,73	+	38	0,48	+	174	2,18	+	188	2,35	+	8,91
0,25 STZ	80	74	0,93	+	28	0,35	+	8	0,10	+	105	1,31	+	110	1,38	+	5,38
2,5 SF	80	69	0,86	+	27	0,34	+	8	0,10	+	99	1,24	+	103	1,29	+	5,07
<b>SERRAT KANAT (<i>mwh/TM3</i>)</b>																	
Distile su	80	10	0,13		2	0,03		*			12	0,15		12	0,15		0,61
1mM EMS	80	94	1,18	+	40	0,50	+				128	1,60	+	128	1,60	+	6,56
0,25 STZ	80	69	0,86	+	30	0,38	+				99	1,24	+	99	1,24	+	5,07
2,5 SF	80	71	0,89	+	29	0,36	+				100	1,25	+	100	1,25	+	5,12
STZ: Streptozotosin, SF: Siklofosfamid, No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi (Frei and Würzler, 1995), +: 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. Streptozotosin ve Beyaz Çay uygulaması sonucu elde edilen bulgular

Çalışmamızın bu aşamasında öncelikle genotoksik etkilerini araştırdığımız ilaçlardan birincisi olan Streptozotosinin uygulama sonuçları tek başına negatif kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Daha sonra Streptozotosin ile birlikte beyaz çay (STZ+BÇ) uygulamasından elde edilen veriler sadece Streptozotosin uygulanan gruplarla karşılaştırılmıştır. SMART ile elde edilen tüm bulgular incelendiğinde, artan beyaz çay konsantrasyonuna bağlı olarak tüm benek tiplerinde sayısal olarak anlamlı bir düşüş olduğu belirlenmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.7).

Sadece 0,25mg/mL Streptozotosin uygulanmış gruplarda normal kanat fenotipli bireylerde küçük tek tip, büyük tek tip, ikiz, toplam *mwh* ve toplam benek sayıları sırasıyla 0,93; 0,35; 0,10; 1,31 ve 1,38 iken; birlikte beyaz çay (BÇ) uygulanmış STZ+BÇ gruplarında bu oranlar özellikle 0,25STZ+2,5BÇ uygulama grubunda sırasıyla 0,40; 0,19; 0,03; 0,60 ve 0,61 değerlerine kadar anlamlı bir düşüş sergilemiştir. En yüksek BÇ uygulaması olan 0,25STZ+5BÇ grubunda ikiz beneğin hiç oluşmadığı, 1,38 olan toplam benek sayısının da 0,63'lere kadar gerilediği gözlemlenmiştir (Çizelge 3.7). Serrat kanat fenotipinde ise küçük tek tip, büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon frekansları sırasıyla 0,80; 0,03; 0,16 ve 0,16 iken 0,25mg/mL uygulama grubunda bu oranların 0,86; 0,38; 1,24 ve 1,24'e yükseldiği görülmüştür. Ancak klon sayısındaki bu artışların istatistiksel olarak hiçbir uygulama grubunda pozitif değer kazanmadığı negatif (-) ya da önemsiz sonuç (i) verdiği gözlenmiştir (Çizelge 4.7).

% İnhibisyon oranları incelendiğinde ise serrat kanat fenotipli bireylerin 0,25STZ+0,625BÇ uygulama grubu hariç tüm uygulama gruplarında anlamlı düşüşler görülmüştür. Öyle ki 0,25STZ+2,5BÇ uygulama grubunda % inhibisyon oranı %55,79 olarak hesaplanmıştır. Elde edilen bu verilerden beyaz çay ekstraktının streptozotosin ile indüklenen genotoksisite oranını neredeyse yarıya indirdiği sonucuna ulaşılmıştır (Çizelge 4.7).

**Çizelge 4.7.** Streptozotosin ve beyaz çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri

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 <sup>5</sup> hücre)	% İnhibisyon
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D		
<b>NORMAL KANAT (mwh/flr<sup>3</sup>)</b>																		
Distile Su	80	11	0,14		3	0,04		1	0,01		12	0,15		15	0,19		0,61	
0,25 STZ	80	74	0,93	+	28	0,35	+	8	0,10	+	105	1,31	+	110	1,38	+	5,38	
0,25 STZ+0,625 BÇ	80	70	0,88	-	25	0,31	-	8	0,10	i	98	1,22	-	103	1,29	-	5,02	6,52 ↓
0,25 STZ+1,25 BÇ	80	52	0,65	-	15	0,19	-	1	0,01	-	68	0,85	-	68	0,85	-	3,48	38,40 ↓
0,25 STZ+2,5 BÇ	80	32	0,40	-	15	0,19	-	2	0,03	-	48	0,60	-	49	0,61	-	2,46	55,79 ↓
0,25 STZ+5 BÇ	80	38	0,48	-	12	0,15	-	0	0,00	-	50	0,63	-	50	0,63	-	2,56	54,34 ↓
<b>SERRAT KANAT (mwh/TM3)</b>																		
Distile su	80	10	0,8		2	0,03		*			12	0,16		12	0,16		0,61	
0,25 STZ	80	69	0,86	+	30	0,38	+				99	1,24	+	99	1,24	+	5,07	
0,25 STZ+0,625 BÇ	80	66	0,83	-	35	0,44	i				101	1,26	i	101	1,26	i	5,17	0,00
0,25 STZ+1,25 BÇ	80	50	0,62	-	16	0,20	-				66	0,83	-	66	0,83	-	3,38	33,06 ↓
0,25 STZ+2,5 BÇ	80	36	0,45	-	10	0,13	-				46	0,58	-	46	0,58	-	2,36	53,22 ↓
0,25 STZ+ 5 BÇ	80	35	0,44	-	10	0,13	-				45	0,56	-	45	0,57	-	2,31	54,03 ↓
STZ: Streptozotosin, BÇ: Beyaz Çay, No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi (Frei and Würglers, 1995), +: pozitif; -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı, *: TM3 dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$ No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi (Frei and Würglers, 1995), +: 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. Siklofosfamid ve Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen bulgular

Çalışmamızın son aşamasında ikinci antineoplastik ilacımız olan Siklofosfamidin daha önce tespit edilen LD<sub>50</sub> dozunda (2,5mg/mL) yapılan uygulama sonucu elde edilen verileri negatif kontrol grubuyla karşılaştırılmıştır. Daha sonra Siklofosfamid ile birlikte farklı konsantrasyonlarda (0,625; 1,25; 2,5 ve 5mg/mL) beyaz çay (STZ+BÇ) uygulamasından elde edilen veriler sadece Siklofosfamid uygulanan gruplarla karşılaştırılmıştır. SMART ile elde edilen tüm bulgular incelendiğinde, Streptozotosin grubunda olduğu gibi artan beyaz çay konsantrasyonuna bağlı olarak tüm benek tiplerinde sayısal olarak anlamlı bir düşüşün olduğu tespit edilmiştir ( $p<0,05$ ) (Çizelge 4.8).

Siklofosfamidin tek başına uygulandığı grupta normal kanat fenotipli bireylerde küçük tek tip, büyük tek tip, ikiz, toplam *mwh* ve toplam benek sayıları sırasıyla 0,86; 0,34; 0,10; 1,24 ve 1,29 iken; birlikte beyaz çay (BÇ) uygulanmış SF+BÇ gruplarında bu oranlar 2,5SF+5BÇ uygulama grubunda normal kanat fenotipinde sırasıyla 0,44; 0,19; 0,01; 0,64 ve 0,64 değerlerine kadar anlamlı bir şekilde düşmüştür. Serrat kanat fenotipinde ise bu oranlar 0,40; 0,10; 0,50 ve 0,50 şeklinde sıralanmıştır. Tüm SF+BÇ uygulama gruplarından elde edilen verilere göre konsantrasyon artışına paralel olarak benek sayılarında anlamlı düşüşler tespit edilmiştir (Çizelge 4.8).

Beyaz çay uygulaması sonucu elde edilen % İnhibisyon oranları incelendiğinde hem normal hem de serrat kanat fenotipli bireylerin tümünde konsantrasyon artışına uygun şekilde genotoksik etkinin inhibe edildiği belirlenmiştir. Özellikle en yüksek konsantrasyona sahip 2,5SF+5BÇ uygulama grubunda normal kanatlı bireylerde % inhibisyon oranı %50,38 iken serrat kanatlı bireylerde bu oran %60,00'a kadar çıkmıştır (Çizelge 4.8). Elde edilen tüm bu verilerden beyaz çay ekstraktının aynı şekilde streptozotosin uygulama grubunda olduğu gibi siklofosfamid uygulama gruplarında da indüklenen genotoksisiteyi büyük oranda inhibe ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.8).

**Çizelge 4.8.** Siklofosfamid ve Beyaz Çay uygulaması sonucu SMART ile elde edilen veriler ve istatistiksel açıdan değerlendirilmeleri

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 <sup>5</sup> hücre)	% İnhibisyon
		No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D	No	Fr.	D		
<b>NORMAL KANAT (mwh/flr<sup>3</sup>)</b>																		
Distile Su	80	11	0,14		3	0,04		1	0,01		12	0,15		15	0,19		0,61	
2,5 SF	80	69	0,86	+	27	0,34	+	8	0,10	+	99	1,24	+	103	1,29	+	5,07	
2,5 SF+0,625 BÇ	80	61	0,76	-	24	0,30	-	5	0,06	-	87	1,09	-	90	1,13	-	4,46	12,40 ↓
2,5 SF+1,25 BÇ	80	56	0,70	-	21	0,26	-	2	0,03	-	78	0,98	-	79	0,99	-	4,00	23,25 ↓
2,5 SF+2,5 BÇ	80	34	0,43	-	17	0,21	-	1	0,01	-	51	0,64	-	52	0,65	-	2,61	49,61 ↓
2,5 SF+5 BÇ	80	35	0,44	-	15	0,19	-	1	0,01	-	51	0,64	-	51	0,64	-	2,61	50,38 ↓
<b>SERRAT KANAT (mwh/TM3)</b>																		
Distile su	80	10	0,13		2	0,03		*			12	0,15		12	0,15		0,61	
2,5 SF	80	71	0,89	+	29	0,36	+				100	1,25	+	100	1,25	+	5,12	
2,5 SF+0,625 BÇ	80	66	0,83	-	26	0,33	-				88	1,10	-	88	1,10	-	4,51	12,00 ↓
2,5 SF+1,25 BÇ	80	61	0,76	-	21	0,26	-				82	1,03	-	82	1,03	-	4,20	17,60 ↓
2,5 SF+2,5 BÇ	80	37	0,46	-	12	0,15	-				49	0,61	-	49	0,61	-	2,51	51,20 ↓
2,5 SF+ 5 BÇ	80	32	0,40	-	8	0,10	-				40	0,50	-	40	0,50	-	2,05	60,00 ↓
SF: Siklofosfamid, BÇ: Beyaz Çay, No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi (Frei and Würglers, 1995), +: pozitif; -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı, * : TM3 dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$ No: Benek sayısı, Fr: Frekans, D: İstatistik sonuçların gösterimi (Frei and Würglers, 1995), +: pozitif; -: negatif, i: önemsiz fark, m: çarpım faktörü, KİF: Klon İndüksiyon Frekansı, * : TM3 dengeleyici kromozomundan dolayı ikiz benek oluşmamaktadır. Olasılık düzeyi: $\alpha=\beta=0,05$																		

## 5. TARTIŞMA VE SONUÇ

Kanser tedavisi için kullanılan antineoplastik ilaçların aynı zamanda sağlıklı birçok hücre ve dokuda da olumsuz etkiler yarattığı bilinmektedir. Bu nedenle kanser ilaçlarının olası bu tür yan etkilerini en aza indirmek veya tamamen ortadan kaldırmak adına alternatif ve ilave ilaç ya da besin maddeleriyle yapılan çalışmalar her geçen gün artmaktadır. Bu anlamda gerek ek takviye olarak etkinliklerini belirleme ve gerekse tamamen antikanser etkinliklerini ortaya çıkarmak adına bitkisel kaynaklı besinler ile bunların aktif bileşenlerine ilgi son yıllarda oldukça artmıştır [182].

Antikanser ilaçların en önemli yan etkilerinden birisi de sağlıklı doku ya da hücrelerde oluşturabilecekleri genotoksik etkilerdir. Bu nedenle bu tür ilaçların genotoksik etkinliğini belirlemek ve bu etkileri en aza indirmek kanser tedavisi açısından oldukça önemlidir.

Bu çalışmada Streptozotosin (STZ) ve Siklofosfamid (SF) antikanser ilaçlarının olası genotoksik etkilerinin Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile belirlenmesi ve bu etkilerin beyaz çay ekstraktları ile azaltılması amaçlanmıştır.

*Drosophila melanogaster* ırkları ile gerçekleştirilen bir mutajenite belirleme yöntemi olan SMART'ın en önemli avantajı mitotik rekombinasyonları da içeren mutasyon etkilerini fenotipte gösterebilmesidir [183,184]. Literatürde, halk arasında alternatif tıpta sıklıkla tüketilen birçok bitkinin bizim de çalışmamızda kullandığımız SMART ile genotoksik ve antigenotoksik etkilerinin araştırıldığı çalışmalara rastlamak mümkündür. Örneğin; [185] Fernandes et al. (2017) tarafından yapılan bir çalışmada Alıç yaprağında bulunan bir flavonoid olan viteksinin antigenotoksik etkisi *Drosophila*'da araştırılmıştır. Viteksin flavonoidinin doksorubusin ve benzopiren gibi mutasyonları indükleyici ajanların artırdığı kanat beneklerinin sıklığını istatistiksel olarak azaltarak antigenotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir. Bir diğer çalışmada ise Kuzey Amerika'da geleneksel olarak halk tarafından tüketilen *Peumus*

*boldus* ve *Cryptocarya alba* bitki ekstraktlarının Etil metansülfonat (EMS)'a karşı antimutajenik etkiler oluşturduğu gözlemlenmiştir [186].

[187] Prakash et al. (2014)'nın yaptığı bir çalışmada, *Dioscorea pentaphylla* bitkisinin farklı çözücülerle hazırlanan ekstraktlarının içerdikleri alkaloidler, flavonoidler, fenoller, saponinler, taninler ve terpenoidler sayesinde Metil Metan Sülfonat (MMS)'ın radikal gruplarıyla etkileşime girerek oluşan mutajenik etkilerin etkisiz hale getirebileceği sonucuna ulaşılmıştır.

Narenciye suları (portakal ve limon suyu) ve bunların en önemli iki aktif bileşenlerinin (hesperidin ve limonen) genotoksik, antigenotoksik, sitotoksik ve ömür uzatıcı etkinliklerinin araştırıldığı bir diğer çalışmada ise limon suyu ve limonenin yüksek konsantrasyonlarda genotoksik ve sitotoksik olmasına karşın düşük konsantrasyonlarda *Drosophila*'da ömür uzatıcı etkinliklerinin olduğu belirlenmiştir. Aynı çalışmada portakal suyunun, DNA'yı serbest radikallere karşı koruyarak tümör hücrelerinin büyümesini inhibe eden ve antigenotoksik etkiler gösteren ömür uzatıcı önemli bir gıda takviyesi (nutrasötik) olduğu vurgulanmıştır [188].

Halk arasında geleneksel olarak sıklıkla kullanılan 6 farklı bitki türü (*Matricaria chamomilla*, *Tilia cordata*, *Mentha piperita*, *Mentha pulegium*, *Uncaria tomentosa* ve *Valeriana officinalis*) ile yapılan SMART çalışmasında, hidrojen peroksitin oluşturduğu genotoksik etkinin tüm bu bitkilerin içerdikleri fenolik bileşiklerin reaktif oksijen türevlerini süpürme kabiliyeti ile ortadan kaldırılabileceği tespit edilmiştir [189].

*Citrus aurentium* L. (Turunç ağacı) meyve kabuğu yağı ekstresinin dört farklı referans mutajene (potasyum dikromat, kobalt klorid, etil metansülfonat ve N-etil-N-nitrosourea) karşı antigenotoksik etkinliğinin araştırıldığı çalışmada bitki ekstresinin tüm mutajenlere karşı antigenotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir [190].

[191] Idaomar ve ark. (2002), yine SMART yöntemini kullanarak *Helichrysum italicum*, *Ledum groenlandicum* ve *Ravensara aromatica* gibi medikal bitkilerin

antimutajenik etkisini araştırmışlar ve bu bitkilerin kanser tedavisinde kullanılan üretan adlı kimyasal maddenin sebep olduğu mutasyon oranında düşüşe sebep olduğunu göstermişlerdir. Ayrıca *Helichrysum italicum* bitkisinin uçucu yağ bileşenlerinin sitokrom P450 enzim sistemini etkileyerek mutajeniteyi azalttığı bildirilmiştir. Bir diğer çalışmada ise *Rosa canina* (Kuşburnu) etanol ekstresinin Etil metansülfonatın (EMS) indüklediği mutajenik etkiyi önemli oranda azalttığı rapor edilmiştir [192].

Propolisin genotoksik ve antigenotoksik etkinliğinin araştırıldığı SMART çalışmasında tek başına propolis su ekstresinin genotoksik olmadığı ve doksorubisinle birlikte kullanıldıklarında antigenotoksik etki gösterdiği belirlenmiştir [193]. Benzer bir çalışmada yine propolisin etanol ekstresinin *Drosophila*'da gıda katkı maddeleri olan sodyum nitrit ve sodyum nitratın oluşturduğu mutajenik etkiyi azalttığı ortaya koyulmuştur [194].

SMART ile yapılan tüm bu çalışmalar incelendiğinde araştırmamız için seçilen *Drosophila* kanat benek testi ya da Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART)'nin ne kadar doğru ve güvenilir olduğunu ortaya koymaktadır.

Çalışmamızda öncelikle antigenotoksik etkinliğini araştırdığımız beyaz ayın (*Camellia sinensis* L.) genotoksik olup olmadığına bakılmıştır. Sonuçta incelediğimiz hiçbir dozda (5; 2,5; 1,25; ve 0,625 mg/mL) herhangi bir toksik ya da genotoksik etkiye rastlanmamıştır (izelge 4.1, 4.5). Literatürde beyaz çay ve diğer çay formları ile onların aktif bileşenlerinin bizim bulgularımızda olduğu gibi toksik etki göstermediğine dair pek çok çalışma vardır [195,196].

Çalışmamızın ikinci kısmında ise antineoplastik kanser ilaçları olan Streptozotosin (STZ) ve Siklofosfamid (SF)'in genotoksik etkileri araştırılmıştır. Literatürde STZ ve SF birçok çalışmada kullanılmasına karşın genotoksik etkinlikleri ile ilgili çok fazla çalışmaya rastlanmamıştır.



Deneşlerimizden elde ettiğimiz verilere göre antineoplastik ilaçların trans-heterezigot larvalarda toksik etkiyi ve buna bağlı olarak mortalite oranlarını artırdığı tespit edilmiştir. Antineoplastik ilaçlardan Streptozotosin için hayatta kalış oranları uygulama gruplarında 1,0; 0,5; 0,25; 0,125 ve 0,0625 mg/mL konsantrasyon için sırasıyla %0, %8, %48, %60 ve %92 şeklinde (izelge 4.2) iken Siklofosamid için bu oranlar 0,25; 0,5; 1,0; 2,5 ve 5 mg/mL konsantrasyonlar için sırasıyla %98, %90, %76, %52 ve %12 olarak tespit edilmiştir (izelge 4.3).

Ayrıca yaptığımız genotoksisite çalışmaları sonucunda her iki maddenin mutajenik ve rekombinojenik etkili olduğu tespit edilmiştir (izelge 4.6). Öyle ki; bir referans mutajen olan EMS ile sonuçlarımız karşılaştırıldığında nerdeyse birçok benek tipinde yakın sonuçlara ulaşılmıştır (izelge 4.6).

Literatürde bizim sonuçlarımıza paralel olarak bu iki antineoplastik ilacın toksik etki yarattığına dair pek çok çalışma mevcuttur. Örneğin farelerde yapılan bir çalışmada; SF'nin glutasyon 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 [197]. 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 oluştuğu elektron mikroskobu ile görüntülenmiştir [198]. Ayrıca SF'nin DNA replikasyonunun inhibisyonuna, baz değişimleri oluşturarak DNA hasarına, kromozomal hatalara, mikronukleus oluşumuna ve somatik mutasyonlara neden olarak genotoksik etkiler gösterdiği yapılan diğer çalışmalarla da tespit edilmiştir [199,200].

*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 [201]. Doğan ve Yeşilada (2015) tarafından yapılan başka bir çalışmada ise Resveratrol adı verilen antioksidan maddenin farklı konsantrasyonlarda

Siklofosamid (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 [202]. 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 [203].

Yapılan çalışmalar sonucunda SF'nin fosforamid mustard (FAM) ve akrolein (ACR) olmak üzere iki aktif metabolitin olduğu belirlenmiştir [204]. SF'nin antineoplasik etkinliğinin FAM metaboliti sayesinde olduğu FAM'ın DNA'ya bağlanarak hücre bölünmesini baskıladığı bu sayede bağışıklığı baskıladığı ve antitümör etkinlik oluşturduğu düşünülmektedir [204]. 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 [205]. Biz de çalışmamızda antineoplastiklerin meydana getirdiği toksik etkilerin SOR birikimine bağlı olarak kaynaklanabileceğini düşünmekteyiz.

Dobrzyńska ve Gajewski (1999)'nin yaptığı bir çalışmada; X ışınları ve SF ile X ışınları ve MMC'yi birlikte kullanarak, fare kemik iliği polikromatik eritrositlerindeki mikronükleus oluşumunun uyarılması araştırılmıştır. Araştırma sonucunda her iki kimyasalın da yüksek ve düşük dozlarının, X ışınların sebep olduğu mutajenik etkileri artırdığı belirlenmiştir [206].

Son birkaç yıla kadar memeli hücrelerinde hücre ölümüne neden olan Streptozotosin (STZ) toksisitesinin gerçek mekanizması ve metabolik hedefleri tam olarak

bilinmese de günümüzde STZ'nin toksik bir beta hücre glikoz analogu ve alkilleyici bir ajan olduğu tam anlamıyla ispatlanmıştır [207].

Yapılan çalışmalarda; STZ'nin hücreyi ölüme götüren üç önemli yolu kullandığı tespit edilmiştir. Bunlar; 1- DNA metilasyonu sonucu aktive olan hücre onarım mekanizmasında görevli Poli(ADP-riboz) polimeraz (PARP) enziminin aşırı NAD<sup>+</sup> kullanımını sonucu hücrede NAD<sup>+</sup> ve ATP tükenmesi, 2- Nitrik Oksit (NO) üretimine neden olması, 3- Hidrojen peroksit gibi serbest oksijen radikal oluşumunu sağlaması. Tüm bu oluşumlar sonucunda hücre nekroz ile yıkıma sürüklenmektedir [208, 209].

STZ'nin toksik etkileriyle ilgili yapılan diğer araştırmalarda; STZ'nin kardiyak ve adipoz doku hasarına neden olduğu ve yüksek dozlarda kullanıldığında oksidatif stres, inflamasyon ve endotelial disfonksiyonu artırdığı belirlenmiştir [210]. Ayrıca deney hayvanları kontrol grupları ile karşılaştırıldığında STZ uygulanan hayvanlarda belirgin bir malondialdehid artışı olurken katalaz, glutatyon peroksidaz ve süperoksit dismutaz gibi antioksidan enzim aktivitelerinde azalmalar tespit edilmiştir [211, 212].

Sıçan pankreasında STZ ile indüklenen oksidatif stres ve beta hücresi bozunmasının Kuersetin antioksidanı ile giderilmesi üzerine yapılan bir çalışma sonucunda STZ'nin lipid peroksidasyonu ve serum Nitrik Oksit (NO) konsantrasyonunu önemli derecede artırdığı, antioksidan enzim aktivitelerini ise azalttığı tespit edilmiştir. Buna karşın Kuersetin bu bozunmaları büyük ölçüde düzenleyici etki göstermiştir [213].

İnsan ve diğer hayvansal organizmalarla yapılan deneysel çalışmalarla; STZ'nin 1mM dozlarda intravenöz olarak verildiğinde, insan böbrek hücrelerinde neoplastik transformasyona neden olduğu ayrıca sıçan böbreği, karaciğer ve pankreasta tümörleri indüklediği gösterilmiştir [214, 215].

Yapılan araştırmalarla STZ'nin insan ve hayvansal organizmalarda sitotoksik etkiler üretme yeteneği açısından, STZ'ye maruz kalabilecek laboratuvar personeli, hayvancılıkla uğraşanlar ve kaza sonucu maruz kalabilecek diğer kişiler için

önemli bir sağlık ve güvenlik tehdidi oluşturabileceği sonucuna ulaşılmıştır. Bu nedenle, Kurumsal Biyogüvenlik Komitesi (IBC), STZ'yi Kurumsal Hayvan Bakımı ve Kullanım Komitesi (IACUC) protokollerinde bildirilmesi gereken raporlanabilir bir tehlikeli kimyasal madde olarak sınıflandırmıştır [207].

Çalışmamızın son kısmında mutajenik, sitotoksik ve genotoksik etkinliğini belirlediğimiz bu iki antineoplastik maddenin beyaz çay ekstresi ile birlikte uygulayarak toksik etkilerini azaltmak veya ortadan kaldırmak planlanmıştır.

Literatürde, bizim çalışmamızda olduğu gibi birçok çalışmada; tıbbi değeri olan ve alternatif tıpta da kullanılan çeşitli bitki ekstralarının antigenotoksik veya antioksidatif etkileri *Drosophila*'da SMART başta olmak üzere çeşitli test teknikleriyle araştırılmıştır [216-220].

Çalışmamızın son aşamasında Streptozotosin ve Siklofosfamid ile birlikte beyaz çay (STZ+BÇ) ve (SF+BÇ) uygulamasından elde edilen veriler sadece Streptozotosin ve sadece Siklofosfamid uygulanan gruplarla ayrı ayrı karşılaştırılmıştır. SMART ile elde edilen tüm bulgular incelendiğinde, artan beyaz çay konsantrasyonuna bağlı olarak tüm benek tiplerinde her iki ilaç grubunda da sayısal olarak anlamlı bir düşüş olduğu belirlenmiştir ( $p < 0,05$ ) (Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8). Ayrıca % İnhibisyon oranları incelendiğinde beyaz çay ekstraktının değişen konsantrasyonlarda antineoplastiklerin oluşturduğu mutasyonları neredeyse yarı yarıya inhibe ettiği belirlenmiştir (Çizelge 4.7 ve Çizelge 4.8). Tüm bu inhibe edici etkinliğin beyaz çayda bulunan aktif bileşiklerden ve bu bileşiklerin antioksidatif etkinliğinden kaynaklandığını düşünmekteyiz. Yapılan pek çok çay ve beyaz çay çalışmalarından elde edilen çalışma sonuçları da bu verileri destekler niteliktedir.

Örneğin yapılan bir araştırmalarda çayın uyarıcılar da dahil olmak üzere geniş fizyolojik özelliklere sahip olduğu düşünülen 4000'den fazla biyoaktif bileşik içerdiği [221] ve bu bileşiklerin antidepresan [222], antiinflamatuvar [223], antioksidan [224-226], antiarteriosklerozis [227], antihipertansif [228], antibakteriyel [229], antimutajenik [230], antikarsinojenik [231-233] antimikrobiyal

[234, 235], antidiyabetik [236, 237], hipolipidemik [238, 239], hipokolestrolemik [240], sinir sistemini koruyucu [241] ve bağımsızlık güçlendirici [242, 243] gibi birçok etkinliğe sahip olduğu tespit edilmiştir.

Çayın antikarsinojenik etkisi ile ilgili yapılan çalışmalarla çay tüketiminin deri, akciğer, yemek borusu, mide, karaciğer, pankreas, meme, prostat ve kolon kanserlerinin oluşumuna neden olan kimyasal kanserojenlere karşı hücredeki DNA hasarını azaltarak koruma sağladığı ortaya koyulmuştur [244]. Ayrıca bu koruma görevini çayın içeriğindeki özellikle kateşin türevi polifenollerin güçlü antioksidan özellikleri ile yaptıkları da düşünülmektedir [245, 246]. Vinson ve Dabbagh (1998), çay kateşinlerinin antioksidan gücünün vitaminlere göre daha yüksek olduğunu ve büyükten küçüğe doğru, çay kateşinlerinin antioksidan aktivitesini epigallokateşin galat (EGCG) > epigallokateşin (EGC) > epikateşin galat (ECG) > epikateşin (EC) olarak sıralamışlardır [247].

Bizim çalışmamızdan elde edilen sonuçlara benzer sonuçların elde edildiği başka bir çalışmada; çayın içeriğindeki en önemli polifenollerden Epigallokateşin-3-Gallat (EGCG)'ın antimutajenik etkileri çeşitli test yöntemleriyle araştırılmıştır. Araştırma sonucunda EGCG uygulamasıyla Salmonella AMES testi ile çeşitli maddelerin oluşturduğu mutajenik etkinin azaldığı, farelerde FM3A hücre kültürlerinde oluşturulan mutajenik etkinin inhibe edildiği ve *in vivo* Drosophila mutasyon testi (SMART) ile çeşitli kanserojenler üzerinde bir baskılayıcı etkinin görüldüğü tespit edilmiştir [248].

Kateşinler üzerinde yapılan diğer çalışmalarda; kateşinlerin reaktif oksijen türevlerini kapalı bölgelerde tutarak hücre membranlarını oksidasyona karşı korudukları, kanserli hücrelerin büyümesi için gerekli hücre zar reseptörlerini bloke ettikleri ve karsinogenezin başlatılması için gerekli bazı spesifik enzimleri bastırdıkları ortaya koyulmuştur [249, 250]. Ayrıca farklı hücre hatlarında ve hayvan modellerinde, çayın içerdiği polifenollerin anjiyogenez, metastaz ve hücre çoğalmasımı inhibe ettiği ve çoklu sinyal yollarının düzenlenmesi yoluyla apoptozu indüklediği gösterilmiştir [244, 251].

EGCG'nin antitümör etkinliğinin araştırıldığı çalışmalardan hazırlanan bir derlemede; EGCG'nin kanserojen aktivite, tümörigenez, proliferasyon ve anjiyogeneziyi inhibe edici etki gösterdiği ve hücre ölümünü indüklediği vurgulanmıştır. Çalışmada bu etkilerin, reaktif oksijen türlerinin (ROS) üretiminin modülasyonu, Nükleer faktör-κB sinyallemesinin EGCG aracılı inhibisyonu, migrasyon, anjiogenezis ve hücre canlılığı inhibisyonu ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Ayrıca EGCG'nin DNA metil transferaz aktivitesinin inhibisyonu ve histon üzerinde asetilasyonun düzenlenmesi ile epigenetik modifikasyonu indükleyebileceği ve bunun da apoptozun bir upregülasyonuna neden olabileceği sonucuna ulaşılmıştır [252].

Son yıllarda yapılan çalışmalarla EGCG'nin prostat kanseri, melanoma, multipl miyelom, akut miyelojenöz lösemi ve kronik miyelojen lösemi de dahil yaklaşık 20 farklı tümör hattında antitümör aktivite gösterdiği belirlenmiştir [253, 254]. Ayrıca çay yapraklarından metanol ekstraksiyon yöntemi kullanılarak hazırlanan ekstraktın 111 farklı bakteriye karşı antimikrobiyal etkinliğinin araştırıldığı bir çalışmada çay ekstraktının düşük dozlarda bile bakterilere karşı antibakteriyal etkinlik gösterdiği belirlenmiştir [255].

Özellikle siyah ve yeşil çay olmak üzere çayın çeşitli formlarıyla ilgili yapılan çalışmalara karşın literatürde beyaz çayın antikarsinojenik potansiyeli ile ilgili çok az sayıda çalışma mevcuttur. Ancak son zamanlarda beyaz çayın akciğer kanseri hücrelerinde antineoplastik etkileri olduğuna [256] ve insan cildini güneş uyarıcı ultraviyole ışıklardan koruyabileceğine dair [257] çalışmalar yapılmıştır.

Salmonella testi ile beyaz ve yeşil çayın antimitojenik etkinliğinin karşılaştırıldığı bir çalışmada beyaz çayın daha güçlü antimitojenik etkinliğe sahip olduğu ve bu gücün kafein, gallik asit, teobromin, EGC ve ECG gibi beyaz çay bileşenlerinin daha yüksek konsantrasyonlarda bulunduğundan kaynaklanabileceği vurgulanmıştır [258].

Beyaz çayın antioksidatif etkinliğinin belirlenmesi için yapılan bir çalışmada farelere beyaz çay uygulaması sonrasında antioksidatif enzimler olan katalaz (CAT), süperoksit dismutaz (SOD) ve glutatyon redüktaz (GR) miktarlarında önemli oranda artışlar tespit edilmiştir (259). Ayrıca aynı çalışmayla beyaz çayın, adriamisin uygulanan grupta kıyaslandığında bir antioksidan yanıt elementi olan nükleer faktör E2 ile ilişkili faktör-2 (NRF2) ekspresyon seviyelerini önemli ölçüde arttırarak, faz II enzimlerinin (Nqo1, Gst ve Ho1) ekspresyonunu artırdığı gösterilmiştir [259]. Yapılan benzer bir çalışmada antikanser bir ilaç olan adriamisinin oluşturduğu oksidatif hasara karşı beyaz çayın önleyici etkinliği araştırılmış ve sonuçta beyaz çayın sıçanlarda farklı dokular üzerinde oluşabilecek bozunmalara karşı koruyucu özellikleri ortaya konulmuştur [260].

Ağız plağı oluşturan üç farklı bakteri çeşidine karşı beyaz çayın etkinliğinin incelendiği bir çalışmada beyaz çayın antibakteriyal ve antiplak etkisinin olduğu tespit edilmiştir [261]. Daha önce yapılan benzer çalışmalarda da beyaz çayın diğer çay formlarına göre vücuttaki bakteri, mantar ve virüslere karşı daha yüksek koruyucu özellik gösterdiği [262], diş ve diş eti hastalıklarına iyi geldiği vurgulanmıştır [263]. Başka bir antimikrobiyal çalışmada ise beyaz çayın özellikle *Staphylococcus aureus* gibi Gram+ bakterilere karşı oldukça yüksek antibakteriyal etki gösterdiği belirlenmiştir [264].

Farelerle yapılan histopatolojik bir çalışma sonucunda; beyaz çay ekstraktlarının civa ile indüklenen akut karaciğer yaralanmalarında hepatoprotektif etkilere sahip olup bu sonuçların beyaz çaydaki antioksidan, antitoksik ve antiapoptotik özellikler ile ilişkili olabileceği gösterilmiştir [265].

Streptozotosin ile prediyabetik hasta yapılan farelerle yapılan çalışmada; beyaz çay kullanımına bağlı olarak farelerde epididimal sperm canlılığının artarak streptozotsinin sperm sayı ve kalitesi üzerine olumsuz etkileri azaltılmıştır [266].

Mao et al. (2010)'nın akciğer kanser hücreleri ile yaptıkları çalışma sonucunda beyaz çay ekstraktlarının küçük hücreli olmayan akciğer kanseri (NSCLC) hücre hatlarında

apoptozu indükleyebileceği gösterilmiştir. Beyaz çayın bu indüksiyonu kısmen PPAR- $\gamma$  ve 15-lipoksigenaz (15-LOX) sinyal yollarının üst regülasyonu yoluyla ve Kaspaz-3'ün etkinliğinin artırılması yoluyla yaptığı, bu nedenle akciğer kanseri için antineoplastik ve kemopreventif bir ajan olarak kullanılabilmesi belirlenmiştir [267].

Çalışmamız sonucunda elde edilen değerlendirmeler ve bazı öneriler aşağıda maddeler halinde sıralanmıştır.

1. Çalışmamızda kullanılan streptozotosin ve siklofosfamidin somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile somatik hücrelerde genotoksik etkili oldukları belirlenmiştir. Özellikle bu ilaçların kemoterapotik olarak kullanılmalarının insan sağlığı açısından olumsuz zincir reaksiyonlara neden olup sağlıklı hücreleri de etkileyebileceği bilinmektedir. Somatik mutasyon frekansını artıran bu ilaçların tedavi esnasında meydana getireceği olası genotoksik etkilerin bazı ilave besinlerle kullanılarak azaltılabileceği düşünülmektedir.
2. Çalışmamızın ikinci aşamasında ilave besin olarak beyaz çay bitkisinin su ekstraktları kullanılmış ve ilaçlar ile birlikte kullanılan bu ekstraktların ilaçların uyardığı genotoksik etkileri azalttığı görülmüştür. Bu etkiyi özellikle içeriğindeki yüksek antioksidatif polifenoller sayesinde gösterdiklerini düşünmekteyiz. Günümüzde hastalıkların tedavisi için yeni bir yaklaşım olarak alternatif tıp kullanılmaktadır. Bu tedavi türleri içinde bitkiler ve onların antioksidan kapasiteleri, yalnızca alkilleyici ilaç değil her türlü kimyasal ajanın sebep olabileceği DNA hasarlarını önlemede önemli bir yere sahiptir. Bu nedenle beyaz çayın hem gıda hem de ilaç sektöründe şifalı bitki olarak kullanılabilmesini ve geleneksel kullanımının yaygınlaştırılması ile gerek sağlık alanında gerekse ülke ekonomisi açısından getirilerinin yüksek olacağı düşünülmektedir.
3. Ayrıca bu bileşiklerin farklı kanser hücrelerinde MTT testleriyle sitotoksik aktiviteleri belirlenmelidir.
4. RT-PCR yöntemiyle gen ekspresyonlarını azaltıp azaltmadığı araştırılabilir.
5. Yapılan çalışmalara destek olması açısından *in vitro* ve *in vivo* modellerde bu bileşiklerin farklı yöntemlerle etkileri araştırılabilir.



## 6. KAYNAKLAR

1. İnternet: Türkiye Halk Sağlığı Kurumu “Halk Sağlığına Yönelik Bilgiler”  
[http://www.thsk.saglik.gov.tr/2013-10-01-11-00-51/halk-sagligina\\_yonelik-bilgiler/312-kanser-genel-tanimi.html](http://www.thsk.saglik.gov.tr/2013-10-01-11-00-51/halk-sagligina_yonelik-bilgiler/312-kanser-genel-tanimi.html) (2013).
2. Koutsogiannouli, E., Papavassiliou, A.G., Papanikolaou, N.A., “Complexity in cancer biology: is systems biology the answer?” , *Cancer Med.*, 2 (2): 164-77 (2013).
3. Stewart, B.W., Wild, C.P. “Acknowledges generous assistance from the American Association for Cancer Research with the promotion of World Cancer Report” , *IARC*, Lyon, 20-28 (2014).
4. Şahin, E., Bayçu, C., Koparal, A.T., Dönmez, D.B., Bektur, N. E., “Mezenşimal kök hücre sitokinlerinin kanser hücreleri üzerine olumsuz etkileri” *Osmangazi Tıp Dergisi*, 37(3), 7-12 (2015).
5. Venitt, A. and Phillips, D., “The importance of environmental mutagens in human carcinogenesis and germ-line mutation. *Environmental mutagenesis. Bios Scientific*, London, 1-17 (1995).
6. Akdemir, N. ve Birol, L., “İç Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı 2. Baskı”, *Vehbi Koç Vakfı*, İstanbul, 265-267 (2005).
7. Aynacıoğlu, A., Özkur, M., Nacak, M., Saracaloğlu, A., “Farmabul Kitabı 1. Baskı”, *Çukurova Nobel Tıp Kitabevi*, Adana, 135-150 (2014).
8. Ölgen, S., Bıçak, I., Nebioğlu, D., “ Angiogenesis ve Kanser Tedavisinde Yeni Yaklaşımlar” *Ankara Ecz. Fak. Derg.* 31(3) ,193-214 (2002).
9. Turker, A., Kayaalp, O., " Kanser kemoterapisinin esasları ve antineoplastik ilaçlar. İçinde Kayaalp O (ed): Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji. *Pelikan Yayıncılık*, Ankara, 331 (2009).
10. Akbarzadeh, A., Norouzian, D., Mehrabi, M. R., Jamshidi, S. H., Farhangi, A., Verdi, A. A., Rad, B. L., “Induction of diabetes by streptozotocin in rats”, *IJCB*, 22(2), 60-64 (2007).
11. Dörtbudak, M.Y., “Deneysel diyabette bazı hematolojik değerler ve pankreas histopatolojisi üzerinde selenyum ve E vitamini etkisinin araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Harran Üni. Sağl. Bil. Ens.*, Şanlıurfa, 18-21 (2001).
12. Merzouk, H., Madani, S., Chabane- Sari, D., Prost, J., Bouchenak, M., Belleville, J., “Time course of changes in insulin, lipids and tissue lipase activities in

- macrosomic offspring of rats with streptozotocin-induced diabetes”. *Clin. Sci*, 98: 21-30 (2000).
13. Kocaman, M., “Antineoplastik İlaçlar”, Farmokoloji Ders Notları, *Metay Hacettepe*, Ankara, 96-101 (1993).
  14. Auer, H., Oehler, R., Lindner, R., Kowalski, H., Sliutz, G., Orel, L., Glössl, J. “Characterisation of genotoxic properties of 2', 2'-difluorodeoxycytidine”, *Mutat Res Genet Toxicol*, 393(1), 165-173 (1997).
  15. Graf, U., Würgler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juon, H., Hall, C.B., Kale, P.G., “Somatic mutation test in *Drosophila melanogaster*”, *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 6, 153-188 (1984).
  16. Graf, U., Spano, M.A., Rincon, J.G., Abraham, S. K., Andrade, H.H., “The wing somatic mutation and recombination test (SMART) in *Drosophila melanogaster*: An efficient tool for the detection of genotoxic activity of pure compounds or complex mixtures as well as for studies on antigenotoxicity”, *African News Letter*, 1, 9-13 (1996).
  17. Graf, U., Abraham, S.K., Guzman-Rincon, J. , Würgler, F.E., “Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*”, *Mutat Res* , 402, 203-209 (1998).
  18. Cavallo, D., Ursini, C.L., Perniconi, B., Di Francesco, A., Giglio, M., Rubino, F. M., Iavicoli, S., “Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees”, *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 587(1), 45-51 (2005).
  19. Kumari, M., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., “Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*”, *Science of the Total Environment*, 407(19), 5243-5246 (2009).
  20. Zengin, N., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H., “The evaluation of the genotoxicity of two food preservatives: sodium benzoate and potassium benzoate”, *Food Chem Toxicol*, 49(4), 763-769 (2011).
  21. Doak, S.H., Liu, Y., Chen, C., “Genotoxicity and cancer”, Adverse Effects of Engineered Nanomaterials, *Academic Press*, USA, 243-261 (2012).
  22. Crooks, I., Dillon, D.M., Scott, J.K., Ballantyne, M., Meredith, C., “The effect of long term storage on tobacco smoke particulate matter in in vitro genotoxicity and cytotoxicity assays”, *Regul Toxicol Pharmacol*, 65(2), 196-200 (2013).
  23. Bhatia, S. P., Politano, V.T., Api, A.M., “Evaluation of genotoxicity of nitrile fragrance ingredients using *in vitro* and *in vivo* assays”, *Food Chem Toxicol* , 59, 784-792 (2013).

24. Huerta, I., Barasoain, M., Télez, M., Longa, M., Muga, J., Barrenetxea, G., Arrieta, I., “Genotoxic evaluation of five Angiotensin II receptor blockers: *In vivo* and *in vitro* micronucleus assay”, *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* , 767, 1-7 (2014).
25. Zeiger, E., “Genetic Toxicology Testing”, *Chapel Hill*, NC, USA, 139-158 (2010).
26. Kintzel, P.E., “Anticancer drug induced kidney disorders”, *Drug safety*, 24(1), 19-38 (2001).
27. Viale, M., Minetti, S., Ottone, M., Lerza, R., Parodi, B., Pannacciulli, I., “Preclinical *in vitro* evaluation of hematotoxicity of the cisplatin–procaine complex DPR”, *Anti Canc Drugs* , 14(2), 163-166 (2003).
28. Eren, E., Ata A., Arıcan A., “Kanser tedavisinde kullanılan ilaçlar ve nefrotoksisite” *DEÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, Mersin 3:229-235 (2012).
29. Keleşoğlu, B., “Siyah ve Yeşil Çay ile Atıklarının Oksidatif DNA Hasarına Yönelik Etkilerinin İncelenmesi”, Yüksek Lisans Tezi, *Recep Tayyip Erdoğan Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü* , Rize , 1-4, (2012).
30. Mullaicharam, A.R., Maheswaran, A., “Pharmacological effects of curcumin. International Journal of Nutrition, Pharmacology, *Neurological Diseases*, 2(2), 92 (2012).
31. Maheshwari, R.K., Singh, A.K., Gaddipati, J., Srimal, R.C., “Multiple biological activities of curcumin: A short review”, *Life Sci*, 78: 2081-7 (2006).
32. Sharma, R., Gescher, A., Steward, W., “Curcumin: The story so far”, *Eur J Cancer*, 41: 1955-68 (2005).
33. Youn, H., Jeong, J.C., Jeong, Y.S., Kim, E.J., Um, S.J., “Quercetin potentiates apoptosis by inhibiting nuclear factor-kappaB signaling in H460 lung cancer cells”, *Biol Pharm Bull*, 36: 944–51 (2013).
34. Priyadarsini, R.V., Murugan, R.S., Maitreyi, S., Ramalingam, K., Karunagaran, D., Nagini, S., “The flavonoid quercetin induces cell cycle arrest and mitochondria-mediated apoptosis in human cervical cancer (HeLa) cells through p53 induction and NF-κB inhibition”, *Eur J Pharmacol* , 649(1), 84-91 (2010).
35. Rizzi, F., Naponelli, V., Silva, A., Modernelli, A., Ramazzina, I., Bonacini, M., Bettuzzi, S., “Polyphenon E®, a standardized green tea extract, induces endoplasmic reticulum stress, leading to death of immortalized PNT1a cells by anoikis and tumorigenic PC3 by necroptosis”, *Carcinogenesis*, 35(4), 828-839 (2013).

36. Sabuncuoğlu, S. ve Özgüneş, H. ‘‘Kemoterapi, Serbest Radikaller ve Oksidatif Stres’’ *Hacettepe Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Dergisi*, Ankara, 31 (2) :137-150 (2011).
37. Gürses, Ö.L., ‘Çay Kimyası ve Teknolojisi’ Ders Notu, Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi, *Ziraat Fakültesi gıda ve Fermantasyon Teknolojisi Bölümü*, Ankara, 75 (1981).
38. Anesini, C., Ferraro,G.E., Filip, R., ‘‘Total polyphenol content and antioxidant capacity of commercially available tea (*Camellia sinensis*) in Argentina’’ *J. Agric Food. Chem.*, 8;56(19):9225-9 (2008).
39. de Godoy, R.C.B., Deliza, R., Gheno, L. B., Licodiedoff, S., Frizon, C. N. T., Ribani, R. H., dos Santos, G. G., ‘‘Consumer perceptions, attitudes and acceptance of new and traditional mate tea products’’, *Food Res Int* , 53(2), 801-807 (2013).
40. Fisunoğlu, M. ve Besler, H.T., ‘‘Çay ve Sağlık İlişkisi’’, *Sağlık Bakanlığı Yayın No:727*, 1-24 (2008).
41. İnternet: FAO. ‘‘Tea Production’’  
<http://www.fao.org/docrep/006/y5143e/y5143e0z.htm> (2017).
42. Heiss, M.L., Heiss, R.J., The story of Tea: A Cultural and Drinking Guide, *Ten Speed Press*, 417p (2007).
43. Klasra, M., Khawar, K., Aasim, M., ‘‘History of Tea Production and Marketing in Turkey’’, *J. Agnc. Biol.*, 3(9): 523-529 (2007).
44. Baytop, T., ‘‘Türkiye’de Bitkiler ile Tedavi: Geçmişte ve Bugün’’, *Nobel Tıp Kitapevi*, 180-181 (1999).
45. Üstün, Ç. ve Demirci, N., ‘‘Çay Bitkisinin (*Camellia sinensis* L.) Tarihsel Gelişimi ve Tıbbi Açıdan Değerlendirilmesi’’, *Mersin Üniversitesi Tıp Fakültesi Lokman Hekim Tıp Tarihi ve Folklorik Tıp Dergisi*, 3(3), 5-12 (2013).
46. Roberts, E.A.H., ‘‘Siyah çayda theaflavin ve thearubijin tayini’’, *JFAE*, (9), 212 (1958).
47. Tijburg, L.B., Mattern, T., Folts, J.D., Weisgerber, U.M., Katan, M.B., ‘‘Tea flavonoids and cardiovascular disease: a review’’, *Crit Rev Food Sci Nutr.* 37:771–85 (1997).
48. Santana-Rios, G., Orner, G.A., Amantana, A., Provost, C., Wu, S.Y., Dashwood, R.H., ‘‘Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay’’, *Mutat Res.*, 495:61–74 (2001).

49. Pinto, M.S., “Tea: a new perspective on health benefits”, *Food Res Int*, 53, 558-567 (2013).
50. R Dias, T., D Martins, A., P Reis, V., Socorro, S., M Silva, B., G Alves, M., F Oliveira, P., “Glucose transport and metabolism in sertoli cell: relevance for male fertility”, *Curr Chem Biol*, 7(3), 282-293 (2013).
51. Mukai, K., Kanasaki, Y., Egawa, Y., Nagaoka, S., “Free radical-scavenging action of catechin and related compounds in homogeneous and micellar solutions”, *Phytochemicals and Phytopharmaceuticals*, 222-238 (2000).
52. Dreosti, I.E., Antioxidant polyphenols in tea, cocoa, and wine. *Nutrition*, 16(7), 692-694 (2000).
53. Sato, D., “Inhibition of urinary bladder tumors induced by N-butyl-N-(4-hydroxybutyl)-nitrosamine in rats by green tea”, *Int J Urol.*, 6:93–99 (1999).
54. Luceri, C., Caderni, G., Sanna, A., Dolara, P., “Red wine and black tea polyphenols modulate the expression of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase and glutathione-related enzymes in azoxymethane induced f344 rat colon tumors”, *J Nutr.*, 132:1376–1379 (2002).
55. Siddiqui, I.A., Adhami, V.M., Saleem, M., & Mukhtar, H. Beneficial effects of tea and its polyphenols against prostate cancer. *Mol Nutr Food Res*, 50(2), 130-143 (2006).
56. Yuan, J.M., Gao, Y.T., Yang, C.S., Yu, M.C. “Urinary biomarkers of tea polyphenols and risk of colorectal cancer in the Shanghai Cohort Study”, *Int J Cancer*, 120:1344–1350 (2007).
57. Kumar, M., Sharma, V.L., Sehgal, A., Jain, M., “Protective effects of green and white tea against benzo (a) pyrene induced oxidative stress and DNA damage in murine model”, *Nutr Canc* , 64(2), 300-306 (2012).
58. Yogeshwer, O.S., “Tea and Cancer Chemoprevention: A Comprehensive Review”, *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*. 8,155-166 (2007).
59. Ilgaz, A.Ş., Kalcıoğlu Z., İslamoğlu, E., “Türk Beyaz Çayı Üretim Yönetiminin Optimizasyonu ve Türk Beyaz Çayının Kalite Parametrelerinin Belirlenmesi”, Çaykur Çay İşletmeleri Genel Müdürlüğü Atatürk Çay ve Bahçe Kùltürleri Araştırma Enstitüsü Teknoloji Kısım Müdürlüğü, Rize, 1-37 (2006).
60. Cooper, R., Morré, D. J., Morré, D. M., “Medical benefits of green tea: part I. review of non-cancer health benefits”, *J Alternative Compl Med*, 11.3, 521-528 (2005).

61. Sartippour, M., Heber, D., Lu, Q., Ma, M., Go, V.L., Nguyen, M., "Green tea inhibits breast cancer growth and angiogenesis." *Nut Cancer.*, 40:149–156 (2001).
62. Dashwood, W.M., Orner, G.A., Dashwood, R.H., "Inhibition of  $\beta$ -catenin/Tcf activity by white tea, green tea, and epigallocatechin-3-gallate (EGCG): minor contribution of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> at physiologically relevant EGCG concentrations", *Biochem Biophys Res Commun.*, 296:584–588 (2002).
63. Bond, T., "White Tea-Draft", *BSI A W8*, ISO / TC 34 / SC 8 – N 569 (2005).
64. Çimen, K., "Türkiye’de Çay Yetiştiriciliği ve Çay Sanayi”, Yüksek Lisans Tezi, *İstanbul Üniversitesi Sosyal Bilimler Enstitüsü*, İstanbul, 20-30 ( 2014).
65. Chen, G. G., Xu, H., Lee, J.F., Subramaniam, M., Leung, K.L., Wang, S.H., Spelsberg, T.C., "15-hydroxy-eicosatetraenoic acid arrests growth of colorectal cancer cells via a peroxisome proliferator-activated receptor gamma-dependent pathway", *International journal of cancer*, 107(5), 837-843 (2003).
66. Chang, T. H. and Szabo, E., "Induction of differentiation and apoptosis by ligands of peroxisome proliferator-activated receptor  $\gamma$  in non-small cell lung cancer", *Cancer Res.*, 60:1129–1138 (2000).
67. Chow, H.S., Hakim, I.A., Vining, D.R., Crowell, J. A., Ranger-Moore, J., Chew, W. M., Alberts, D. S., "Effects of dosing condition on the oral bioavailability of green tea catechins after single-dose administration of Polyphenon E in healthy individuals", *Clin Canc Res* , 11(12), 4627-4633 (2005).
68. Bragadóttir, M., "On the stability of Icelandic capelin meal", Doctoral dissertation, Master Thesis, *Department of Food Science University of Iceland*, Iceland, 6-19 (2001).
69. Altınışık, M., "Serbest oksijen radikalleri ve antioksidanlar." ADÜ Tıp Fakültesi, *Biyokimya AD.*, Aydın 5-20 (2000).
70. Almajano, M. P., Vila, I., Ginés, S., "Neuroprotective effects of white tea against oxidative stress-induced toxicity in striatal cells", *Neurotoxicity research*, 20(4), 372-378 (2011).
71. Kumar, M., Sharma, V.L., Sehgal, A., Jain, M., "Protective effects of green and white tea against benzo (a) pyrene induced oxidative stress and DNA damage in murine model", *Nutrition and cancer*, 64(2), 300-306 (2012).
72. Pérez-Jiménez, A., Peres, H., Rubio, V.C., Oliva-Teles, A., "The effect of dietary methionine and white tea on oxidative status of gilthead sea bream (*Sparus aurata*)", *Br J Nutr*, 108(7), 1202-1209 (2012).

73. Almajano, M.P., Carbo, R., Jiménez, J.A.L., Gordon, M.H., “Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions”, *Food Chem* , 108(1), 55-63 (2008).
74. Fassina, G., Buffa, A., Benellir, R., Vamier, O.E., Noonan, D.M., Albini, A., “Polyphenolic antioxidant (-)-epigallocatechin-3-gallate from green tea as a candidate anti-HIV agent”, *Aids*, 16, 939–941 (2002).
75. McKay, D.L., Blumberg, J.B., “The role of tea in human health: an update”, *J Am Coll Nutr*, 21, 1–13 (2002).
76. Yang, C.S., Wang, Z.Y., “Tea and cancer”, *J Natl Cancer Inst.*, 85:1038-1049 (1993).
77. İnternet: ÇAYKUR “Beyaz Çayın Tarihçesi ve Üretim Teknolojisi”  
<http://www.caykur.gov.tr/Caykur/2/10000/10086/10142/beyaz-cayintarihcesi-> (Son Erişim Tarihi: 11 Haziran 2013).
78. Nazer, A., Kobilinsky, A., Tholozan, J.L., Dubois-Brissonnet, F., “Combinations of food antimicrobials at low levels to inhibit the growth of *Salmonella sv. Typhimurium*: a synergistic effect?”, *Food Microbiol* , 22(5): 391-398 (2005).
79. Gramza, A., Korczak, J., “Tea constituents (*Camellia sinensis* L.) as antioxidants in lipid systems”, *Trends Food Sci Tech*, 16(8): 351-358 (2005).
80. Roghani, M., Baluchnejadmojarad, T., “Hypoglycemic and hypolipidemic effect and antioxidant activity of chronic epigallocatechin-gallate in streptozotocin-diabetic rats”, *Pathophysiology*, 17(1): 55-9 (2010).
81. Orner, G.A., Dashwood, W. M., Blum, C.A., Diaz, G.D., Li, Q., Dashwood, R.H., “Suppression of tumorigenesis in the Apc(min) mouse: downregulation of  $\beta$ -catenin signaling by a combination of tea plus sulindac”, *Carcinogenesis*, 24:263–267 (2003).
82. Ying, C.J., Sun, X.F., Zhang, S.L., Zhang, X.P., Mao, L.M., Zuo, X.Z., Yao, P., “ROS related enzyme expressions in endothelial cells regulated by tea polyphenols”, *Biomed. Environ. Sci.*, 17, 33–39 (2004).
83. Nicholson, D.W., Ali, A., Thornberry, N.A., Vaillancourt, J.P., Ding, C.K., Gallant, M., Munday, N. A., “Identification and inhibition of the ICE/CED-3 protease necessary for mammalian apoptosis”, *Nature*, 376(6535), 37-43 (1995).
84. Muto, S., Yokoi, T., Gondo, Y., Katsuki, M., Shioyama, Y., Fujita, K.I., Kamataki, T., “Inhibition of benzo [a] pyrene-induced mutagenesis by (-)-epigallocatechin gallate in the lung of rpsL transgenic mice”, *Carcinogenesis*, 20(3), 421-424 (1999).

85. Komes, D., Horzic, D., Belscak, A., Kovacevic Ganic, K., Bljak, A., “Determination of caffeine content in tea and maté tea by using different methods”, *Czech J. Food Sci*, 27, S213-S216.
86. Kersten, S., Desvergne, B., Wahli, W., “Roles of PPARs in health and disease”, *Nature*, 405:421-424 (2000).
87. Yardım, N., Mollahaliloğlu, S., Bora Başara, B., “Türkiyede Kanser Durumu ve Uluslararası Göstergeler İle Uyumun Değerlendirilmesi”, İçinde: Türkiye’de Kanser Kontrolü. Eds. Tuncer, A.M., Özgül, N., Olcayto, E., Gültekin, M., TC Sağlık Bakanlığı, Kanserle Savaş Dairesi Başkanlığı, *Koza Matbaacılık*, Ankara, 51-63 (2009).
88. Gilman, A., Goodman, L.S., “Chemotherapy of Neoplastic Diseases”, The Pharmacological Basis of Therapeutics, 8th edition, *Pergamon Press*, U.S.A. 1240-1306 (1991).
89. Calabresi, P., Welch, A.D., “Chemotherapy of neoplastic diseases”, *Annu. Rev. Med.*, 13, 147-202 (1962).
90. Arkenau, H., Carden, C.P., Bono, J.S., “Targeted agents in cancer therapy”, *Medicine*, Vol. 36(1), pp. 33-37 (2007).
91. Çetin, K.T., “Bazı Pirolo Pirimidinlerin Sentezi ve Biyolojik Olarak Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, *Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 5-15 (2011).
92. Akdemir, N. ve Birol, L., “İç Hastalıkları ve Hemşirelik Bakımı”, *Sistem Ofset*, Ankara, 246-304 (2005).
93. Köşgeroğlu, K.Y. ve Karakuş, L. “Onkolojik Hastalıklar ve Hemşirelik Bakımı El Kitabı”, *Mavi Ambalaj*, Ankara (2005).
94. Connor, H., Melisa, A., “Preventing Occupational Exposures to Antineoplastic Drugs in Health Care Settings”, *McDi-armid CA Cancer J Clin*, (56): 354-365 (2006).
95. Akgün, M. “Disiplinler Arası Klinik Eczacılık Anabilimdalı Yüksek Lisans Projesi” *Ankara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 5-15, (2006).
96. Leszczynieckaa, M., Roberts, T., Dent, P., Grant, S., Fisher, P.B., “Differentiation therapy of human cancer: basic science and clinical applications”, *Pharmacology & Therapeutics*, 90, 105-156 (2001).
97. Dow, K.H. and Barnicle, M.M., “Nursing care in patient management and quality of life”, *Diseases of the Breast*, Philadelphia: Lippincott-Raven, 951-962 (1996).



98. Dinçol, K., Kemoterapide temel prensipler. In: Topuz E, Aydın A, Karadeniz A.N., editörler., *İstanbul Üniversitesi Onkoloji Enstitüsü Yayınları*, İstanbul, 34-37 (2000).
99. Can, G., “Kanser kemoterapi rehberi ve uygulamaya yönelik öneriler”, Çeviri editörleri: Durna Z, Aydın A. *Nobel Tıp Kitapevleri*, İstanbul, 5-19 (2003).
100. Corrie, P.G., “Cytotoxic chemotherapy: clinical aspects”, *Medicine*, 36(1):24-28 (2008).
101. Kayaalp, S.O., “Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji”, *Toraman ve Ulucan Matbaası*, Ankara, 4(1), 1028s (1987).
102. Cingi, İ. ve Erol, K., Kemoterapötikler. Farmakoloji Ders Kitabı, *AÖF Yayınları*, Eskişehir, 121-163s. (1996).
103. Erbaş, O., “Deneysel diyabet modelleri”, *FNG&Bilim Tıp Dergisi*,1(1):40-42 (2015).
104. Szkudelski, T., “The mechanism of alloxan and streptozotocin action in B cells of the rat pancreas”, *Physiol Res*, 50:537-46 (2001).
105. Koyoma, H., Wada, T., Nishizawa, Y., Iwanaga, T., “Cyclophosphamide-Induced Ovarian Failure and its Therapeutic Significance in Patients with Breast”, *Cancer*, 39: 1403-1409 (1977).
106. Coggins, P.R., Ravdin, R.G., Eisman, S.H., “Clinical evaluation of a new alkylating agent: cytoxan (cyclophosphamide)”, *Cancer*, 13:1254–60 (1960).
107. Mutluay, H.S. “”Diş Hekimliğinde Kullanılan Toksik Maddeler ve Önemi”, Bitirme Tezi, *Ege Üniversitesi Diş Hekimliği Fakültesi Anabilim Dalı*, İzmir, 5-10 (2015).
108. James, R.C., Roberts, S. M., Williams, P.L., “General principles of toxicology. In Principles of toxicology: environmental and industrial applications”, *John Wiley and Sons*, New York, 3-4 (2000).
109. Choy, W.N., “Genetic toxicology and cancer risk assessment. Marcel Dekker”, *INC.*, New York. 390 p (2001).
110. Young, R.R., “Genetic toxicology: web resources”, *Toxicology*, 173, 103-121 (2002).
111. Vural, N., “Toksikoloji”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, Ankara, 73; 659 (2005).

112. Çavaş, T., “Endüstriyel atıkların genotoksik etkilerinin mikronukleus testi ve agnor analiz teknikleri kullanılarak in-situ ve laboratuvar koşulları altında araştırılması”, Doktora Tezi, *Mersin Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Mersin, 5-15 (2004).
113. Zeiger, E., “History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal, view”, *Environ Mol Mutagen* , 44, 363-371 (2004).
114. Akbaba, G., Genotoksikoloji, Bilim ve Teknik, Ankara (2004).
115. Williams, P.L., James, R.C., Roberts; S.M., “Principles of Toxicology Environmental and Industrial Applications”, A *Wiley-Interscience Publication*, (2000).
116. Ayar, A. “Bazı Parabenlerin Genotoksik Etkilerinin *in vivo* ve *in vitro* şartlarda kısa süreli test teknikleri ile Belirlenmesi”, *Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Erzurum, 10-20 (2013).
117. Cavallo, D., Ursini, C.L., Perniconi, B., Di Francesco, A., Giglio, M., Rubino, F. M., Iavicoli, S., “Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees”, *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* , 587(1), 45-51 (2005).
118. Kumari, M., Mukherjee, A., Chandrasekaran, N., “Genotoxicity of silver nanoparticles in *Allium cepa*”, *Sci Total Environ*, 407(19), 5243-5246 (2009).
119. Zengin, N., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F. Yılmaz, S., Aksoy, H., “The evaluation of genotoxicity of two food preservatives: Sodium benzoate and potassium benzoate”, *Food Chem Toxicol* , 49, 763-769 (2011).
120. Doak, S. H., Liu, Y., Chen, C., “Genotoxicity and cancer. Adverse Effects of Engineered Nanomaterials”, *Academic Press*, USA, 243-261 (2012).
121. Crooks, I., Dillon, D. M., Scott, J. K., Ballantyne, M., Meredith, C., “The effect of long term storage on tobacco smoke particulate matter in in vitro genotoxicity and cytotoxicity assays”, *Regul Toxicol Pharmacol*, 65(2), 196-200 (2013).
122. Bhatia, S.P., Politano, V.T., Api, A.M., “Evaluation of genotoxicity of nitrile fragrance ingredients using *in vitro* and *in vivo* assays”, *Food Chem Toxicol* , 59, 784-792 (2013).
123. Huerta, I., Barasoain, M., Télez, M., Longa, M., Muga, J., Barrenetxea, G., Arrieta, I., “Genotoxic evaluation of five Angiotensin II receptor blockers: *In vivo* and *in vitro* micronucleus assay”, *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen* , 767, 1-7 (2014).

124. Levan, A., "The effect of colchicine on root mitosis in *Allium*", *Hereditas*, 24, 471-486 (1938).
125. Ames, B.N., Mc Cann, J., Yamasaki, E., "Models for detecting carcinogens and mutagens with the Salmonella/mammalian-microsome mutagenicity test", *Mutat. Res.*, 31, 347-364 (1975).
126. Mac Gregor, J.T., Heddle, J.A., Hite, M., Margolin, B.H., "Guide lines for the conduct of micronucleus assay in bone marrow erythrocytes", *Mutat. Res.*, 189, 103-112 (1987).
127. Latt, S.A., Allen, J., Bloom, S.E., Carrano, A., Falke, E., Kram, D., Schneider, E., Schreck, R., Tice, R., "Whitfield, B. and Wolff, S., Sister-chromatid exchanges: A report of the Gene-tox Program", *Mutat. Res.*, 57, 17-62 (1981).
128. Fairbairn, D.W., Olive, P.L. O'Neill, K.L., "The Comet assay: A comprehensive review", *Mutat. Res.*, 339, 37-59 (1995).
129. Başaran, A.A., "Farmakogenezide tek hücre jel elektroforezi uygulamaları", *14. Bitkisel İlaç Hammaddeleri Toplantısı*, (2002).
130. Müller, H.J., "Artificial transmutation of the gene". *Science*, 66:84-87 (1927).
131. Frei, H., Würzler, F.E., "Induction of somatic mutation and recombination by four inhibitors of eukaryotic topoisomerases assayed in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*", *Mutagenesis*, 11 (4), 315-325 (1996).
132. Yüksel, M., Sarıkaya, R., Bostancı, N., "Genotoxic evaluation of antiepileptic drugs by *Drosophila* somatic mutation and recombination test", *Food Chem Toxicol*, 48:2682-2687 (2010).
133. Graf, U., Würzler, F.E., "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*", *Environ Mol Mutagen*, 27(3), 219-226 (1996).
134. Yurttagül, M., "Hızlı Hazır Yemek (Fast Food) Sisteminde Kullanılan Katkı Maddeleri. Hızlı Hazır Yemek Sistemi (Fast Food)", Eds: Akdağ, F., Arslan, P. *Türkiye Diyetisyenler Derneği Yayını*, Ankara, 23-28 (1993).
135. İnternet: Karakaya, A.E., 2011. Gıda Katkı Maddeleri ve Gıda Kontaminantları <http://www.turktox.org.tr/gida/index.php?p=gidaguenligi> (10.05.2012)
136. Rubin, G.M., Lewis, E.B., "A brief history of *Drosophila*'s contributions to genome research", *Science*, 287:2216-2218 (2000).

137. Jennings, B.H., “*Drosophila*-a versatile model in biology & medicine”, ***Mater Today***, 14:190-195 (2011).
138. Bernards, A. and Hariharan, I.K., “Of flies and men- studying human disease in *Drosophila*”, ***Curr Opin Genet Dev***, 11: 274-278 (2001).
139. Lloyd, T.E., Taylor, J.P., “Flightless flies: *Drosophila* models of neuromuscular disease”, ***Ann NY Acad Sci***, 1184: E1-20 (2010).
140. Schneider, D., “Using *Drosophila* as a model insect”, ***Nat Rev Genet***, 1: 218-226 (2000).
141. Marsh, J.L., and Thompson, L.M., “*Drosophila* in the study of neurodegenerative disease”, ***Neuron***, 52: 169-178 (2006).
142. Bier, E., “*Drosophila*, the golden bug, emerges as a tool for human genetics”, ***Nat Rev Genet***. 6: 9-23(2005).
143. Potter, C.J., Trenchalk, G.S., Xu, T., *Drosophila* in cancer research. ***TIG***, 16: 33-39 (2000).
144. Pandey, U.B. and Nichols, C.D., “Human disease models in *Drosophila melanogaster* and the role of the fly in therapeutic drug discovery”, ***Pharmacol Rev***, 63: 411-436 (2011).
145. Sorensen, J.G. and Loeschke, V., “Decreased heat shock resistance and downregulation of hsp70 expression with increasing age in adult *Drosophila melanogaster*”, ***Funct Ecol***, 16, 379-384 (2002).
146. Sinclair, B.J. and Roberts, S. P., “Acclimation, shock and hardening in the cold”, ***J Therm Biol*** , 30, 557-562 (2005).
147. Ayar, A., Uysal, H., Altun D., “The effects of cold shock on the longevity in Oregon R wild and *Vestigial* mutant of *Drosophila melanogaster* (Diptera: *Drosophilidae*)”, ***Ekoloji***, 19, 38-44 (2009).
148. Ayar, A., Uysal, H., Altun, D., Aşkın, H., “The effects of heat shock on the longevity in some strains of *Drosophila melanogaster* (Diptera: *Drosophilidae*)”, ***J Appl Biol Sci***, 6 (1), 51-55 (2012).
149. David, J., Cohet, Y. and Fovillet, P., “The variability between individuals as a measure of senescence: A study of the number of eggs laid and the percentage of hatched eggs in the case of *Drosophila melanogaster*”, ***Exp Gerontol***, 10, 17-25 (1975).

150. Fred, H. and Timothy, J. B., “An analysis of resource allocation in response to dietary yeast in *Drosophila melanogaster*”, *J Insect Physiol* , 43 (8), 779-788 (1997).
151. Aşkın, H., Uysal, H., Altun, D., “Preventive role of folic acid on the developmental toxicity of phenol in *Drosophila melanogaster*”, *Toxicol. Ind. Health.*, 23: 591-598 (2007).
152. Clark, A.M. and Rockstein, M., “Aging in insects. The Physiology of Insecta”, Ed: Rockstein, M., *Academic Press*, New York and London, 1, 227-281 (1964).
153. Ünlü, H. and Bozcuk, A. N., “Genetics of longevity in *Drosophila*. II. The effects of three autosomal genes on the life span of *Drosophila*”, *Hac. Bul. Nat. Sci. Eng.*, 8: 13-19 (1979).
154. Lewis, E.B. and Bacher, F., “Methods of feeding ethylmethanesulfonate (EMS) to *Drosophila* males”, *Drosophila Information Service*, 43: 193 (1968).
155. Ashburner, M., “*Drosophila: A Laboratory Handbook and Manual*. The Handbook”, *Cold Spring Harbor Laboratory Press*, New York, 1: pp 1331 (1989).
156. Lindsley, D.L. and Zimm, G.G., “The genome of *Drosophila melanogaster*”, San Diego, *Academic Press*, (1992).
157. Guzman-Rincon, J. and Graf, U., “*Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor”. *Biomonitor and Biomarkers as Indicators of Environmental Change*. Butterworth, F.M. (editor), New York 169-181pp, (1995).
158. Dökmeçi, İ., “Alkilleyici İlaçlar”, Farmokoloji, *İstanbul Tıp Kitabevi*, İstanbul, 177-179 (2007).
159. Kayaalp, S.O., “Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji 12. Baskı.” *Pelikan Tıp Teknik Yayıncılık*, İstanbul, (2009).
160. Süzer, Ö., Antineoplastikler, Süzer Farmokoloji, *Klinisyen Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 424-426, 2005.
161. Hayashi, K., Kojima, R., Ito, M., “Strain differences in the diabetogenic activity of streptozotocin in mice”, *Biol Pharmaceut Bull*, 29(6), 1110-1119 (2006).
162. Thulesen, J., Ørskov, C., Holst, J.J., Poulsen, S.S., “Short term insulin treatment prevents the diabetogenic action of streptozotocin in rats”. *Endocrinology*, 138(1), 62-68 (1997).

163. Kayaalp, O., “ Endokrin Sistem Farmakolojisi”. Rasyonel Tedavi Yönünden Tıbbi Farmakoloji, Ankara, 3-2422 (1997).
164. Szkudelski, T., “The mechanism of Alloxan and Streptozotocin Action in B cells of the Rat Pancreas”, *Physiol Res*, 50: 536-546 (2001).
165. Holemans, K., Bree, R.V., Verhaeghe, J., Meurrens, K., Assche, A.V., “Maternal semi starvation and Streptozotocin-diabetes in rats have different effects on the in vivo glucose uptake by peripheral tissues in their female adult offspring”. *J Nutr*, 127:1371-6 (1997).
166. İnternet: RxList “ Zanosar”  
<http://www.rxlist.com/zanosar-side-effects-drug-center.htm> (2017).
167. Bilgin, H. ve ark. “Kemoterapötik İlaçlar”, Farmosötik Kimya, *Hacettepe Üniversitesi Yayınları*, Ankara, 1226-1229 (2013).
168. Howland, R.D., Mycek, M. J., “Alkilleyici Ajanlar,Farmokoloji, Onat, F., Gören, Z., Karaalp, A., *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 468-470, (2009).
169. Dural, E.A.Ö., “Farmokoloji”, *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 500-502, (2012).
170. Katzung, B.G., Masters, S. B., Trevor, A. J., “Temel ve Klinik Farmakoloji”, Akkan, A.G. ve ark., *Nobel Tıp Kitabevleri*, İstanbul, 977-979, (2014).
171. Cooper, B., ‘White Tea Defined by Industry’, *Tea & Coffee*, April / May, (2006).
172. Guzman-Rincon, J. and Graf, U., “*Drosophila melanogaster* Somatic Mutation and Recombination Test as a Biomonitor. Biomonitoring and Biomarkers as Indicators of Environmental Change”, Ed: Butterworth, F.M., Corkum, L.D., Guzman- Rincon J., *Phenum Press*, New York, 169-181 (1995).
173. Lewis, I. and Held, Jr., “ Imaginal discs”, *Cambridge University Press*, United Kingtom, 1-4 (2002).
174. Zordan, M., Osti, M., Pesce, M., Costa, R., “Chloral hydrate is recombinogenic in the wing spot test in *Drosophila melanogaster*”, *Mutat. Res*, 322, 111-116 (1994).
175. Negishi, T., Negishi, K., Ryo, H., Kando, S., Hayatsu, S., “The genotoxicity of N4-aminocytidine in the *Drosophila* wing spot test”, *Mutagenesis*, 3 (1), 11-13 (1988).
176. Schaik, V.N. and Graf, U., “Genotoxicity evaluation of five tricyclic antidepressant in the wing somatic mutation and recombination test in *D. melanogaster*”, *Mutat. Res*, 260, 99-104 (1991).

177. Szabad, J., Soos, I., Polgar, G., Hejia, G., "Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mosaik and the sexlinked recessive letal test", *Mutat. Res.*, 113, 117-133 (1983).
178. Würgler, F.E. and Vogel, E.W., "In vivo mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster*", *Chemical mutagens, Principle and methods for their detection*, Eds: F.E. Würgler and E.W. Vogel. Plenum Press, New York, 10, 1-73 (1986).
179. Abraham, S.K., "Antigenotoxicity of coffee in the drosophila assay for somatic mutation and recombination", *Mutagenesis*, 9(4): 383-386 (1994).
180. Selby, P.B. and Olsen, W.H., "Methods and criteria for deciding whether specific-locus mutation-rate in mice indicate positive, negative or inconclusive result", *Mutat. Res.*, 203, 297-308 (1981).
181. Frei, H. and Würgler, F.E., "Statistical methods to decide whether mutagenicity test data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative, or inconclusive result", *Mutat Res Environ Mutagen Relat Subj*, 203(4), 297-308 (1988).
182. Cragg, G.M. and Newman D.J., "Plants as a source of anti-cancer agents", *J Ethnopharmacol* , 100: 72-9 (2005).
183. Frölich, A. and Würgler, F.E., "Drosophila wing-spot test: improved detectability of genotoxicity of polycyclic aromatic hydrocarbons", *Mutat Res Environ Mutagen Relat Subj*, 234(2), 71-80 (1990).
184. Sarıkaya, R., "Sodyum nitrit, sodyum nitrat, potasyum nitrit ve potasyum nitrat'ın genotoksik etkisinin somatik mutasyon ve rekombinasyon testi ile araştırılması", Doktora Tezi, *Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 1-110 (2005).
185. Fernandes, L.M., Guterres, Z.R., Almeida, I.V., Vicentini, V.E.P., "Genotoxicity and Antigenotoxicity Assessments of the Flavonoid Vitexin by the *Drosophila melanogaster* Somatic Mutation and Recombination Test", *Journal of food*, 1-9 (2017).
186. Carmona, E.R., Diaz, M.R., Parodi, J., Blancheteau, I.B., "Antimutagenic evaluation of traditional medicinal plants from South America Peumus boldus and *Cryptocarya alba* using *Drosophila melanogaster*", *J Toxicol Environ Health, Part A*, 1087-2620, (2017).
187. Prakash, G., Hosetti, B.B., Dhananjaya, B.L., "Antimutagenic effect of *Dioscorea Pentaphylla* on genotoxic effect induced by methyl methanesulfonate in the *Drosophila* wing spot test", *Toxicol Int*, 21(3), 258 (2014).

188. Fernández-Bedmar, Z., Anter, J., de La Cruz-Ares, S., Muñoz-Serrano, A., Alonso-Moraga, Á., Pérez-Guisado, J., “Role of citrus juices and distinctive components in the modulation of degenerative processes: genotoxicity, antigenotoxicity, cytotoxicity, and longevity in *Drosophila*”, *J Toxicol Environ Health*, Part A, 74(15-16), 1052-1066 (2011).
189. Romero-Jiménez, M., Campos-Sánchez, J., Analla, M., Muñoz-Serrano, A., & Alonso-Moraga, Á., Genotoxicity and anti-genotoxicity of some traditional medicinal herbs. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 585(1), 147-155 (2005).
190. Demir, E., Kocaoğlu, S., Çetin, H., Kaya, B., “Antigenotoxic effects of *Citrus aurantium* L. fruit peel oil on mutagenicity of two alkylating agents and two metals in the *Drosophila* wing spot test”, *Environ. Mol. Mut.*, 50, 483-488 (2009).
191. Idaomar, M., El Hamss, R., Bakkali, F., Mezzouga, N., Zhiri, A., Baudoux, D., Muñoz-Serrano, A., Liemans, V. and Alonso-Moraga, A., “Genotoxicity and antigenotoxicity of some essential oils evaluated by wing spot test of *Drosophila melanogaster*”, *Mutat. Res.*, 513, 61-68 (2002).
192. Kızılet, H., Kasimoğlu, C., Uysal, H. “Can the *Rosa canina* plant be used against alkylating agents as a radical scavenger”, *Pol J Environ Stud*, 22, 1263-1267 (2013).
- 193- Valadares, B.L.B., Graf, U. Spano, M.A., “Inhibitory effects of water extract of propolis on doxorubicin-induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*”, *Food Chem Toxicol*, 46, 1103–1110 (2007).
- 194- Özcan, P.Ö., ‘Propolisin antimutajenik etkilerinin *Drosophila melanogaster*’de araştırılması’, Yüksek lisans tezi, *Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*, Ankara, 48-57 (2011).
- 195- del Carmen García-Rodríguez, M., Nicolás-Méndez, T., Serrano-Reyes, G., Itamirano-Lozano, M., “230-Simultaneous Evaluations of GSH Levels, SOD Activity and the Genotoxic Damage in Mice Treated with Chromium (VI) and Catechins of Green Tea [(+)-Catechin and (-)-Epigallocatechin-3-Gallate]”, *Free Radic Biol Med*, 100, S106 (2016).
- 196- Isbrucker, R.A., Bausch, J., Edwards, J.A., Wolz, E., “Safety studies on epigallocatechin gallate (EGCG) preparations. Part 1: genotoxicity”, *Food Chem Toxicol*, 44(5), 626-635 (2006).
197. Kumar, K.B.H., Kuttan, R., “Chemoprotective Activity of an Extract of *Phyllanthus amarus* Against Cyclophosphamide Induced Toxicity in Mice”, *Phytomedicine*, 12: 494-500 (2004).



198. Abraham, P. and Isaac, B., “Ultrastructural changes in the rat kidney after single dose of cyclophosphamide—possible roles for peroxisome proliferation and lysosomal dysfunction in cyclophosphamide-induced renal damage”, *Hum Exp Toxicol*, 30(12), 1924-1930 (2011).
199. Matalon, S. T., Ornoy, A., Lishner, M., “Review of the potential effects of three commonly used antineoplastic and immunosuppressive drugs (cyclophosphamide, azathioprine, doxorubicin on the embryo and placenta)”, *Reprod Toxicol*, 18(2), 219-230 (2004).
200. Anderson, D., Bishop, J. B., Garner, R. C., Ostrosky-Wegman, P., Selby, P. B., “Cyclophosphamide: review of its mutagenicity for an assessment of potential germ cell risks”, *Mutat Res Fund Mol Mech Mutagen*, 330(1), 115-181 (1995).
201. Spanó, M.A., Frei, H., Würgler, F.E., Graf, U., 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 (2001).
202. Doğan, E. ve Yeşilada, E.E., “Evaluation of genotoxic and antigenotoxic activities of resveratrol in the wing spot test of *Drosophila*”, *IJRBS*, 86-95 (2015).
203. Zijlstra, J. A. and Vogel, E. W., “Influence of metabolic factors on the mutagenic effectiveness of cyclophosphamide in *Drosophila melanogaster*”, *Mutat Res Fund Mol Mech Mutagen*, 210(1), 79-92 (1989).
204. Kawabata, T.T., Chapman, M.Y., Kim, D.H., Stevens, W.D. and Holsapple, M.P., “Mechanism of in vitro Immunosuppression by Hepatocyte Generated Cyclophosphamide Metabolites and 4-Hydroxycyclophosphamide”, *Biochemical Pharmacology*, Vol. 40: No. 5, pp. 927 – 935 (1990).
205. Senthilkumar, S., Devaki, T., Manohar, B.M., Babu, M.S., “Effect of squalene on cyclophosphamide-induced toxicity”. *Clinica Chimica Acta, International Journal of Clinical Chemistry*, 364: 335-342 (2006).
206. Dobrzyńska, M.M. and Gajewski, A. K., “Induction of micronuclei in mouse bone marrow after combined X-rays-cyclophosphamide and X-rays-mitomycin C treatments”. *Teratog Carcinog Mutagen*, 19(4), 267-274 (1999).
207. Eleazu, C.O., Eleazu, K.C., Chukwuma, S., Essien, U.N., “Review of the mechanism of cell death resulting from streptozotocin challenge in experimental animals, its practical use and potential risk to humans”, *J Diabetes Metab Disord*, 12(1), 60 (2013).
208. Masutani, M., Suzuki, H., Kamada, N., Watanabe, M., Ueda, O., Nozaki, T., Ochiya, T., “Poly (ADP-ribose) polymerase gene disruption conferred mice resistant to streptozotocin-induced diabetes”, *PNAS* 96(5), 2301-2304 (1999).

- 209 . Ventura-Sobrevilla, J., Boone-Villa, V.D., Aguilar, C.N., Román-Ramos, R., Vega-Avila, E., Campos-Sepúlveda, E., Alarcón-Aguilar, F., “Effect of varying dose and administration of streptozotocin on blood sugar in male CD1 mice”, *In Proc West Pharmacol Soc* (Vol. 54, No. 5, p. 9) (2011).
210. Valentovic, M. A., Alejandro, N., Carpenter, A. B., Brown, P. I., Ramos, K., “Streptozotocin (STZ) diabetes enhances benzo ( $\alpha$ ) pyrene induced renal injury in Sprague Dawley rats”, *Toxicol Lett*, 164(3), 214-220 (2006).
211. Laaksonen, D.E., Atalay, M., Vider, L., Hänninen, O., “Effects of endurance training on tissue glutathione homeostasis and lipid peroxidation in streptozotocin-induced diabetic rats”, *Scand J Med Sci Sports.*, 12(3), 163-170 (2002).
212. Henriksen, E.J., “Invited review: Effects of acute exercise and exercise training on insulin resistance”, *J Appl Physiol*, 93:788–796 (2002).
213. Coskun, O., Kanter, M., Korkmaz, A., Oter, S., “Quercetin, a flavonoid antioxidant, prevents and protects streptozotocin-induced oxidative stress and  $\beta$ -cell damage in rat pancreas”, *Pharmacol Res*, 51(2), 117-123 (2005).
214. Robbiano, L., Mereto, E., Corbu, C., Brambilla, G., “DNA damage induced by seven N-nitroso compounds in primary cultures of human and rat kidney cells”, *Mutat Res Genet Toxicol* , 368(1), 41-47 (1996).
215. Eleazu, C.O. and Eleazu, K.C., “Ameliorating potentials of 3 medicinal plants on relative pancreatic weights in streptozotocin induced diabetic rats”, *J Diabetes Metab*, 4(264), 2 (2013).
216. Demir, E., Kaya, B., Marcos, R., Cenkçi, S.K., Çetin , H., “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 (2013).
217. Patenkovic, A., Stamenkovic-Radak, M., Banjanac, T., Andjelkovic, M. “Antimutagenic effect of sage tea in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*”, *Food Chem Toxicol*, 47(1), 180-183 (2009).
218. de Rezende, A. A. A., Graf, U., da Rosa Guterres, Z., Kerr, W. E., Spanó, M. A. “Protective effects of proanthocyanidins of grape (*Vitis vinifera* L.) seeds on DNA damage induced by Doxorubicin in somatic cells of *Drosophila melanogaster*”, *Food Chem Toxicol*, 47(7), 1466-1472 (2009).
219. Demir, E., Kocaoğlu, S., Kaya, B., “Antigenotoxic properties of chlorophyllin and chlorophylls in the *Drosophila* wing spot test”, *Fresen Environ Bull*, 19(12), 3131-3138 (2010).

220. Demir, E., Kocaoğlu, S., Çetin, H., Kaya, B., “Antigenotoxic effects of *Citrus aurentium* L. fruit peel oil on mutagenicity of two alkylating agents and two metals in the *Drosophila* wing spot test”, *Environ Mol Mutagen*, 50(6), 483-488 (2009).
221. Çelik, F., “Türkiye Klinikleri J Med Sci. Çay (*Camellia sinensis* (L.) O. Kuntze); İçeriği”, *Sağlık Üzerindeki Koruyucu Etkisi ve Önerilen Tüketimi*. 26: ss. 642-648 (2006).
222. Zhu, W.L., Shi, H.S., Wei, Y.M., Wang, S. J., Sun, C.Y., Ding, Z. B., Lu, L., “Green tea polyphenols produce antidepressant-like effects in adult mice”, *Pharmacol Res*, 65(1), 74-80 (2012).
223. de Magalhães, P.M., Dupont, I., Hendrickx, A., Joly, A., Raas, T., Dessy, S., Schneider, Y. J., “Anti-inflammatory effect and modulation of cytochrome P450 activities by *Artemisia annua* tea infusions in human intestinal Caco-2 cells”, *Food Chem*, 134(2), 864-871 (2012).
224. Cavet, M.E., Harrington, K.L., Vollmer, T.R., Ward, K.W., Zhang, J. Z., “Anti-inflammatory and anti-oxidative effects of the green tea polyphenol epigallocatechin gallate in human corneal epithelial cells”, *Mol Vis* , 17, 533 (2011).
225. Costa, R.M., Magalhães, A.S., Pereira, J.A., Andrade, P. B., Valentão, P., Carvalho, M., Silva, B. M., “Evaluation of free radical-scavenging and antihemolytic activities of quince (*Cydonia oblonga*) leaf: a comparative study with green tea (*Camellia sinensis*)”, *Food Chem Toxicol* , 47(4), 860-865 (2009).
226. Carloni, P., Tiano, L., Padella, L., Bacchetti, T., Customu, C., Kay, A., Damiani, E., “Antioxidant activity of white, green and black tea obtained from the same tea cultivar”, *Food Res Int* , 53(2), 900-908 (2013).
227. Curin, Y. and Andriantsitohaina, R., “Polyphenols as potential therapeutical agents against cardiovascular diseases”, *Pharmacol Rep*, 57, 97 (2005).
228. Hodgson, J.M., Burke, V., Puddey, I.B., “Acute effects of tea on fasting and postprandial vascular function and blood pressure in humans”, *J Hypertens* , 23(1): 47-54 (2005).
229. Weber, J.M., Ruzindana-Umunyana, A., Imbeault, L., Sircar, S., “Inhibition of adenovirus infection and adenain by green tea catechins”, *Antivir Res*, 58(2), 167-173 (2003).
230. Bhattacharya, U., Mukhopadhyay, S., Giri, A.K., “Comparative antimutagenic and anticancer activity of three fractions of black tea polyphenols thearubigins”, *Nutr Canc*, 63(7): 1122-1132 (2011).

231. Katiyar, S.K., Agarwal, R., Zaim, M.T., Mukhtar, H., "Protection against N-nitrosodiethylamine and benzo [a] pyrene-induced forestomach and lung tumorigenesis in A/J mice by green tea", *Carcinogenesis*, 14(5), 849-855 (1993).
232. Carvalho, M., Jerónimo, C., Valentão, P., Andrade, P.B., Silva, B.M., "Green tea: A promising anticancer agent for renal cell carcinoma", *Food Chem*, 122(1): 49-54 (2010).
233. Genkinger, J.M., Li, R., Spiegelman, D., Anderson, K.E., Albanes, D, et al., "Coffee, tea, and sugar-sweetened carbonated soft drink intake and pancreatic cancer risk: a pooled analysis of 14 cohort studies", *Canc Epidemiol Biomarkers Prev*, 21(2): 305-318 (2012).
234. Chou, C.C., Lin, L.L., Chung, K.T., "Antimicrobial activity of tea as affected by the degree of fermentation and manufacturing season", *Int J Food Microbiol* , 48(2): 125-130 (1999).
235. Von Staszewski, M., Pilosof, A.M., Jagus, R.J., "Antioxidant and antimicrobial performance of different Argentinean green tea varieties as affected by whey proteins" *Food Chem*, 125(1), 186-192 (2011).
236. Anderson, R.A. and Polansky, M.M., "Tea enhances insulin activity", *J Agr Food Chem* , 50(24): 7182-7186 (2002).
237. Abolfathi, A.A., Mohajeri, D., Rezaie, A., Nazeri, M., "Protective effects of green tea extract against hepatic tissue injury in streptozotocin-induced diabetic rats", *Evid base Compl Alternative Med*, (2012).
238. Yoshino, K., Tomita, I., Sano, M., Oguni, I., Hara, Y., Nakano, M., "Effects of long-term dietary supplement of tea polyphenols on lipid peroxide levels in rats", *Age*, 17(3), 79-85 (1994).
239. Huang, H.C. and Lin, J.K., "Pu-erh tea, green tea, and black tea suppresses hyperlipidemia, hyperleptinemia and fatty acid synthase through activating AMPK in rats fed a high-fructose diet", *Food & Function* 3(2): 170-177 (2012).
240. Maron, D.J., Lu, G.P., Cai, N.S., Wu, Z.G., Li, Y.H., Chen, H., Zhao, J. "Cholesterol-lowering effect of a theaflavin-enriched green tea extract: a randomized controlled trial", *Arch Intern. Med*, 163(12), 1448-1453 (2003).
241. Almajano, M., Vila, I., Ginés, S., "Neuroprotective effects of white tea against oxidative stress-induced toxicity in striatal cells", *Neurotoxicity Research*, 20(4): 372- 378 (2011).
242. Bhattacharyya, A., Mandal, D., Lahiry, L., Sa, G., Das, T., "Black tea protects immunocytes from tumor-induced apoptosis by changing Bcl-2/Bax ratio", *Cancer Letters*, 209(2): 147-154 (2004).

243. Sheikhzadeh, N., Nofouzi, K., Delazar, A., Oushani, A.K., “Immunomodulatory effects of decaffeinated green tea (*Camellia sinensis*) on the immune system of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*)”, *Fish & shellfish immunology*, 31(6), 1268-1269 (2011).
244. Sharangi, A., “Medicinal and therapeutic potentialities of tea (*Camellia sinensis* L.)—A review”, *Food Res Int*, 42(5): 529-535 (2009).
245. Almajano, M.P., Carbo, R., Jiménez, J., Gordon, M.H., “Antioxidant and antimicrobial activities of tea infusions”, *Food Chem*, 108(1): 55-63 (2008).
246. Alarcón, E., Campos, A. M., Edwards, A.M., Lissi, E., López-Alarcón, C., “Antioxidant capacity of herbal infusions and tea extracts: A comparison of ORAC-fluorescein and ORAC-pyrogallol red methodologies”, *Food Chem*, 107(3), 1114-1119 (2008).
247. Vinson, J.A. and Dabbagh, Y.A., “Tea Phenols: Antioxidant Effectiveness of Teas, Tea Components, Tea Fractions and Their Binding With Lipoproteins”, *Nutr Res*, 18: 1067- 1075 (1998).
248. Hayatsu, H., Inada, N., Kakutani, T., Arimoto, S., Negishi, T., Mori, K., Sakata, I., “Suppression of genotoxicity of carcinogens by (–)-epigallocatechin gallate”, *Prev Med*, 21(3), 370-376 (1992).
249. Katiyar, S.K. and Mukhtar, H., “Inhibition of phorbol ester tumor promoter 12-O-tetradecanoylphorbol- 13-acetate-caused inflammatory responses in SENCAR mouse skin by black tea polyphenols”. *Carcinogenesis*, 18(10): 1911-1916 (1997).
250. Bushman, J.L., “Green tea and cancer in humans: a review of the literature”, *Nutr Res*, 31(3):151-159 (1998).
251. McKay, D.L. and Blumberg, J.B., “The role of tea in human health: an update”, *J Am Coll Nutr*, 21(1): 1-13 (2002).
252. Min, K. J. and Kwon, T. K., “ Anticancer effects and molecular mechanisms of epigallocatechin-3-gallate”, *Integrative Medicine Research*, 3(1), 16-24 (2014).
253. Yalçın, A.S., Yılmaz, A.M., Altundağ, E.M., Koçtürk, S. “Kurkumin, Kuersetin ve Çay Kateşinlerinin Anti-Kanser Etkileri” *Marmara Pharmaceutical Journal*, 21: 19-29 (2017).
254. Kumazoe, M. and Tachibana, H., “ Anti-cancer effect of EGCG and its mechanisms”, *Functional Foods in Health and Disease*, 6(2), 70-78 (2016).

255. Bandyopadhyay, D., Chatterjee, T. K., Dasgupta, A., Lourduraja, J., Dastidar, S. G., “In vitro and in vivo antimicrobial action of tea: the commonest beverage of Asia”, *Biol Pharmaceut Bull*, 28 (11), 2125 – 2127 (2005).
256. Mao, J. T., Nie, W. X., Tsu, I. H., Jin, Y. S., Rao, J. Y., Lu, Q. Y., Serio, K. J., “White tea extract induces apoptosis in non–small cell lung cancer cells: the role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  and 15-lipoxygenases”, *Canc Prev Res*, 3(9), 1132-1140 (2010).
257. Camouse, M.M., Domingo, D.S., Swain, F.R., Conrad, E. P., Matsui, M.S., Maes, D., Baron, E. D., “Topical application of green and white tea extracts provides protection from solar-simulated ultraviolet light in human skin”, *Exp Dermatol* , 18(6), 522-526 (2009).
258. Santana-Rios, G., Orner, G.A., Amantana, A., Provost, C., Wu, S.Y., Dashwood, R. H., “Potent antimutagenic activity of white tea in comparison with green tea in the Salmonella assay”, *Mutat Res Genet Toxicol Environ Mutagen*, 495(1), 61-74 (2001).
259. Espinosa, C., Pérez-Llamas, F., Guardiola, F.A., Esteban, M.A., Arnao, M.B., Zamora, S., & López-Jiménez, J. A., “Molecular mechanisms by which white tea prevents oxidative stres”, *J Physiol Biochem* , 70(4), 891-900 (2014).
260. Espinosa, C., López-Jiménez, J. Á., Cabrera, L., Larqué, E., Almajano, M.P., Arnao, M. B., Pérez-Llamas, F., “Protective effect of white tea extract against acute oxidative injury caused by adriamycin in different tissues”, *Food Chem* , 134(4), 1780-1785 (2012).
261. Mitra, D.K., Shah, P.M., Shah, H.H., Rodrigues, S. V., Mehta, C. J., “The antiplaque efficacy of white tea extract mouthrinse”, *J Indian Soc Periodontol*, 1, 1-4 (2017).
262. Zhao, L., La, V.D., Grenier, D., Antibacterial, antiadherence, antiprotease, and anti-inflammatory activities of various tea extracts: potential benefits for periodontal diseases. *Journal of medicinal food*, 16 (5), 428-436 (2013).
263. Vanka, A. and Vanka, S., “White tea: A contributor to oral health”, *DRJ*, 9(4), 504 (2012).
264. Enzweiler, L., Gressler, G., Heckler, E., Picoli, S. and Suyenaga, E. S., “Evaluation of antimicrobial activity of aqueous extract of white tea *Camellia sinensis* L. Kuntze (1887)”, *Pharmacologia* 2(5):131–136 (2011).
265. Abdella, E.M.M., “Protective Effects Of White Tea Extract Against Mercuric Chloride Induced Hepatotoxicity in Mice”, *Int J Pharmaceut Sci Res*, 8(2), 603 (2017).

266. Dias, T.R., Alves, M.G., Rato, L., Casal, S., Silva, B.M., Oliveira, P.F., “White tea intake prevents prediabetes-induced metabolic dysfunctions in testis and epididymis preserving sperm quality”, *J Nutr Biochem* , 37, 83-93 (2016).
267. Mao, J.T., Nie, W.X., Tsu, I.H., Jin, Y.S., Rao, J.Y., Lu, Q.Y., Serio, K.J., “White tea extract induces apoptosis in non–small cell lung cancer cells: the role of peroxisome proliferator-activated receptor- $\gamma$  and 15-lipoxygenases”, *Canc Prev Res*, 3(9), 1132-1140 (2010).



## ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : FİDAN, Mehmet  
Uyruğu : T.C.  
Doğum tarihi ve yeri : 05.05.1980 Çorum  
Medeni hali : Evli  
Telefon : 03642271264  
Faks : 03642271263  
e-mail : [mfidan1980@hotmail.com](mailto:mfidan1980@hotmail.com).

### Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	19 Mayıs Üniversitesi /Biyoloji	2004
Lisans	19 Mayıs Üniversitesi/Biyoloji	2001
Lise	Osmancık Lisesi	1996

### İş Deneyimi

Yıl	Yer	Görev
2005-2017	MEB	Biyoloji Öğretmeni

### Yabancı Dil

İngilizce

**Hobiler** Futbol, Müzik dinlemek, Kitap okumak