



**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MARAŞ OTU KULLANIMININ KROMOZOM
ANORMALLİKLERİ (KA) ÜZERİNE ETKİSİ**

İLTER DEMİRHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAHRAMANMARAŞ
Şubat-2006**



**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MARAŞ OTU KULLANIMININ KROMOZOM
ANORMALLİKLERİ (KA) ÜZERİNE ETKİSİ**

İLTER DEMİRHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

**KAHRAMANMARAŞ
Şubat-2006**

**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**MARAŞ OTU KULLANIMININ KROMOZOM
ANORMALLİKLERİ (KA) ÜZERİNE ETKİSİ**

İLTER DEMİRHAN

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Kod No :

Bu Tez 14/02/2006 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından Oy Birliği ile Kabul Edilmiştir.

**Yrd.Doç.Dr. Lale DÖNBAK
DANIŞMAN**

**Yrd..Doç.Dr. Ahmet KAYRALDIZ
ÜYE**

**Yrd.Doç.Dr. Naciye KURTUL
ÜYE**

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

**Prof.Dr. Özden GÖRÜCÜ
Enstitü Müdürü**

**Bu çalışma KSÜ Araştırma Fon Saymanlığı tarafından desteklenmiştir.
Proje No: 2005/1-14**

Not: Bu tezde kullanılan özgün ve başka kaynaktan yapılan bildirişlerin, çizelge, şekil ve fotoğrafların kaynak gösterilmeden kullanımı, 5846 sayılı Fikir ve Sanat Eserleri Kanunundaki hükümlere tabidir.

İÇİNDEKİLER**SAYFA**

İÇİNDEKİLER.....	I
ÖZET.....	II
ABSTRACT.....	III
ÖNSÖZ.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	V
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	VI
SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ.....	VII
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	3
2.1. Genel Bilgiler.....	3
2.1.1. Kromozomlar.....	3
2.1.2. Kromozom Morfolojisi.....	5
2.1.3. Kromatin Materyalinin Bileşenleri.....	7
2.1.4. Kromatinin Organizasyonu.....	12
2.1.5. Mutasyonlar.....	14
2.1.6. Mutajen Etkenler.....	16
2.2. Dumansız Tütün Kullanımının İnsan Sağlığına Etkileri ile İlgili Çalışmalar....	17
2.3. Dumansız Tütün Kullanımının Genotoksik Etkisi ile İlgili Çalışmalar.....	20
3. MATERYAL VE METOT.....	22
3.1. Materyal	22
3.1.1. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları.....	22
3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	23
3.1.3. Çalışmada Kullanılan Solusyonların Hazırlanması.....	24
3.2. Yöntem.....	25
3.2.1. Bireylerin Seçimi.....	25
3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması.....	25
3.2.3. Lamların Temizlenmesi.....	25
3.2.4. Preparatların Hazırlanması.....	26
3.2.5. Preparatların Boyanması.....	26
3.2.6. Mikroskopik İncelemeler.....	26
3.2.7. İstatistiksel Hesaplamalar.....	27
4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	28
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	35
KAYNAKLAR	36
EKLER	40
ÖZGEÇMİŞ.....	41

ÖNSÖZ

Biyoloji Bölümü Anabilim Dalı'nda almış olduğum yüksek lisans eğitimim süresince tez konumun belirlenmesi ve yürütülmesinde ilgi ve yardımlarını esirgemeyen yüksek lisans tez danışmanım K.S.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi, Sayın Yrd. Doç. Dr. Lale DÖNBAK' a,

Tezimin preparatlarının hazırlanması aşamasında değerli bilgi ve deneyimleri ile benden yardımlarını esirgemeyen, K.S.Ü. Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Üyesi Sayın Araş. Gör. Dr. Mustafa ÇELİK' e,

Ayrıca gerekli düzeltme ve yardımları ile tezimin oluşturulmasında yardımcı olan K.S.Ü Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Öğretim Üyesi Sayın Yard. Doç. Dr. Ahmet KAYRALDIZ' a,

Projemizi maddi olarak destekleyen Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Araştırma Fonu yöneticilerine ve çalışanlarına sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Şubat 2006
KAHRAMANMARAŞ

İlter DEMİRHAN

ÇİZELGELER DİZİNİ**SAYFA**

Çizelge 2.1.	Bazı türlerin diploid kromozom sayıları.....	4
Çizelge 2.2.	İnsanda kromozom grupları.....	5
Çizelge 2.3.	Kromatinin bileşenleri.....	8
Çizelge 2.4.	Histon tiplerinin özellikleri.....	11
Çizelge 4.1.	Maraş otu kullananlarda ve kontrol grubunda AH ve KA Frekansları	28
Çizelge 4.2.	Sitogenetik markırların Spearman's rho korelasyon analizleri	32

ŞEKİLLER DİZİNİ

	SAYFA
Şekil 2.1. İnsanın idiogramı.....	5
Şekil 2.2. Kromozomların yapısı.....	6
Şekil 2.3. Sentromerin yerine göre kromozom tipleri.....	7
Şekil 2.4. Pürin ve pirimidin nükleotidlerinin yapısı.....	9
Şekil 2.5. DNA'nın yapısı.....	9
Şekil 2.6. Nükleozomun yapıtaşları.....	12
Şekil 2.7. Kromatin organizasyonunun şematik görünümü.....	13
Şekil 2.8. DNA'nın metafaz kromozomu oluşuncaya kadar geçirdiği organizasyon aşamaları.....	13
Şekil 4.1. 2005/15 protokol nolu, 26 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferik lenfositlerindeki bir metafaz kromozomunda kromatid kırığı (x1000).....	29
Şekil 4.2. 2005/27 protokol nolu, 28 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferik lenfositlerindeki bir metafazda kromozom kırığı (x1000)...	29
Şekil 4.3. 2005/31 protokol nolu, 32 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferik lenfositlerindeki bir metafazda kardeş kromatid birleşmesi (x1000).....	30
Şekil 4.4. 2005/32 protokol nolu, 30 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferik lenfositlerindeki bir metafaz kromozomunda disentrik kromozom yapısı (x1000).....	30
Şekil 4.5. 2005/13 protokol nolu, 30 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferik lenfositlerinde poliploidi (x1000).....	31
Şekil 4.6. 2005/27 protokol nolu, 28 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferik lenfositlerindeki bir metafaz kromozomunda kromatid değişmesi (x1000).....	31

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

DNA	: Deoksiribonükleik Asit
RNA	: Ribonükleik asit
r-RNA	: Ribozomal Ribonükleik Asit
SAT	: Satellit
STR	: Short Tandem Repeats
HMG	: High Mobility Group
SCE	: Sister Chromatid Exchange
CA	: Chromosome Aberrations
MN	: Mikronukleus
B'	: Kromatid Kırığı
B''	: Kromozom Kırığı
SU	: Sister Union
DS	: Disentrik kromozom
SCU	: Sister Chromatid Union
P	: Poliploidi
UV	: Ultraviyole
bç	: Baz çifti
nm	: Nanometre
μ	: Mikron
°C	: Santigrat (Derece)
cm	: Santimetre
lt	: Litre
ml	: Mililitre
M	: Molarite

1. GİRİŞ

Günümüzde insanlar birçok alanda çok çeşitli genotoksik ajanlara maruz kalmaktadırlar. Çevresel mutajenler ve ilgili diğer maddeler insanları ve ekosistem içerisinde yer alan diğer tüm canlıları tehdit etmektedir. Ziraatte ve gıda üretiminde hormon ve ilaçların kullanılması, hızlı sanayi gelişimi, kentleşme, hava kirliliği, su kirliliği gibi etkenler insanların sindirim, solunum ve absorpsiyon yoluyla genotoksik ajanları bünyelerine almalarına neden olmaktadır. Bu genotoksik ajanların vücuda alınması; astım, cilt ve deri hastalıkları, çeşitli sistemik hastalıklar, kanser ve konjenital anomalilere yol açabilmektedir (Albertini ve ark., 2000).

Yapılan çalışmalar insanların günlük yaşantılarında meslekleri ile ilgili mutajen ve kanserojen maddelere de maruz kaldıklarını göstermiştir. Değişik mesleklerde çalışan bireylerin genotoksik risklerinin saptanması amacıyla birçok çalışma yapılmıştır. Plastik ve organik çözücü gibi mutajen maddeleri kullanan boyacıların (Pinto ve ark., 2000), antineoplastik maddelere maruz kalan hemşirelerin (Burgaz ve ark., 2002), çimento tozuna maruz kalan çimento fabrikası işçilerinin (Fatima ve ark., 2001), benzen ve türevlerine maruz kalan kişilerin (Surrates ve ark., 1997) genotoksik risklerinin incelendiği çalışmalar farklı meslek gruplarında yapılmış olan sitogenetik çalışmalardan yalnızca birkaçına örnek olarak verilebilir.

Çevresel ve mesleki mutajenlerin yanısıra insanlar alkol, uyuşturucu, sigara, dumansız tütün vs. kullanımı gibi yaşam tarzlarıyla ilintili mutajenlere de maruz kalmaktadırlar. Taşıdığı birçok genotoksik ajandan dolayı günümüzde tütün ve tütünden elde edilen ürünler insan sağlığını birinci derecede tehdit eden başlıca unsur olarak göze çarpmaktadır. Sigara kullanımı yöresel bir olgu olmayıp tüm dünya ülkelerince bilinen ve kullanımı son iki asırda artan kanserojen bir etkidir. Son bir asırda ise sigara kullanımıyla birlikte dumansız tütün kullanımı da yaygınlaşmıştır. Özellikle Amerika, Asya ve Avrupa ülkelerinin yanısıra Afrika, Çin, Japonya gibi ülkelerde de yaygınlaşmış insan sağlığını tehdit eder hale gelmiştir (Grupta ve Ray, 2003; Ellison, 2003; Rodu ve ark., 2004).

Dumansız tütün formları çoğunlukla erkekler arasında yaygın olarak kullanılmaktadır. Son zamanlarda yapılan çalışmalar dumansız tütün kullanımının gençler arasında yaygınlaştığını, on beş yaş ve altı dumansız tütün kullanım oranının % 20'lere kadar artmış olduğunu göstermektedir. Genel adıyla dumansız tütün; çiğnenen tütün ve enfiye olarak iki kısma ayrılır. Dumansız tütün çeşitleri ve kullanım şekilleri ülkelere göre değişmektedir. Bazı bölgelerde sigaranın yanısıra zevk verici madde olarak da kullanılmaktadır (Patel ve Greydanus, 1999; Patricia ve ark., 2000; Coogan ve ark., 2000).

Yurdumuzda ise; Güney Doğu Anadolu Bölgesi'nde özellikle Kahramanmaraş, Gaziantep ve Adıyaman illerinde *Nicotiana rustica* L. (deli tütün) bitkisinden elde edilen dumansız tütün formu olan Maraş otu yaygın olarak kullanılmaktadır. Maraş otu, *Nicotiana rustica* L. bitkisinin yapraklarının kurutularak meşe, ceviz veya asma çubuğundan elde edilen kül ile karıştırılarak hazırlanmaktadır. Bu karışım ortalama bir tatlı kaşığı kadar avuca alınıp alt dudak ile çene arasına konmaktadır. Ağızda 5-10 dakika tutulduktan sonra tütün-tükrük karışımı ağızdan dışarı atılır. Bu işlem gün boyunca tekrarlanmakta hatta bazı kişiler dudakları arasına yerleştirdikleri bu toz ile uyumaktadırlar (Erenmemişoğlu ve ark., 1992; Erenmemişoğlu, 1999).

Saitoh ve ark. (1985), *Nicotiana rustica* L. bitkisi ile sigaralık kültür tütünü olan *Nicotiana tabacum* L. arasında alkaloid kompozisyonları bakımından belirgin bir farklılık olmadığını gözlemişlerdir. Ancak *Nicotiana rustica* L. nin nikotin içeriğinin *Nicotiana tabacum* L. den yaklaşık 6-10 kat daha yüksek olduğunu rapor etmişlerdir. Hazırlanırken Maraş otuna belli oranlarda (yarı yarıya) katılan kül alkaloidlerin baz haline getirilerek ağız mukozasından emilmesini sağlamaktadır (Erenmemişoğlu ve ark., 1992).

Hemen hemen sigara tütünü ile aynı alkaloidleri taşıyan ve genellikle sigaraya alternatif olarak kullanılan Maraş otunun insan sağlığı üzerine olumsuz etkileri olduğu saptanmıştır. Gerek biyokimyasal (Kurtul ve ark., 2005), immünolojik (Aral ve ark., 2002) ve gerekse hematolojik (Kılınç ve ark., 2004) parametreler üzerine zararlı etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. Ayrıca Maraş otu kullanımı sigarayla eşdeğer oranda kalp ve damar rahatsızlıklarına neden olabilmektedir. (Güven ve ark., 2004). Oral kanser riskinin Maraş otu kullanımına bağlı olarak artabileceği saptanmıştır (Erenmemişoğlu ve ark., 1995).

Diğer bazı çalışmalarda ise; Maraş otunun olası genotoksik etkisi araştırılmıştır. Özkul ve ark. (1997), Maraş otu kullanıcılarının dudak mukozasından aldıkları örnekleri analiz etmişler ve MN değerlerinin Maraş otu kullanmayan bireylerden daha yüksek olduğunu saptamışlardır. Benzer şekilde, Burgaz ve ark. (2000) da Maraş otu kullanan bireylerde MN frekansının kullanmayan bireylere daha yüksek olduğunu gözlemişlerdir. Özkul ve ark. (1995), Maraş otu kullanımının periferik lenfositlerde SCE düzeyini artırdığını bildirmişlerdir.

Yapılan kaynak taramasında Maraş otunun insan periferik lenfositlerinde kromozom anormallikleri (KA) üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle bu çalışma; Maraş otu kullanımının insan periferik lenfositlerinde kromozom anormallikleri üzerine etkisini incelemek amacıyla planlanmıştır. Deney grubu olarak seçilen, Maraş otu kullanan 40 ve kontrol grubu olarak Maraş otu kullanmayan 20 kişide anormal hücre yüzdesi (% AH) ve kromozomal anormallikler (KA) saptanmış elde edilen veriler karşılaştırılarak değerlendirilmiştir.

2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

2.1. Genel Bilgiler

2.1.1. Kromozomlar

Kalıtımın temel kanunları ilk kez 1865'te Gregor Mendel tarafından atılmış ve o tarihlerde bilim adamları tarafından yeterince destek bulamamıştır. 19. yüzyılın ortalarında hücre bölünmesinin organizmaların çoğalmasında temel bir olay olduğu kabul edildikten sonra hücre, kalıtım ve evolüsyon kavramları birbirleriyle ilişkilendirilmiştir. Amerikalı sitolog W.A. Cannon ve E.B. Wilson 1902-1903 arasında genlerin ve kromozomların davranışları arasındaki ilişkiyi açıklamaya çalışmışlardır (Ozban, 1994; Karol, 1998).

Genetik materyal denildiğinde ilk olarak kromozom terimi akla gelmektedir. Anne ve babaya ait kalıtsal karakterlerin açıklanmasında veya bir sonraki dölle aktarılmasında kromozomlar görev almaktadır. Kromozomlar ilk kez hücre bölünmesi araştırmaları sırasında 1880'li yıllarda keşfedilmiştir. W. Waldeyer 1888 yılında bazik boyalarla çok fazla boyanma kabiliyetinde olan bu iplikçiklere renkli cisim anlamına gelen kromozom adını vermiştir (Yakar, 1987; Akman, 1998).

Bölünme halinde olmayan hücrelerde, genetik materyal kromatin olarak adlandırılan şekilsiz ve granüler bir yapı halindedir. Kromatinin boncuk dizisini andıran yoğun spiral yaptığı bölgeler kromomer olarak adlandırılır. Hücre bölünmeye başladığında kromatin daha sıkışık ve kitlesel bir yapı kazanarak kromozomları oluşturur. Kromozomlar en iyi hücre bölünmesinin metafaz ve anafaz safhalarında görülürler (Yakar, 1987; Temizkan, 1994; Kuru ve Gözükara, 2001).

Kromozomlar üzerinde birbirinden farklı boyanma özelliğine sahip iki ayrı kısım vardır. Bunlardan koyu boyanan bölgeler heterokromatin, açık boyanan bölgeler ökromatin olarak adlandırılır. Genetik olarak inaktif olan heterokromatin bölgeler sıkıca katlanmış kromozom ipliklerinden oluşmaktadır (Temizkan, 1994; Bozcuk, 2000).

Her canlı türünün kromozom sayısı, şekli ve yapısı kendine özgü ve sabittir. Kromozom sayısı ile canlının organizasyon derecesi arasında bir ilişki bulunmamaktadır. Bir kromozomun uzunluğu 0.2 ile 50 μm arasında değişmektedir. Çapı ise; 0.2 ile 2 μm arasındadır. İnsan kromozomları genellikle 4-6 μm uzunluğundadır (Ozban, 1994; Temizkan, 1994).

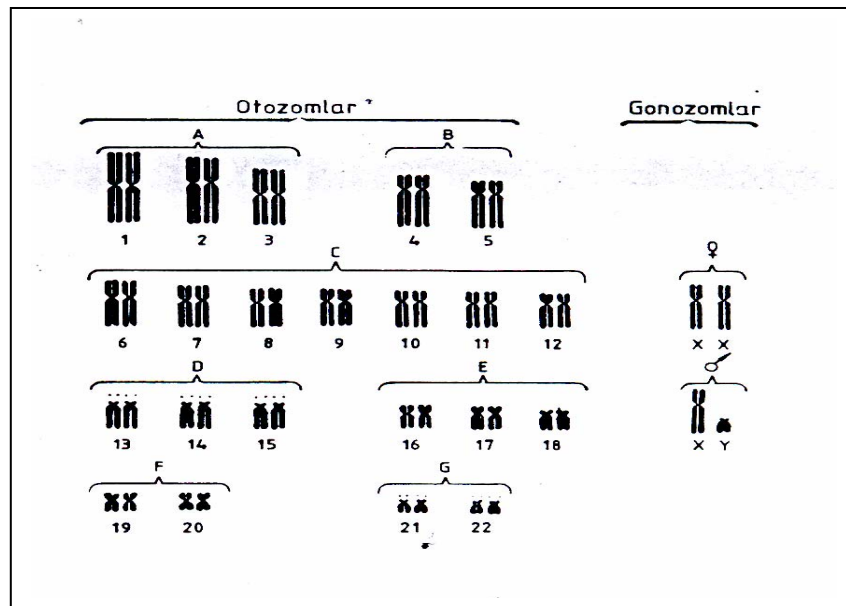
Diploid canlıların somatik hücrelerinde ve eşey hücrelerindeki kromozom sayıları birbirinden farklıdır. Somatik hücrelerde her kromozom çeşidinden bir çift bulunur. Gerek anadan gerek babadan gelen kromozomlar zigotta çiftler teşkil ederler. Bu çiftlere homolog kromozomlar denilir. Bu durumda eşey hücrelerinde "n" sayıda bulunan kromozomlar zigottan itibaren soma hücrelerinde "2n" sayıda olurlar. Bu sayı insan için 23 çift (46), *Ascaris* için 2 çift (4), *Drosophila melanogaster* için ise 4 çift (8) dir (Karol, 1998; Bozcuk, 2000). Çizelge 2.1'de bazı türlere ait canlıların diploid kromozom sayıları görülmektedir.

Önceleri bilim adamları insana ait somatik hücrelerde kromozom sayısının $2n=48$ olduğu inancında idi. Ancak 1956 yılında Tjio ve Levan, insan fetal akciğer fibroblastları ile yaptıkları kültürde, insan kromozom sayısının 48 değil 46 olduğunu kesin olarak ortaya koymuşlardır. Bu 46 kromozomdan cinsiyetin belirlenmesi ile ilgili olan X ve Y kromozomlarına gonozom, diğer 44 kromozoma da otozom adı verilmiştir. Kadında 22 çift otozom + XX gonozomları, erkek bireyde ise; 22 çift otozom + XY gonozomları bulunmaktadır (Temizkan, 1994; Bozcuk, 2000).

Bir bireye ait kromozomların sayıları, biçim ve büyüklükleri o ferden karyotipini oluşturur. Farklı karyotiplerin karşılaştırılması amacı ile bir karyotipteki kromozomların uzunlukları, uzun ve kısa kolların birbirine oranı ve sentromerin yeri göz önüne alınarak çizilen şematik şekillerine idiogram denir (Temizkan, 1994) (Şekil 2.1). İnsanın 22 çift olan otozomları 7 grupta toplanmaktadır (Çizelge 2.2).

Çizelge 2.1. Bazı türlerin diploid kromozom sayıları (Bozcuk, 2000).

Denek Adı	Tür adı	Diploid No
İnsan	<i>Homo sapiens</i>	46
Şempanze	<i>Pantroglodytes</i>	48
Rhesus maymunu	<i>Macaca mulatta</i>	42
Sığır	<i>Bos taurus</i>	60
Köpek	<i>Canis familiaris</i>	78
Kedi	<i>Felis domestucus</i>	38
At	<i>Equus caballus</i>	64
Fare	<i>Mus musculus</i>	40
Sıçan	<i>Rattus norvegicus</i>	42
Tavşan	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	44
Kurbağa	<i>Rana pipiens</i>	26
İpek böceği	<i>Bombyx mori</i>	56
Sirke sineği	<i>Drosophyla melanogaster</i>	8
Karasinek	<i>Musca domestica</i>	12
Balarısı	<i>Apis mellifera</i>	32
Soğan	<i>Allium cepa</i>	16
Arpa	<i>Hordeum vulgare</i>	14
Buğday	<i>Triticum aestivum</i>	42
Mısır	<i>Zea mays</i>	20
Pamuk	<i>Gossypium hirsutum</i>	52
Domates	<i>Lycopersicum esculentum</i>	24
Tütün	<i>Nicotiana tabacum</i>	48
Fasulye	<i>Phaseolus vulgaris</i>	22
Bezelye	<i>Pisum sativum</i>	14
Bakla	<i>Vicia faba</i>	12
Bira mayası	<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	16-32
	<i>Aspergillus nidulans</i>	8
	<i>Neurospora crassa</i>	7
	<i>Chlamydomonas reinhardtii</i>	16



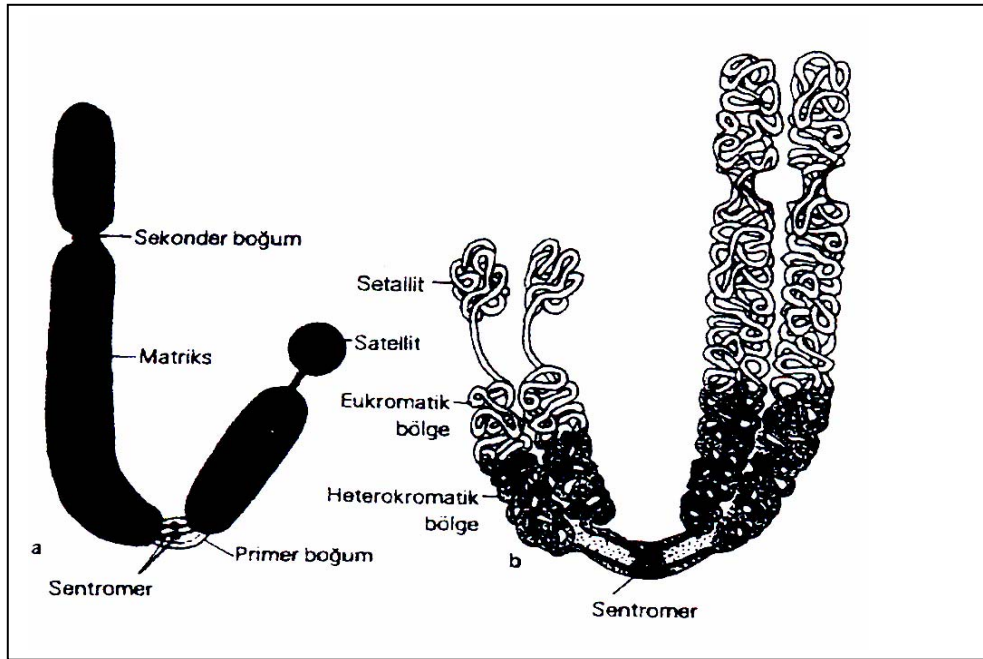
Şekil 2.1. İnsanın idiogramı (Temizkan, 1994).

Çizelge 2.2. İnsanda kromozom grupları (Temizkan, 1994).

Grup	Kromozomlar	Boy	Biçim
A	1-3	Büyük	~ Metasentrik
B	4-5	Büyük	Submetasentrik
C	6-12 (ve X)	Orta	Submetasentrik
D	13-15	Orta	Akrosentrik
E	16-18	Orta-Küçük	Submetasentrik
F	19-20	Küçük	~Metasentrik
G	21-22 (ve Y)	Çok küçük	Akrosentrik

2.1.2. Kromozom Morfolojisi

Hücre bölünmesinin metafaz evresi kromozomların en iyi gözlemlendiği ve incelendiği evredir. Metafaz evresinde silindirik şekilde görülen kromozomlar en kısa ve en kalın hallerinde olurlar ve tipik şekillerini gösterirler. Bu safhadaki bir kromozomda genel olarak sentromer, primer bağ, sekonder bağ, telomer ve satelit kısımları ayırt edilebilir (Demirsoy, 1991; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995) (Şekil 2.2).



Şekil 2.2. Kromozomların yapısı, a) Dıştan görünüşü, b) İçten görünüşü (Demirsoy, 1991).

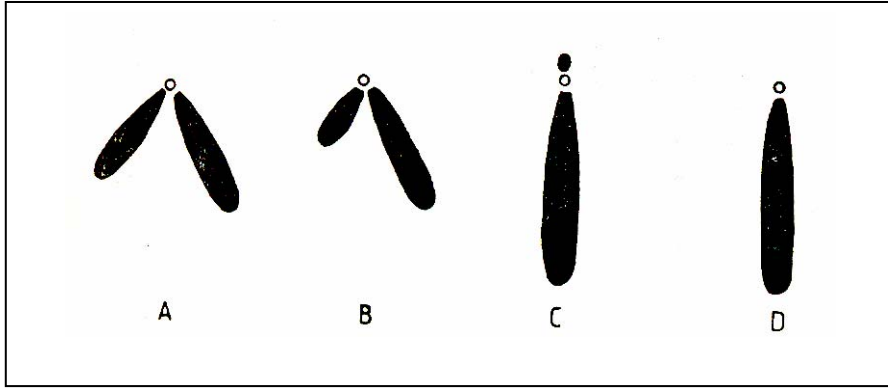
Sentromer: Primer boğumda yer alan ve kinetokor denilen küçük bir granül içeren parlak açık bölgeye sentromer denir. Sentromer kromozomların iç ipliklerine bağlanmasında ve kutuplara çekilmesinde görev alır. Sentromeri bulunmayan kromozomlar hücre bölünmesine katılamazlar ve yok olurlar (Suludere, 1995).

Çoğunlukla kromozomlar bir tane sentromer içerirler ve monosentrikler. Bununla beraber iki (disentrik) veya daha fazla sayıda (polisentrik) sentromer içeren kromozomlar olduğu gibi sentromeri bütün kromozom boyunca yayılmış halde (diffüz-holosentrik) olan kromozomlara da rastlanmaktadır. Bu tip kromozomlar sopa şeklinde olurlar ve kromozomun uzun eksenini iç ipliğinin uzun eksenine dik olarak, kromozomlar ise birbirine paralel olarak düzenlenirler ve kutuplara bu şekilde çekilirler. Bazı böceklerde (Hemiptera), *Luzula* adı verilen bitkide bu şekilde belirli bir yeri olan sentromerler bulunmaz (Demirsoy, 1991; Karol, 1998).

Kromozomlar sentromerlerinin bulunduğu yere göre 4 farklı şekilde görünürler (Şekil 2.3):

- Sentromeri ortada olan ve iki kolu birbirine eşit uzunlukta olan kromozomlara metasentrik kromozomlar denir. Hücre bölünmesinin metafaz safhasında V harfi şeklinde görünürler.
- Sentromeri bir uca daha yakın olan ve bu nedenle iki kolunun uzunluğu birbirine eşit olmayan kromozomlara submetasentrik kromozomlar denir. Hücre bölünmesinin metafaz safhasında L harfi şeklinde görünürler.
- Sentromeri bir uca çok yakın olan ve kollarından biri diğerinden çok küçük olan kromozomlara akrosentrik kromozomlar denir.

- d) Sentromerleri uçta bulunan ve çubuksu bir yapı gösteren kromozomlara telosentrik kromozomlar denir (Temizkan, 1994; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995) .



Şekil 2.3. Sentromerin yerine göre kromozom tipleri, A) Metasentrik, B) Submetasentrik, C) Akrosentrik, D) Telosentrik (Temizkan, 1994).

Primer Boğum: Kromozomlarda sentromerin bulunduğu daralma bölgesine **primer boğum** (birinci boğum) denir. Primer boğum; kromozom kollarının açılması ile sekonder boğumlardan ayrılır (Demirsoy, 1991; Akman, 1998).

Sekonder Boğum: Bazı kromozomlarda primer boğum dışında ikinci bir boğum daha bulunmaktadır. Bu bölgeye sekonder boğum denir. Sekonder boğumlar, r-RNA'ların ve çekirdekçiklerin oluşumu ile ilgilidir. Bu nedenle sekonder boğumlara nukleoler bölge de denilmektedir. Genellikle her hücrede sekonder boğum taşıyan en fazla iki kromozom bulunur. Bu kromozomlara nukleoler kromozomlar denir (Karol, 1998).

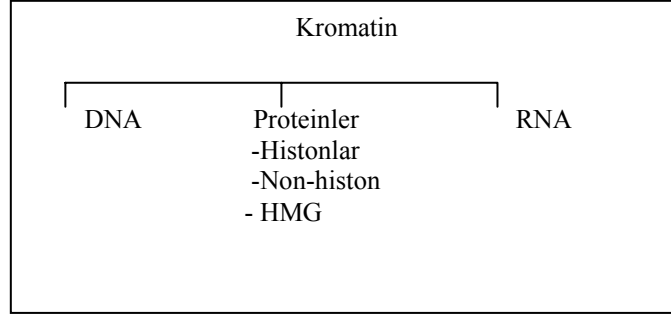
Telomer: Kromozom kollarının uc kısmına telomer adı verilir. Telomerlerin en önemli işlevi; diğer kromozomlar ile etkileştiğinde kromozom uçlarının bozulmadan kalmasını sağlayarak kromozoma kararlılık vermektir. Çeşitli kimyasal maddeler, X-ışınları veya ultraviyole ışınlarının etkisiyle kromozomlarda kopmalar meydana gelir. Bu kopan parçalar koptukları yere veya başka bir kromozomun kopmuş kısmına yapışabilmelerine rağmen, kesinlikle bir kromozomun telomer kısmına yapışamazlar. Bu durum telomerlerin bir polariteye (kutuplaşma) sahip olmalarından ve bu nedenle kopan parçaların kendisine yapışmasını önlemesinden kaynaklanmaktadır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Akman, 1998).

Satellit: Bazı kromozomlarda, bir uçta yer alan ince bir filament ile kromozoma bağlanmış yuvarlak veya silindirik biçiminde bir yapı bulunmaktadır. Bu yapıya satellit denir. Satellitin çapı kromozomun çapına eşittir. Satellit bulunduran kromozomlara SAT-kromozom adı verilmektedir. Satellitin görevi belli olmamakla birlikte DNA'dan yapılmış olduğu ve 10 kadar baz çifti taşıdığı anlaşılmıştır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Akman, 1998).

2.1.3. Kromatin Materyalinin Bileşenleri

Kromatin materyali nukleoprotein yapıdadır. Kromatinin yapısında DNA, proteinler ve RNA yer almaktadır (Çizelge 2.3) (Temizkan, 1999).

Çizelge 2.3. Kromatinin bileşenleri (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995).



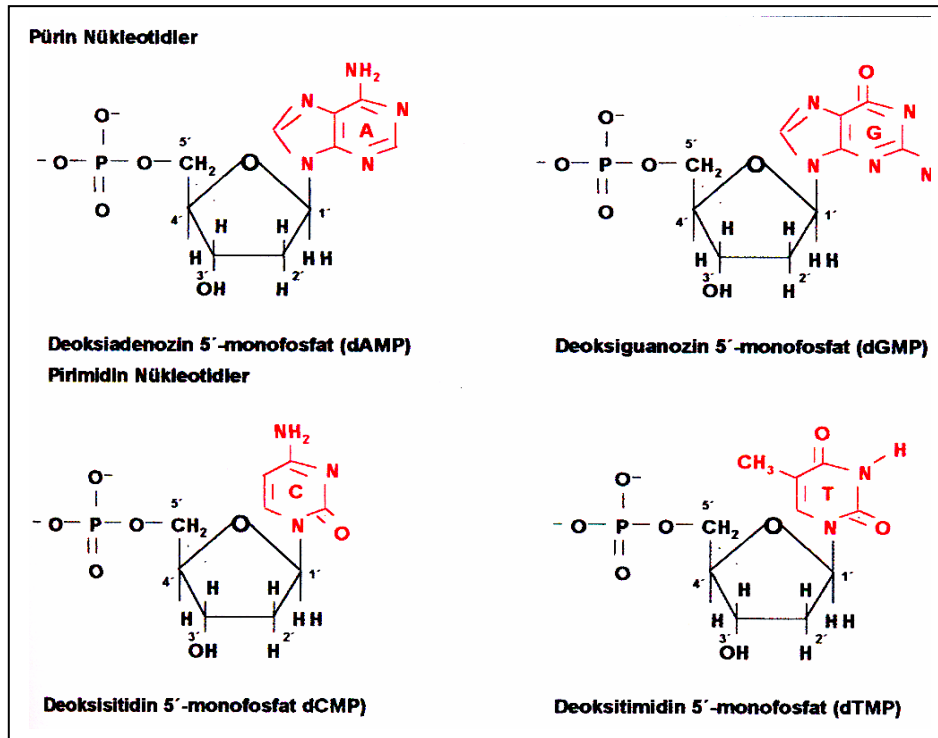
2.1.3.1. DNA

DNA, nükleotid monomerlerinin birbirine bağlanmasıyla oluşmuş bir polinükleotid zinciridir. Nükleotidlerin yapısında;

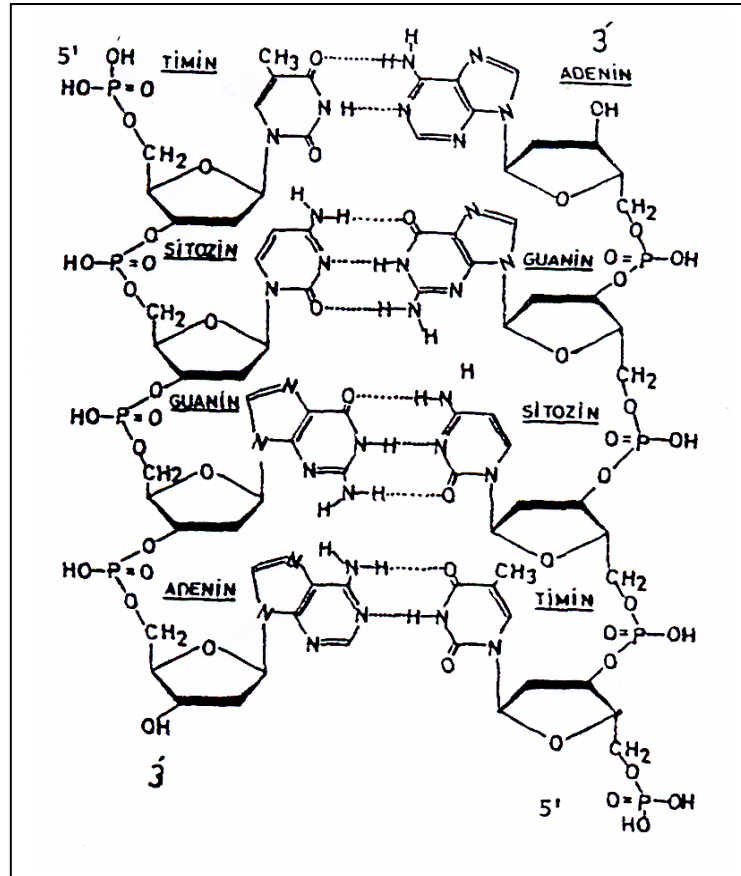
- 5 karbonlu pentoz şekeri,
- Organik bir baz (pürin veya pirimidin) ve
- Fosfat grubu bulunur. Nükleotidler aynı şeker ve fosfat grubunu taşırlar. Ancak içerdikleri nitrojen bazı yönünden farklılık gösterirler. Bu bazlar;

- Adenin (A),
- Guanin (G),
- Sitozin (C) ve
- Timin (T) dir. Bunlardan Adenin ve Guanin iki nitrojen halkası içerdiklerinden pürinler, Sitozin ve Timin ise bir nitrojen halkası içerdiklerinden pirimidinler olarak adlandırılırlar. Nükleotidlerin adlandırılması ise içerdikleri pürin veya pirimidin bazlarına göre deoksiadenozin 5'-monofosfat (dAMP), deoksiguanozin 5'-monofosfat (dGMP), deoksisitidin 5'-monofosfat (dCMP) ve deoksitimidin 5'-monofosfat (dTMP) şeklinde yapılır (Gözükara, 1990; Temizkan, 1999) (Şekil 2.4).

Bir nükleotidin pentozunun 5' pozisyonundaki fosfat (PO_4^+) grubu ile onu izleyen nükleotidin pentozunun 3' pozisyonundaki hidroksil (OH^-) grubu arasında 5'-3' fosfat bağları meydana gelir. Birbirlerine bu şekilde fosfat bağlarıyla bağlanan nükleotidler ise polinükleotid zincirini oluştururlar. Birbirine zıt yönde paralel ve komplementer olan iki polinükleotid zincirinin, ortak bir eksen etrafında dönümler yapması ve karşılıklı nükleotidlerinin birbirine hidrojen bağlarıyla bağlanmasıyla da çift sarmal yapıdaki DNA molekülü oluşmaktadır (Gözükara, 1990; Temizkan, 1999; Öner, 2002) (Şekil 2.5).



Şekil 2.4. Pürin ve pirimidin nükleotidlerinin yapısı (Gözükara, 1990).



Şekil 2.5. DNA'nın yapısı (Gözükara, 1990).

DNA molekülü çift sarmal yapıya sahip olup, iki sarmal pürin ve pürimidin bazları arasında yer alan hidrojen bağları ile bir arada tutulmaktadır. Çift sarmallı bu yapıda bazlar heliksin iç kısmında, fosfat ve şeker omurgası ise dış kısmında yer alır. Bu bakımdan DNA heliksinin iç kısmı hidrofobik, dış kısmı ise hidrofilik özellik taşımaktadır. DNA ipliklerinde, Adenin daima Timinle iki, Guanin daima Sitozin ile üç hidrojen bağı yaparak eşleşirler ($A=T$, $G=C$). Böylece iki iplikten oluşan DNA çift heliksi dönen bir merdivene benzetilebilir. Şeker ve fosfatın arasında bulunan baz çiftlerinin, bu merdivenin basamakları gibi düzenlendiği anlaşılmaktadır. Baz çiftlerinin basamakları arasındaki mesafe 3.4 Å'dur. Çift heliksin bir dönüşü 34 Å olup bir dönüş 10 nükleotit çifti girmektedir. Çift heliksin ortalama çapı ise; 20 Å'dur (Temizkan, 1999; Öner, 2002) (Şekil 2.5).

Dört bazın DNA polimerindeki dizilişi sonsuz şekilde olabilir ve binlerce farklı genetik karakterin meydana gelmesini sağlar. DNA genetik bilgi deposudur. DNA molekülü üzerinde yer alan bu bazlar arasında $A/T=1$, $G/C=1$ şeklinde bir oran vardır. Bu dört nükleotidin, doğrusal şekildeki düzenlenmeleri DNA'nın sahip olduğu genetik bilginin kaynağını oluşturmaktadır. Bir anlamda genetik bir alfabenin harfleri olan bu dört nükleotid, fiziksel ve fonksiyonel kalıtım ünitesi olan genlerde tekrarlanmaktadır. Genler; fonksiyonel bir proteinin veya enzimin sentezlenmesi için gereken bilgi veya kodları taşıyan DNA segmentleridir (Alberts, 1994; Temizkan, 1999).

Ökaryotik organizmaların DNA'sında fonksiyonel özelliklerine göre exon ve intron olarak adlandırılan ayrı bölgeler bulunmaktadır. Genler, DNA'nın exon bölgelerinde yer alırlar. Yani exonlar kodladıkları proteinin amino asit dizilimini belirleyen DNA segmentleri içerirler ve herhangi bir başka genin fonksiyon derecesini belirlerler. Fonksiyonları henüz belirlenemeyen ve protein sentezinde görev almayan intronlar ise; exonlar arasında tek kopya baz dizili halinde veya tekrarlanan baz dizilimi halinde bulunurlar (Temizkan, 1999).

2.1.3.2. Proteinler

Kromatinin yapısında bulunan proteinler; bazık yapıdaki histonlar, asidik özellik gösteren non-histon ve HMG (High Mobility Group) proteinleridir (Temizkan, 1999).

Histonlar: DNA'nın yapısında; H1, H2A, H2B, H3 ve H4 olmak üzere 5 tip histon vardır (Çizelge 2.4). DNA molekülü, histonlarla olan bağlantıları sayesinde tamamen yoğunlaşmış kromozomlar içerisinde sıkıca paketlenmektedir. Histonlar, artı yüklü amino asitler olan lizin ve arjinini çok fazla miktarda içerdiklerinden proteinin ve nükleotitlerin elektrostatik olarak eksi yüklü fosfat gruplarına bağlanmasını sağlamaktadırlar. Oldukça küçük moleküllerdir. H1'in bazık amino asitleri polipeptit zincirinin iki ucunda toplanmıştır. Asidik ve hidrofobik amino asitleri ise molekülün orta bölgesinde yer alır. Diğer dört histonda bazık amino asitleri polipeptit zincirinin bir ucunda, asidik ve hidrofobik olanlar da diğer ucunda yer alırlar. Yüksek ökaryotlarda her histon tipinin amino asit dizilişi türler arasında farklılık gösterir. H3 ve H4 histonları birbirine en çok benzeyen proteinlerdir. H1 ise en değişken olan proteindir. Histon proteinlerinin amino asit dizilişi hayatı önem arz etmektedir. Bir tek amino asit dizilişi değişmesi bile öldürücü sonuçlar doğurmaktadır. Bazı canlılarda tüm bu histon

proteinlerine ilave olarak H5 proteini bulunmaktadır. Ayrıca bazı canlılarda (balıklarda) histonların yerine protaminler bulunur (Temizkan, 1999; Öner, 2002).

Aynı sınıfa ait histonlar, birbirinden oldukça uzak akraba türler arasında, örneğin bitki ve hayvanlar arasında, oldukça iyi korunmuşlardır. Herhangi bir tür içindeki farklı dokularda ifade olabilen veya gelişmenin farklı aşamalarında aynı sınıfa ait histonlarda birbirlerine çok yakın varyasyonlar olabilir. Farklı histon sınıflarına ait proteinlerin sekanslarında fazla benzerlik yoktur, fakat benzer bir tersiyer yapı göstermektedirler. Bu durum H1 de dahil olmak üzere bütün histonların evrimsel açıdan da önemli olduğunu belirtmektedir (Alberts, 1994; Temizkan, 1999).

Çizelge 2.4. Histon tiplerinin özellikleri (Öner, 2002).

Histon Tipi	Lizin-Arjinin içeriği	Moleküler Ağırlık (Da)
H1	Lizince zengin	23000
H2A	Belirli oranda lizince zengin	14000
H2B	Belirli oranda lizince zengin	13800
H3	Arjinince zengin	15300
H4	Arjinince zengin	11300

Non-histon proteinler: DNA molekülünde az miktarda negatif yüklü, bazik özellik göstermeyen non-histon proteinler de bulunmaktadır. Replikasyon ve transkripsiyonda görev alan enzimler de boyut ve işlevleri bakımından heterojen olan bu grupta yer almaktadır. Non-histon proteinler; türlere, bireylere ve hatta bireylerin doku ve hücre tipine göre büyük farklılıklar gösterebilmektedir. Negatif yüklü olan bu proteinler muhtemelen nükleozomların daha üst düzeyde meydana getirdikleri katlanmalarla ilgilidir. Bu proteinler çekirdek içerisinde bir takım enzimler ile birlikte bulunurlar (Temizkan, 1999; Öner, 2002).

HMG Proteinler: Küçük molekül ağırlıklı ve yüksek elektrik yüklü bazı proteinler ilginç özellikleri nedeniyle non-histon proteinlerden ayrı bir sınıf olarak kabul edilmişlerdir. Jel elektrofezinde çok hızlı hareket ettiklerinden High Mobility Group (hareket etme yeteneği yüksek) olarak adlandırılırlar. HMG1, 2, 14 ve 17 olarak adlandırılan ve bütün ökaryotlarda bulunan bu dört çeşidin yanı sıra bazı özel tipleri de (HMGT, HMGE, HMGHG vb.) bulunmaktadır. Kromatinin yaklaşık % 1-5'ini oluşturan HMG proteinlerin yapısında prolin, glutamin, aspartik asit ve lizin bolca bulunurken, sistein, histidin, metionin ve tirozin amino asitleri çok azdır veya hiç bulunmaz. DNA birleştirici bu proteinler nükleoflament olumunda etkilidir. Bu ise özel nüklear bölgelerde bulunan kromatinin son şeklini almasında önemlidir (Temizkan, 1999).

2.1.3.3. RNA

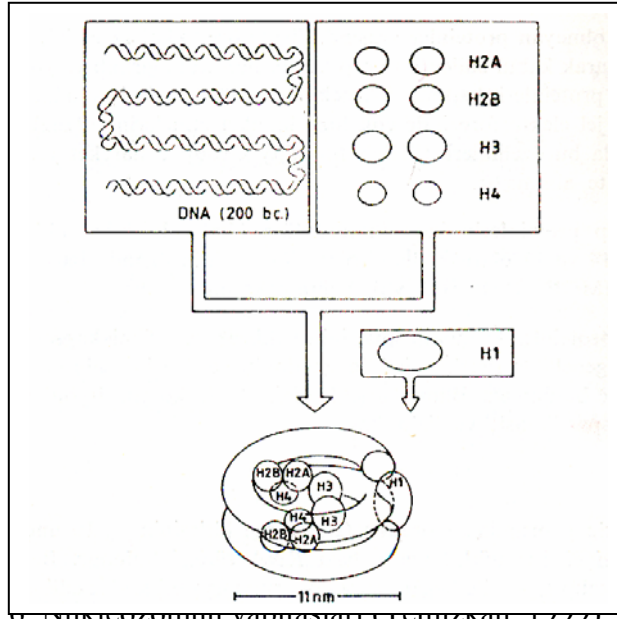
Bazı RNA türleri, total DNA kütlesinin % 10'undan daha az bir oranda kromatinin yapısında gözlenmektedir. Bu RNA'ların çoğu henüz kalıp DNA ile bağlantısını koparmamış yeni sentez edilen moleküllerdir (Temizkan, 1999).

2.1.4. Kromatinin Organizasyonu

Ökaryotik hücrelerde kromatin materyali DNA ve proteinlerden oluşmuş kompleks bir yapı halinde nükleusa ait özelleşmiş bölgelerde yerleşmiş olarak bulunurlar. Kromatinin temel yapısal birimlerine nükleozom adı verilir. Bu yapı DNA ve histon proteinlerinin birleşmesi ile meydana gelir (Temizkan, 1999).

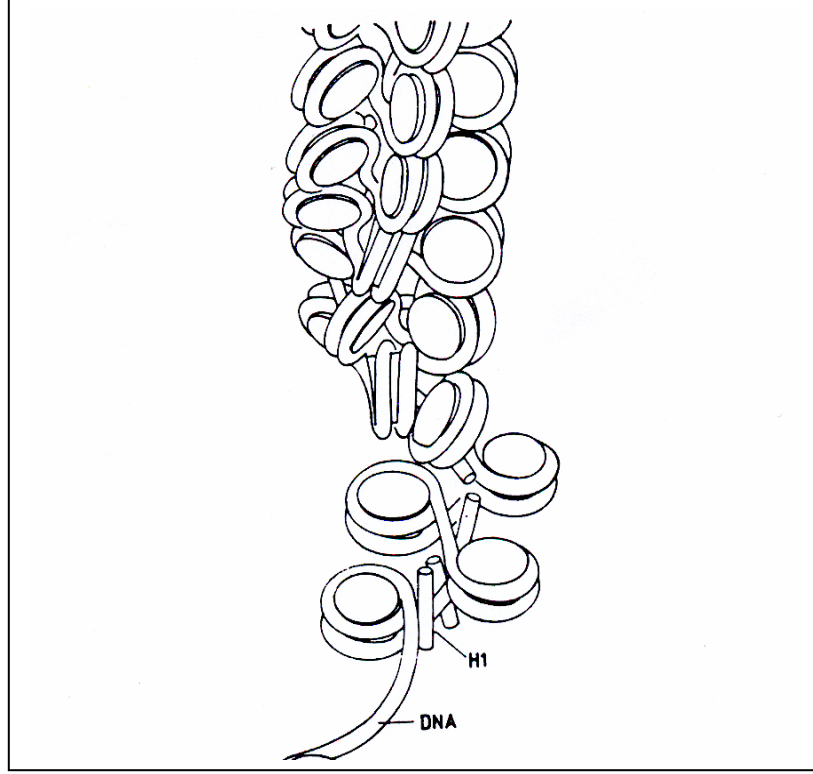
Nükleozomlar iki temel unsurdan meydana gelmiştir. Bunlardan birincisi; çekirdek partikülü ikincisi ise bağlayıcı bölgedir. Çekirdek partikülü H2A, H2B, H3, H4 proteinleri ile ilişkilidir ve 146 baz çiftinden meydana gelmiştir. Bağlayıcı bölge ise türlere göre değişen sayıda ve farklılıkta histon proteinlerinden oluşmuştur. Bu bakımdan nükleozom içerisinde bulunan total DNA'nın uzunluğu canlı türüne göre değişmekle beraber bu uzunluk 160 ile 241 baz çifti arası bir değerdedir (Alberts, 1994; Temizkan, 1999).

Nükleozomlar meydana gelirken öncelikle H2A, H2B, H3 ve H4 histonlarından ikişer tanesi bir araya gelerek histon oktomerini oluştururlar. Yaklaşık 160 bp uzunluğundaki bir DNA parçası da H1 proteini ile bu çekirdeği iki defa sararak nükleozomu meydana getirir. Nükleozomun dış yüzeyinde yer alan H1; nükleozomun kararlı kalmasını ve DNA'nın bulunduğu yere sabitleşmesini sağlar (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Temizkan, 1999) (Şekil 2.6).

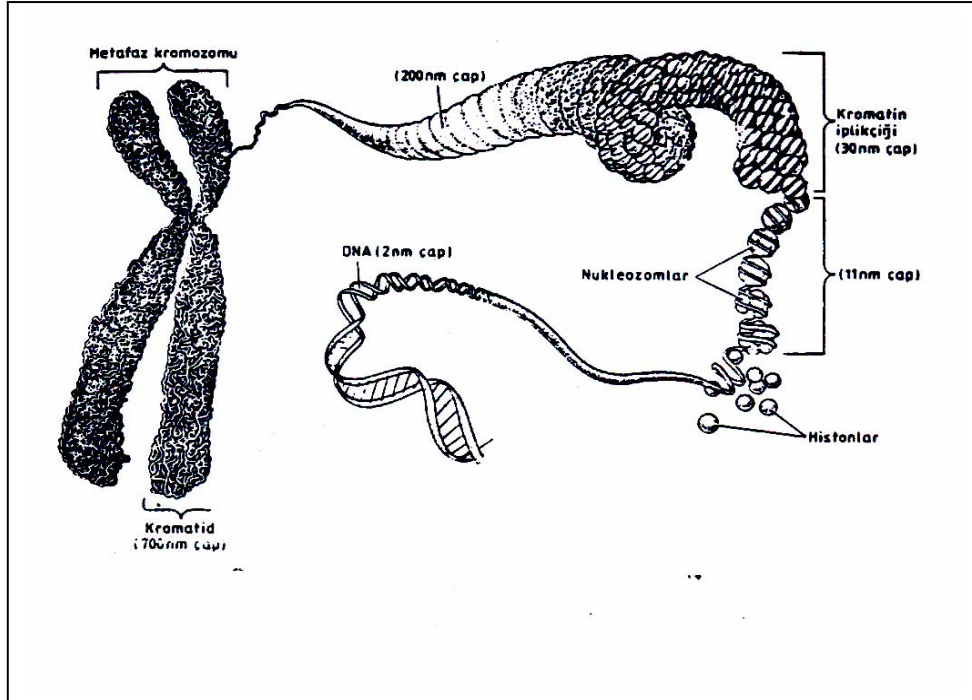


Şekil 2.6. Nükleozomun yapıtaşları (Temizkan, 1999).

Nükleozom meydana geldiği zaman DNA'nın boyu 10 kat kısalmış, kalınlığı ise 5 kat artmıştır. 6-120 nükleozomun bir araya gelmesiyle de yeni katlanmalar oluşur ve kromatinin boyu daha da kısalarak fibrilin çapı 20-30 nm'ye ulaşır (Şekil 2.7). Hücre bölünmesi sırasında, metafaza gelinceye kadar fibrillerin boylarının kısalıp kalınlaşması için fibrillerde sürekli olarak yeni kıvrımlar oluşur. Bu süper kıvrımlar sonucu boy sürekli kısalır. Sonuçta metafaz kromozomlarındaki DNA'nın boyu başlangıçtaki boyuna oranla 9000 kat daha kısalmıştır. Kalınlığı da başlangıçtaki kalınlığının 400-1,000 katı daha artmıştır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Temizkan, 1999) (Şekil 2.8)



Şekil 2.7. Kromatin organizasyonunun şematik görünümü (Temizkan, 1999).



Şekil 2.8. DNA'nın metafaz kromozomu oluşuncaya kadar geçirdiği organizasyon aşamaları (Temizkan, 1999).

2.1.5. Mutasyonlar

Kalıtsal materyalin miktarında, organizasyonunda veya içeriğinde meydana gelen değişikliklere mutasyon denir. Bir başka ifade ile mutasyon; kromozomlarda veya genlerde meydana gelen değişimler olarak da nitelendirilebilir (Temizkan, 1999; Solak, 2000).

Mutasyonlar genel olarak üç grupta toplanabilir:

- Gen mutasyonları,
- Kromozom mutasyonları
- Genom mutasyonları.

2.1.5.1. Gen Mutasyonları

DNA molekülünde gen düzeyinde ortaya çıkan değişikliklere gen mutasyonu denir. DNA’da gözlenen mutasyonlar genel olarak dört gruba ayrılır (Solak, 2000):

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

2.1.5.2. Kromozom Mutasyonları (Kromozom Yapı Değişiklikleri)

Kendiliğinden veya çevresel mutajenler nedeniyle meydana gelen kromozom mutasyonları; kromatid ve kromozom kırığı, fragment, disentrik kromozom, halka kromozomu, kardeş kromatidlerin birleşmesi, translokasyon, inversiyon, izokromozom, homolog kromozomlar arasında kromatidler arası değişim ve endoreduplikasyon şeklinde gözlenmektedir (Temizkan, 1994; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 1995; Solak, 2000).

- a) **Kromatid kırığı:** Bir kromozomun iki kromatidinden yalnızca birinde kırılma olur ve anafazda kromatidlerin kutuplara çekilmesi sonucu hücrelerden biri defisiyensli kromozom bulundurur.
- b) **Kromozom kırığı:** Bir kromozomun her iki kromatidinde aynı noktada kırılma olur. Bu durumda hücrelerin her ikisi de defisiyensli kromozom bulundurur.
- c) **Fragment:** Kopmuş olan kromozom parçalarıdır. Metafaz plağında kopmuş olduğu kromozomdan ayrı yerlerde bulunurlar.

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

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

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

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

h) İnversiyon: Bir kromozomun içinden kopan parçanın ters dönerek aynı yere yapışmasıdır. İnversiyon sonucunda kromozomdaki genlerin diziliş sırasında değişme meydana gelir.

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

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

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

2.1.5.3. Genom Mutasyonları (Kromozom Sayı Mutasyonları)

Genom mutasyonları; öploid ve anöploid olmak üzere iki gruba ayrılır:

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

Canlılar içerisinde bazı bireylerin somatik hücrelerinde sadece bir takım (n) kromozomun bulunması durumuna monoploid, böyle bireylere de monoploid denir. Monoploidler genellikle döllenmemiş yumurtanın gelişmesiyle oluşurlar. Bir takımdaki kromozomların sayısının hepsinin birden, ikiden fazla kata yükselmesi ise poliploid olarak adlandırılmaktadır. Eğer poliploid, bireyin somatik hücrelerinde oluşursa endopoliploid adını alır. Bu olay endomitoz sonucu oluşur. Endomitoz ise farklılaşmış ve bölünme yeteneği kaybolmuş hücrelerde bazen çekirdek zarı kaybolmadığı halde genetik materyalin

replike olmasıdır. Sonuçta $3n$, $4n$, $5n$ ve daha yüksek katsayılı kromozomlara sahip bireyler meydana gelir. Bu bireylere de triploid, tetraploid, pentaploid gibi isimler verilir (Temizkan, 1994; Solak, 2000).

b) Anöploidi: Bir takımdaki kromozomlardan bir veya birkaçının sayısının değişmesine denir. Bu değişimler hipoploidi ve hiperploidi olmak üzere iki grupta incelenir:

Hipoploidi; genomdaki kromozom sayısının azalması durumuna denir. Bu azalma monosomi ve nullisomi olmak üzere iki farklı şekilde gerçekleşir. Monosomi diploid bir bireyde sadece bir kromozomun eksik olması durumudur ($2n-1$). Monosomik bir birey non-disjunction nedeniyle bir kromozomu eksik olan bir gametin normal bir gametle birleşmesi sonucu meydana gelir. Nullisomi ise canlıda, bir kromozomun homoloğuyla beraber eksik olmasından dolayı bir kromozom çeşidinin hiç bulunmamasıdır ($2n-2$). Nullisomik bireyler tesadüfen aynı çeşit kromozomunu kaybetmiş iki gametin birleşmesi ile oluşur (Temizkan, 1994; Solak, 2000).

Hiperploidi veya polisomi; bir takımdaki kromozomlardan birinin veya bir kaçının artmasıdır. Trisomi ve tetrasomi olmak üzere iki alt gruba ayrılır. Trisomi diploid bir canlıda bir kromozomun fazla bulunmasıdır ($2n+1$). Eğer iki ayrı kromozom çeşidinden birer kromozom fazla bulunuyorsa buna çift trisomi denir ($2n+1+1$). Trisomik bireyler bir kromozom çeşidine ait iki homoloğu birden taşıyan bir anöploid gametle normal bir gametin birleşmesi sonucu meydana gelir. Tetrasomi ise bir canlıda, takımdaki kromozomlardan birinin 4 tane olmasıdır ($2n+2$). Tetrasomik bireyler, aynı iki trisomik gamet hücresinin birleşmesi sonucu oluşur (Temizkan, 1994; Solak, 2000).

2.1.6. Mutajen Etkenler

Mutasyonlar belli bir tür içinde meydana gelen ve o türün sınırları dışına çıkmayan değişimler olarak nitelendirilebilir. Çoğu zaman meydana gelebilecek mutasyon canlının ölümüne neden olabilmektedir (Gözükara, 1990).

Mutasyonlar çok düşük bir oranda da olsa (10^{-5} - 10^{-10}) kendiliğinden oluşabildiği gibi mutajen adı verilen çeşitli çevresel faktörler sonucu da oluşabilir. Bu çevresel etkenler ise fiziksel mutajenler ve kimyasal mutajenler olmak üzere iki grupta toplanır (Temizkan, 1994).

Fiziksel mutajenler (S fazına bağlı olmayan klastojenler); sıcaklık, manyetik ve elektriksel alan, UV, X, γ , proton ve nötron ışınlarıdır. Bunların etkileri genellikle bir baz çiftinin yerini başka bir baz çiftinin alması şeklinde görülür (Temizkan, 1994).

Kimyasal mutajenlerin (S fazına bağlı olan klastojenler) etkisi ise daimi değişiklikler şeklindedir. Bunların da; bazların kimyasal yapısını değiştiren kimyasal mutajenler (nitroz asidi- HNO_2 , hidroksilamin- NH_2OH , alkilleyici maddeler), çerçeve kaymasına yol açan kimyasal mutajenler (akridin boyaları) ve baz analogları olan kimyasal mutajenler olmak üzere üç çeşidi vardır (Temizkan, 1994).

2.2. Dumansız Tütün Kullanımının İnsan Sağlığına Etkileri ile İlgili Çalışmalar

Dumansız tütün kullanımının kanserojenik etkisi, ağız sağlığı, solunum sistemi, kardiyovasküler sistem üzerine etkisi, immünolojik, biyokimyasal ve hematolojik parametreler üzerine etkisi çok çeşitli çalışmalarla araştırılmıştır.

Wolfe ve Carlos (1987), sigara, alkol ve dumansız tütün kullanımının ağız ve diş sağlığı üzerine etkilerini, 14-20 yaşları arası toplam 226 bireyde araştırmışlardır. Alkol ve sigara kullanımının oral lezyonlar ve mukoza üzerinde beyaz plaklar oluşturmadığını gözlemlemişlerdir. Buna karşılık dumansız tütün kullanıcılarında ise lezyon oluşumu ve renksiz plak oluşumu gözlemişlerdir. Ayrıca dumansız tütün kullananlarda oral kanser olma riskinin çok fazla olduğunu bildirmişlerdir.

Benowitz (1988), çalışmalarında sigara ve dumansız tütün kullanımının kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini araştırmışlardır. Toplam 80 erkek birey ile yaptıkları çalışmada sigara ve dumansız tütün kullanımının kardiyovasküler sistem üzerine aynı oranda zararlı etkiye sahip olduğunu gözlemişlerdir. Ancak dumansız tütün kullanımı sırasında sodyum, nikotin gibi bazı maddelerin yanı sıra birtakım kanserojen maddelerin emilimi direkt olarak gerçekleştiğinden kanser oluşturma riskinin sigara kullananlara oranla dumansız tütün kullanıcılarında daha fazla olduğunu belirtmişlerdir.

Mattson ve Winn (1989), çiğnenen tütün ve diğer dumansız tütün kullanımlarının kanser etkeni olup olmadığını araştırmışlardır. Yaptıkları çalışmada dumansız tütün ve çiğnenen tütünün kanserojen maddeler taşıdıklarını ve uzun süre bu maddelerin kullanımının vücutta başlıca özofagus, larinks ve mide kanserlerine neden olabileceğini saptamışlardır.

Erenmemişoğlu ve ark. (1995), Maraş otunun dudak mukozasında oluşan lezyonlarda etkili olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışmaya 80 kişi dahil edilmiştir. 68 erkek, 12 kadından oluşan bu çalışmada ortalama yaş 52 olarak belirlenmiştir. Özellikle 15 yıl ve üzeri maraş otu kullanımının kanserojen tümörlerin oluşumunda etkili olduğu saptanmıştır.

Narang ve ark. (1995), 30 sigara kullanan ve 30 dumansız tütün kullanan toplam 60 erkek birey ile yaptıkları çalışmada; sigara ile dumansız tütün arasında bir fark olmadığını her ikisinin de aynı ölçüde zararlı etkilere sahip olduğunu ortaya koymuşlardır ve bu maddelerin özellikle karaciğer ve nörolojik rahatsızlıklara neden olduğunu belirtmişlerdir.

Pakhale ve ark. (1997), dumansız bir tütün formu olan bidi'nin insanda kalp-damar sistemine olan etkisini araştırmışlardır. Analizler sonucunda bidi içerisinde sigaradan daha fazla miktarda nikotin ve kanserojen maddelerin bulunduğunu belirtmiş, dumansız tütünün bu formunun kanser etkeni olmasının yanı sıra kardiyovasküler ve solunum sistemi hastalıklarına da neden olduğunu bildirmişlerdir.

Reginald ve ark. (1999), günlük dumansız tütün kullanan bireylerin plazma nikotin düzeyini araştırmışlardır. Çalışma sonucunda dumansız tütün kullananların plazma nikotin seviyeleri çok yüksek bulunurken, uzun süre dumansız tütün kullanımında ise; başta ağız kanseri olmak üzere kardiyovasküler hastalıklar ve dişeti hastalıklarının ortaya

çıkabileceğini bildirmişlerdir. Yapılan bu çalışma ile dumansız tütün formlarının sigara gibi halk sağlığını tehdit eden bir unsur olduğunu vurgulamışlardır.

Russell ve ark. (1999), çalışmalarında dumansız tütün bağımlısı 27 kişinin periferik kan nikotin düzeyini ölçmüşlerdir. Çalışmaya dahil edilen bireylerden dumansız tütün kullanımının 10 dakika öncesi ve 10 dakika sonrasında kan örnekleri alarak analiz etmişlerdir. Dumansız tütün kullanımından önce kandaki nikotin ve kotinin değerleri düşük bulunurken, kullanım sonrasında bu değerlerin artmış olduğunu gözlemişlerdir.

Bhisey ve ark. (1999), bidi endüstrisinde çalışan işçilerde dumansız tütün koklanmasından oluşabilecek etkileri araştırmışlardır. Kronik bronşitin genel anlamda tüm işçilerde yaygın olarak bulunduğunu gözlemişlerdir. Kontrol grubuna oranla işçilerin idrarlarındaki kotinin düzeyinin oldukça yüksek olduğunu saptamışlardır. Ayrıca bu işçilerin lenfositlerindeki S-transferaz aktivitelerinin de kontrol grubuna oranla daha düşük olduğunu bildirmişlerdir.

Çok ve ark. (2000), Türkiye'nin Güney Doğu Anadolu Bölgesinde çok yaygın olarak kullanılan Maraş otunun insan idrarındaki nikotin belirleyicisi olan kotinin düzeyi üzerine olan etkisini araştırmışlar. Toplam 56 birey üzerinde yapılan çalışma sonuçlarına göre Maraş otu kullananların idrarlarındaki kotinin düzeyinin, sigara kullananlara oranla 3 kat daha fazla olduğunu saptamışlardır.

Walsh ve Epstein (2000), dumansız tütün kullanımının kalp-damar ve nikotin bağımlılığı, hipertansiyon, diş eti kanamaları gibi birtakım sistemik rahatsızlıklara neden olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışmalarına 117 bireyi dahil etmişlerdir. Dumansız tütün kullanımı lökoplak, diş eti zayıflaması ve oral kanser vb. zararlı birtakım oral etkilerinin yanı sıra nikotin bağımlılığı, değişebilen hipertansiyon, kardiyovasküler rahatsızlıklar gibi sistemik rahatsızlıklara da neden olduğunu bildirmişlerdir.

Aral ve ark. (2002), yaptıkları çalışmada Maraş otu kullanımının hücrel immün sistem parametrelerine olan etkisini araştırmışlardır. Çalışma sonuçlarına göre Maraş otu kullanımının hücrel ümmün yanıtı olumsuz yönde etkileğini saptamışlar, Maraş otu kullanan kişilerin enfeksiyonlara karşı daha duyarlı olduğunu bildirmişlerdir.

Allen ve ark. (2002), dumansız tütün kullanıcılarında kardiyovasküler rahatsızlıkların görülme sıklığını araştırmışlardır. Deney grubu 18-65 yaş arası erkek bireylerden seçilmiştir. Analizler sonucunda dumansız tütün kullanan kişilerde kan basıncı, kalp atım hızı ve şekli ile lipoprotein düzeylerinin kontrol grubundan farklı olduğunu gözlemişlerdir. Dumansız tütün kullananlarda bu değerler artış veya azalış gösterirken kontrol grubuna alınan kişilerde sabit olduğu rapor edilmiştir.

Büyükbeşe ve ark. (2004), Maraş otu kullanımının solunum sistemi üzerine olan etkisini araştırmışlardır. Elde edilen verilere göre Maraş otu kullanımı ile sigara kullanımının aynı etkilere sahip olduğu, her ikisinin de akciğerlerde sistemik bozukluklara neden olabileceğini bildirmişlerdir.

Dorothy ve ark. (2004), sigara ve dumansız tütün formlarının vücutta sinir sistemi ve ağız mukozasına etkisini araştıran bir çalışma yapmışlardır. Çalışmalarında sigaranın

insan sağlığı açısından olumsuz etkilere sahip olduğunu vurgulamışlar, dumansız tütünün sigara ile aynı olumsuz etkilere sahip olduğunu belirtmişlerdir. Dumansız tütünün özellikle ağız ve çevresinde rahatsızlıklara neden olabileceğini bunun yanı sıra ağız kanseri, diş eti kanaması ve sistemik rahatsızlıklara yol açabileceğini vurgulamışlardır.

Güven ve ark. (2003), çalışmalarında Maraş otu kullananlar (Grup I), sigara içen bireyler (Grup II), ve kontrol grubu olarak da Maraş otu ve sigara kullanmayan sağlıklı bireylerde (Grup III) diyastolik parametrelerini ve serum lipid düzeylerini araştırmışlardır. Her üç grupta da ventriküler repolarizasyon parametreleri arasında bir fark bulunmadığını, I. ve II. gruplarda ventrikül erken doluş zamanı kontrol grubuna oranla daha düşük bulunmasına karşılık atrial doluş zamanı ve deselerasyon zamanının kontrol grubuna oranla daha yüksek bulunduğunu bildirmişlerdir. Çalışmalarında Maraş otu kullananların serum lipid düzeylerinin yüksek ve diyastolik fonksiyon parametrelerini kontrol grubuna göre bozulmuş olduğunu bulmuşlardır.

Köksal ve ark. (2004), Maraş otu kullanımının solunum yolları ve kardiyovasküler sistem üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışmaya 28 maraş otu kullanıcısı, 24 sigara içen, 18 hem Maraş otu hem de sigara kullanan birey dahil etmişlerdir. Maraş otunun kullanımı esnasında solunmadığı için solunum yolları üzerine bir etkisinin olmadığı ancak kardiyovasküler sistem üzerine sigara ile eşdeğer etkilere sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Kurtul ve ark. (2005), sigara içen ve Maraş otu kullanan kişilerin serum total sialik asit miktarlarını incelemişlerdir. Total sialik asit miktarları karşılaştırıldığında sigara içen ve Maraş otu kullanan gruplarda, total sialik asit miktarının kontrol grubuna oranla daha yüksek olduğunu bulmuşlar.

Rodu ve ark. (2004), dumansız tütün kullanımının ağızda lezyon oluşumuna ve kanser oluşumuna neden olup olmadığını araştırmışlardır. Çalışma sonucunda nemli enfiye ve çiğnenen tütünün oral mukozada kanser oluşumuna neden olduğunu, kuru enfiye kullanımının ise oral mukozada kanser olumunu daha fazla tetiklediğini saptamışlardır.

Kılınç ve ark. (2004), Maraş otunun insanda oksidatif stres üzerine etkisini incelemişlerdir. Maraş otunun oksidatif stresi arttırdığını saptamışlar ve bu durumun arterioskleroz da dahil olmak üzere bir çok sistemik hastalıklara neden olabileceğini belirtmişlerdir.

Kılınç ve arkadaşları (2004), Maraş otunun hematolojik parametrelere olan etkisini araştırmışlardır. Bu amaçla 92 maraş otu kullanan erkek birey, 45 sigara kullanan erkek ve 68 kişiden oluşan kontrol grubu çalışmaya dahil edilmiştir. Maraş otu kullananlarda demir ve lökosit düzeyleri yüksek bulunurken, monosit ve trombosit düzeyleri düşük bulunmuştur.

Boffetta ve ark. (2005), snus olarak adlandırılan dumansız tütün formunun ağız dışındaki diğer organlarda (mide, akciğer, böbrek, idrar kesesi, pankreas) kanserojenik etkisini araştırmışlardır. Snus kullanımının pankreas üzerine kanserojenik etkisi olabileceğini saptamışlar ve bu etkinin N-nitrozaminlerden kaynaklanabileceğini belirtmişlerdir.

2.3. Dumansız Tütün Kullanımının Genotoksik Etkisi ile İlgili Çalışmalar

Dumansız tütün formlarının insan sağlığına olumsuz etkilerinin araştırıldığı çalışmaların yanısıra olası genotoksik etkilerinin araştırıldığı çeşitli çalışmalar da yapılmıştır.

Stich ve ark. (1982), khaini olarak adlandırılan dumansız tütünün genotoksik etkisini iki farklı yöntem kullanarak araştırmışlardır. Khaini kullanımının ağız mukoza hücrelerinde MN oluşumunu arttırdığını gözlemişlerdir. Ayrıca bu dumansız tütün formunun Chinese hamster ovary hücrelerinde CA frekansını arttırdığını bildirmişlerdir.

Jansson ve ark. (1991), bir dumansız tütün formu olan snusun genotoksik etkisini farklı test sistemlerinde incelemişler ve bu ürünün insan periferik lenfositlerinde SCE oluşumunu indüklediğini, V79 hücrelerinde CA oluşumunu arttırdığını bildirmişlerdir.

Adharyu ve ark. (1991), mava olarak adlandırılan dumansız tütünün periferik lenfositlerde SCE ve CA'yı, ağız mukoza hücrelerinde MN oluşumunu indükleyici etkisini değerlendirmişlerdir. Mava kullananlarda tüm sitogenetik markırların önemli oranda yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Dave ve ark. (1991), pan masala kullanımının insan periferik lenfositlerinde SCE ve CA frekansını önemli oranda arttırdığını gözlemişlerdir. Ayrıca pan masalanın ağız mukoza hücrelerinde MN oluşumunu da indüklediğini saptamışlardır.

Das ve Dash (1992), dumansız tütün formu olan gudakhunun ağız mukoza hücrelerinde mikronukleus (MN) oluşumu üzerine etkisini araştırmışlardır. Total 120 gudakhu kullanıcısında yaptıkları incelemeler sonucunda gudakhunun MN oluşumunu arttırdığını ve bu artışın kullanım süresi ile doğru orantılı olduğunu belirtmişlerdir.

Trivedi ve ark. (1993), kuru enfiye veya tütün-kireç karışımının genotoksik etkisini araştırmışlardır. Dumansız tütün kullanımının lenfositlerde SCE ve CA düzeyini arttırdığını, ayrıca ağız mukoza hücrelerinde MN frekansını indüklediğini gözlemişlerdir.

Kayal ve ark. (1993), çeşitli dumansız tütün formlarının (mava, tamol, masher, areca-nut, kuru enfiye, tütün-kireç karışımı) ağız mukoza hücrelerinde MN frekansı üzerine etkilerini araştırmışlardır. Çalışılan tüm grupların kullandıkları tütün formundan bağımsız olarak çok yüksek düzeyde MN frekansına sahip olduklarını gözlemişlerdir.

Özkul ve ark. (1995), Maraş otu kullanımının sitogenetik etkilerini araştırmışlardır. Birinci grup 50 kişi Maraş otu kullanan, ikinci grup 10 kişi sigara içen ve üçüncü grup 10 kişi her ikisini de kullanmayan kontrol grubu olmak üzere çalışmalarını üç ayrı grup ile yapmışlardır. Kontrol grubuna göre Maraş otu kullananlarda SCE miktarında artış gözlenirken, total SCE miktarının en fazla sigara içenlerde artmış olduğunu bildirmişlerdir.

Özkul ve ark. (1997), çalışmalarında Maraş otu kullanımının ağız mukoza hücrelerinde MN düzeyine etkisini araştırmışlardır. Çalışmaya 25 Maraş otu kullanan, 14 sigara içen ve 15 kişi de kontrol grubu olmak üzere toplam 54 kişi dahil edilmiştir. Çalışma sonuçlarına göre en fazla MN değeri Maraş otu kullananlarda gözlenmiştir. Aynı

şekilde sigara içenlerde de MN değeri kontrol grubuna oranla daha fazla bulunmuştur. Maraş otu'nun sigaradan daha fazla oranda MN oluşumunu indükleyici etkisi olduğunu belirtmişlerdir.

Mahimkar ve ark. (2001), iki farklı dumansız tütün kullanımının genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Bu amaçla yaptıkları çalışmaya 114 kişiyi dahil etmişlerdir. Masherî (toz halindeki dumansız tütün) kullanan 25 kişi ile çiğnenen tütün kullanan 32 kişi çalışma kapsamına alınmıştır. 57 kişi ise kontrol grubuna dahil edilmiştir. Analizler sonucunda Masherî kullanan bireyler ile kontrol grubunun SCE düzeyleri hemen hemen aynı bulunmuştur. Ancak masherî ve çiğnenen tütün kullanan bireylerin CA düzeylerinde önemli oranda artışların meydana geldiği saptanmıştır.

Burgaz ve ark. (2000), Maraş otu kullanan bireylerde saptanan MN düzeyini kontrol grubu ile karşılaştırmışlar ve Maraş otu kullananlarda MN değerinin kullanmayanlara oranla daha fazla olduğunu ortaya koymuşlardır.

Maraş otunun genotoksik etkisi ile ilgili olarak daha önce yapılan çalışmalarda bu dumansız tütün formunun periferik lenfositlerde SCE üzerine etkisi, ağız mukoza hücrelerinde ise MN oluşumuna etkisi incelenmiştir. Bu çalışmada ise; maraş otu kullanımının insan periferik kan lenfositlerinde anormal hücre frekansı ve kromozomal anormallikler üzerine etkisi araştırılmıştır.

3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

3.1.1. Çalışmada Kullanılan Deney Ekipmanları

Hassas Terazi: Hava akımlarına karşı özel cam paravanlarla korunan PRESİCA marka (XB 220A) hassas terazi kullanılmıştır. Terazi 0.01-220 gr arasında ölçüm yapabilme özelliğine sahiptir.

Santrifüj: Rotor çapı 18 cm, 6000 devir/dakika hıza ulaşabilen masa tipi santrifüj kullanılmıştır. Zaman ayarlayıcı özelliğe sahip 8 tüp kapasiteli olup dijital göstergelidir.

İnkübatör: Sıcaklık toleransı 100 °C'ye kadar ayarlanabilen HERAEUS marka (B 5061) inkübatör kullanılmıştır. Gerek ekimi yapılmış besiyerlerinin ve gerekse bazı çözeltilerin 37 °C 'de sabit tutulması aşamasında kullanılmıştır.

Mikroskop: Olympus marka CX21 modeline sahip binoküler ışık mikroskobu kullanılmıştır. Koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan x4, x10, x40, x100 büyütme gücüne sahip binoküler ışık mikroskobu preparatların incelenmesi aşamasında kullanılmıştır.

Buzdolabı: İç sıcaklığı +4-8 °C arasında olan derin donduruculu (BOSCH) buzdolabı kullanılmıştır.

Mikropipet: GILSON marka 20-200 µl arası ayarlanabilen mikropipet ve buna uygun sarı renkli steril pipet uçları kullanılmıştır.

pH metre: Hazırlanacak solüsyonların pH'sını ölçmek ve ayarlamak amacıyla kullanılmıştır. Hassas ölçümler yapabilen SCHOTT marka laboratuvar tipi pH metre kullanılmıştır.

Vortex: Hızı manual olarak da ayarlanabilen HEIDOLPH marka masa tipi vortex kullanılmıştır. Vortex gerekli solüsyonların karıştırılması esnasında kullanılmıştır.

Besiyeri tüpleri: Hücre kültürleri polietilen steril kültür tüpleri kullanılarak yapılmıştır. Tüpler, kırmızı vida kapaklı olup alt kısımları konikdir.

Cam malzemeler: 25x60 mm'lik lam ve buna uygun ebatlarda lameller, 1 lt'lik erlen, 500 ml'lik erlen, 250 ml'lik erlen, 250 ml'lik beher, cam şale ve cam huni kullanılmıştır.

Flowkabin: LABORMED marka, sürgülü cam kapaklı, U.V. lambalı ve hava filtresi olan steril kabin kullanılmıştır.

Enjektör: Çalışmada 2 ve 5 cc'lik plastik steril enjektörler kan alma işleminde kullanılmıştır.

3.1.2. Çalışmada Kullanılan Kimyasal Maddeler

<u>Kimyasal madde</u>	<u>Firma</u>	<u>Katalog no</u>
Asetik Asit	Merck	56
5'- Bromo- 2'- deoxyuridine	Sigma	B 5002
KH ₂ PO ₄	Sigma	P 5379
Na ₂ HPO ₄	Sigma	S 7907
Entellan	Merck	7961
Giemsa	Merck	9204
Heparin	Sigma	210-6
KCl	Sigma	P 4504
İmmersiyon yağı	Olympus	99
Kolşisin	Sigma	C-3915
Metanol	Sigma	M 1775
HNO ₃	Merck	443
Kromozom Mediumu	Biochrom	F 5023

Kromozom mediumun içeriği her 1 lt'sinde aşağıdaki gibidir:

MEM JOKLİK with	
Non essential Amino acids.....	80 ml.
Fetal calf serum.....	50 ml.
Heparin	25000 E
Penicilin G, Sodiamsalt.....	75000 E
Streptomycinsulphate.....	50 mg.
Phytohemagglutinin M.....	2.5 mg.

3.1.3. Çalışmada Kullanılan Solusyonların Hazırlanması

Kolşisin (5×10^{-7} M): 1 lt'lik bir erlende;

2.025 mg	kolşisin
500 ml	distile su ile karıştırıldı. Hazırlanan solüsyon buzdolabında saklandı.

Hipotonik Çözelti (% 0.4): 1 lt'lik erlende;

4 gr	KCl,
1000 ml	distile su ile karıştırılarak hazırlandı. Solüsyon koyu renkli cam şişe içerisine konuldu ve buzdolabında saklandı.

Fiksatif: 500 ml'lik bir erlende;

300 ml	metanol,
100 ml	glasiyal asetik asit ile karıştırılarak 3:1 oranında fiksatif solusyonu hazırlandı. Çalışmaya başlamadan önce hazırlanan fiksatif kullanılabilecek kadar buzdolabında saklandı.

KH₂PO₄ Tamponu (pH 4.8) (Tampon A): 500 ml'lik bir erlende;

11.34 gr	KH ₂ PO ₄
250 ml	distile su ile karıştırılarak hazırlandı.

Na₂HPO₄ tamponu (pH: 9.3) (Tampon B) 500 ml'lik bir erlende;

14.83 gr	Na ₂ HPO ₄
250 ml	distile su ile eritilerek hazırlandı.

Sorensen Tamponu (pH: 6.8): 500 ml'lik bir erlende;

250 ml	Tampon A ile
250 ml	Tampon B nin karıştırılmasıyla hazırlandı. Solusyon buzdolabında saklandı.

Giemsa (% 5): 250 ml'lik bir erlene;

5 ml	Tampon A,
5 ml	Tampon B,
5 ml	Giemsa,
85 ml	distile su konularak karıştırıldı. Boya her seferinde taze hazırlanmış ve kullanılmadan hemen önce filtre kağıdı ile süzölmüştür.

5'-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdUrd): 250 ml'lik bir erlen içerisinde

25 mg	BrdUrd,
50 ml	distile su ile karıştırılarak hazırlanmıştır.

Nitrik Asit Solusyonu (1 N): 250 ml’lik bir erlende;

7 ml	HNO ₃
93 ml	distile su ile karıştırılarak hazırlanmıştır.

3.2. Yöntem

3.2.1. Bireylerin Seçimi

Araştırma grubu, Kahramanmaraş yöresinde ikamet eden 60 erkek bireyden oluşmaktadır. Maraş otu kullanan toplam 40 birey deney grubuna dahil edilirken, 20 birey ise kontrol grubu olarak belirlenmiştir. Bireylerin Maraş otu kullanım süreleri 3 ile 22 yıl arasında olup ortalama kullanım süresi $12,25 \pm 0,93$ yıl olarak belirlenmiştir. Deney grubu için ortalama yaş $33,97 \pm 1,48$ yıl (20-50 arası) olarak, kontrol grubu için ise; $32,05 \pm 1,54$ yıl (22-50 arası) olarak saptanmıştır.

Bireylerin seçiminde standart anket formları kullanılmıştır. Anket formları aracılığıyla; bireylerin yaşam tarzı ve sağlık durumlarıyla ilgili bilgiler elde edilmiştir. Anket formları değerlendirilerek araştırma grubunda yer alacak bireyler seçilmiştir. 50 yaşın üzerinde olanlar, kronik veya genetik hastalığı olanlar, son üç ay içerisinde röntgen filmi çektirenler, Maraş otu dışında mesleki veya çevresel diğer ajanlara maruz kalmış olan kişiler deney grubuna dahil edilmemiştir. Kontrol grubu ise; deney grubu ile benzer yaş ve özellikte olan sigara, alkol, Maraş otu veya bilinen herhangi bir zararlı alışkanlığı olmayan bireylerden oluşturulmuştur.

3.2.2. Kan Örneklerinin Alınması

Her bireyden steril plastik enjektörler aracılığıyla 2 ml intravenöz kan örneği alınmıştır. Alınan kan örnekleri 1/10 (0.2 ml) oranında heparinize edilmiştir. Etiketlenen enjektörler kuru buz kalıpları bulunan çantaya yerleştirilmiş ve Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Biyoloji Bölümü Genetik Laboratuvarına götürülmüştür.

3.2.3. Lamların Temizlenmesi

Preparatların hazırlanmasından 1 gün önce, lamlar şaleye dizilerek üzerlerini iyice ortecek şekilde 1 N HNO₃ konulmuştur. Cam şalenin ağzı kapatılarak 2-3 saat bekletilmiştir. Süre bitiminde lamlar hızlı akan çeşme suyuna bir süre tutulmuş, 3-4 kez distile sudan geçirildikten sonra lamlar tekrar şaleye yerleştirilmiştir. Şaleye distile su konularak buzdolabında saklanmıştır. Lamlar, preparatlar hazırlanırken buzdolabından çıkarılarak soğuk halde iken kullanılmıştır.

3.2.4. Preparatların Hazırlanması

Alınan kan örneklerinden KA analizi için preparatlar aşağıdaki şekilde hazırlanmıştır.

1. Biyoloji Bölümü Genetik Laboratuvarına getirilen kan örnekleri hafifçe sallanarak homojenize edildi.
2. Flow kabinde, içerisine daha önceden 2,5 ml koromozom mediumu konulmuş olan kültür tüplerine altışar damla kan ekimi yapıldı.
3. Her tüpe 50 µl BrdUrd eklendi. Bu işlemler sırasında tüplerin ağzı her defasında bunsenbeki alevi ile sterilize edildi.
4. Tüpler 70 saat 37 °C’de inkübe edildi.
5. İnkübasyonun sonunda tüplere 35 µl kolsişin eklendi.
6. Tüpler 2 saat 37 °C’de inkübe edildi.
7. İnkübatörden çıkarılan tüpler 1200 rpm’de 5 dakika santrifüj edildi.
8. Santrifügasyon sonrası tüplerdeki süpernatant kısım atıldı.
9. Tüplerin dip kısmında kalan ve hücrelerin bulunduğu 0,5-0,7 ml’lik sıvı, pipetajla homojenize edildi.
10. Benmaride 37 °C’de tutulan % 0,4’lük KCl’den her tüpe 5’şer ml, damla damla verilerek hücreler karıştırıldı.
11. Tüpler 37 °C’de 13 dakika inkübasyona bırakıldı.
12. İnkübasyon sonrası tüpler 1200 rpm de 15 dakika santrifüj edildi.
13. Tüplerin dip kısmında 0,5-0,7 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant kısım atıldı.
14. Tüplere 5-6 ml kadar soğuk fiksatif yavaş yavaş ilave edilerek pipetaj yapıldı.
15. Tüpler oda sıcaklığında 20 dakika bekletildi.
16. Hipotonik solüsyonun ilavesinden sonra başlayan işlemler (13, 14 ve 15. basamaklar) 2 kez daha tekrarlandı.
17. Fiksatifle son muameleden sonra tüpler 1200 rpm de 15 dk santrifüj edildi.
18. Süpernatant kısım atılarak dipte kalan 0.5-0.7 ml’lik sıvı içindeki hücreler homojen olarak dağıtıldı.
19. Bu sıvıdan pipetle bir miktar sıvı çekildi ve 25 cm yüksekliğinden lamalar üzerine 3-4 damla damlatıldı.
20. Etiketlenen preparatlar üzerleri kapatılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakıldı.

3.2.5.Preparatların Boyanması

Cam şale içerisine dizilen preparatlar % 5’lik Giemsa ile 30 dakika boyanmıştır. Preparatlar 3 kez saf sudan geçirildikten sonra oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar üzerine bir miktar entellan ilave edilmiş ve üzeri lamel ile kapatılarak preparatlar daimileştirilmiştir.

3.2.6. Mikroskopik İncelemeler

Işık mikroskopunun immersiyon objektifinde (x100) her birey için 100 adet iyi dağılım gösteren metafaz sayılmıştır. Görülen kromozom anormallikleri koordinatlarıyla kaydedilmiştir. Kromatid kırığı (B'), kromozom kırığı (B''), kardeş kromatid birleşmesi (SU), disentrik kromozom (Dic), poliploidi (P), kromatid değişmesi (CE) gibi kromozomal anormallikleri değerlendirilmiştir.

3.2.7. İstatistiksel Hesaplamalar

Deney grubu ve kontrol grubundan elde edilen veriler Mann-Whitney U testi ile karşılaştırılmıştır. Spearman's rho korelasyon testi ile sitogenetik markır ve bağımsız değişkenler arasındaki ilişki incelenmiştir. İstatistiksel analizler SPSS (10.0) paket programı ile yapılmıştır.

4. BULGULAR ve TARTIŞMA

Maraş otu kullanan bireylerde ve kontrol grubunda yer alan bireylerde saptanan KA ve AH değerlerine ait veriler Çizelge 4.1.'de görülmektedir. Maraş otu kullanan bireylerde ortalama KA değeri 9,05 olarak belirlenirken, kontrol grubunu oluşturan bireylerde bu değer 3,60 olarak gözlenmiştir. Aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$). Benzer şekilde Maraş otu kullananlarda saptanan AH frekansı (8,15) kontrol grubuna (3,55) göre önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.01$).

Çizelge 4.1. Maraş otu kullananlarda ve kontrol grubunda AH ve KA frekansları.

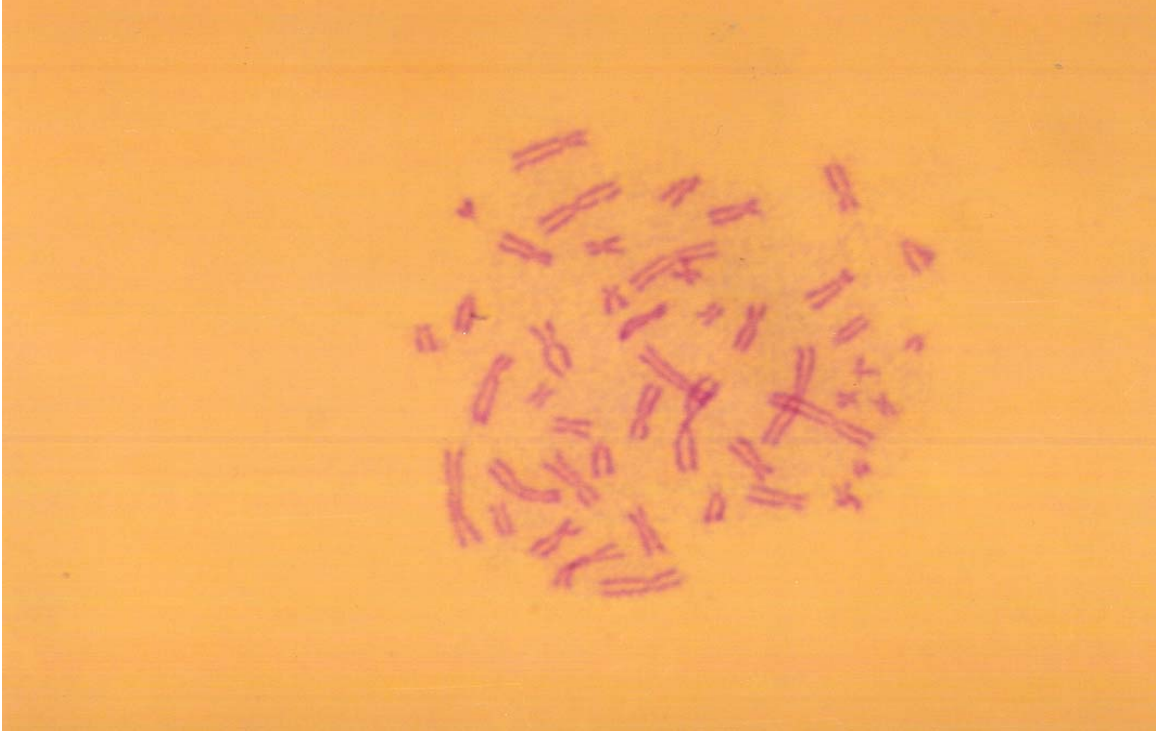
Grup	N	Yaş±SE	Kromozomal Anormallikler ^a							KA±SE %	AH±SE %
			B'	B''	SU	Dic	P	CE			
Maraş otu kullananlar	40	33,97±1,48	157	83	55	32	19	16	9,50±0,33 ^b	8,15±0,31 ^b	
Kontrol	20	32,05±1,54	42	19	6	3	2	-	3,60±0,28	3,55±0,27	

^a B':kromatid kırığı; B'': kromozom kırığı; SU: kardeş kromatid birleşmesi; Dic: disentrik kromozom; P: poliploidi; CE: kromatid değişmesi,

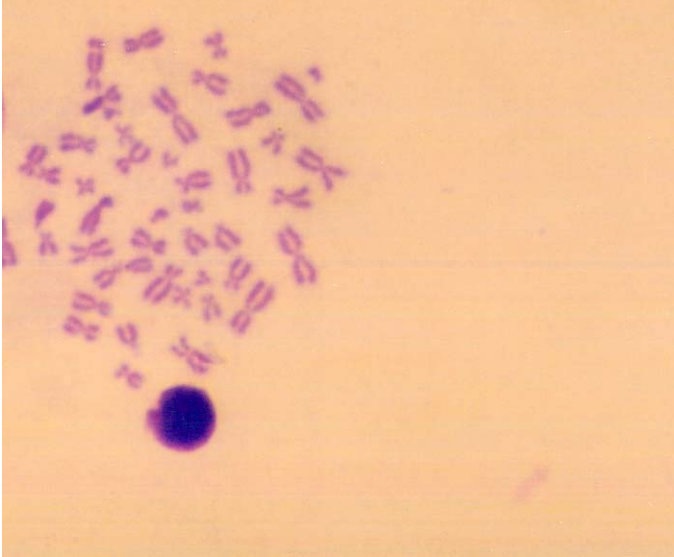
^b $P<0.01$

Maraş otu kullananlarda görülen kromozom aberasyonları; % 43,38 kromatid kırığı (Şekil 4.1), % 22,93 kromozom kırığı (Şekil 4.2), % 15,20 kardeş kromatid birleşmesi (Şekil 4.3), % 8,84 disentrik kromozom (Şekil 4.4), % 5,23 poliploidi (Şekil 4.5) ve % 4,42 kromatid değişmesi (Şekil 4.6) şeklinde dağılım göstermektedir.

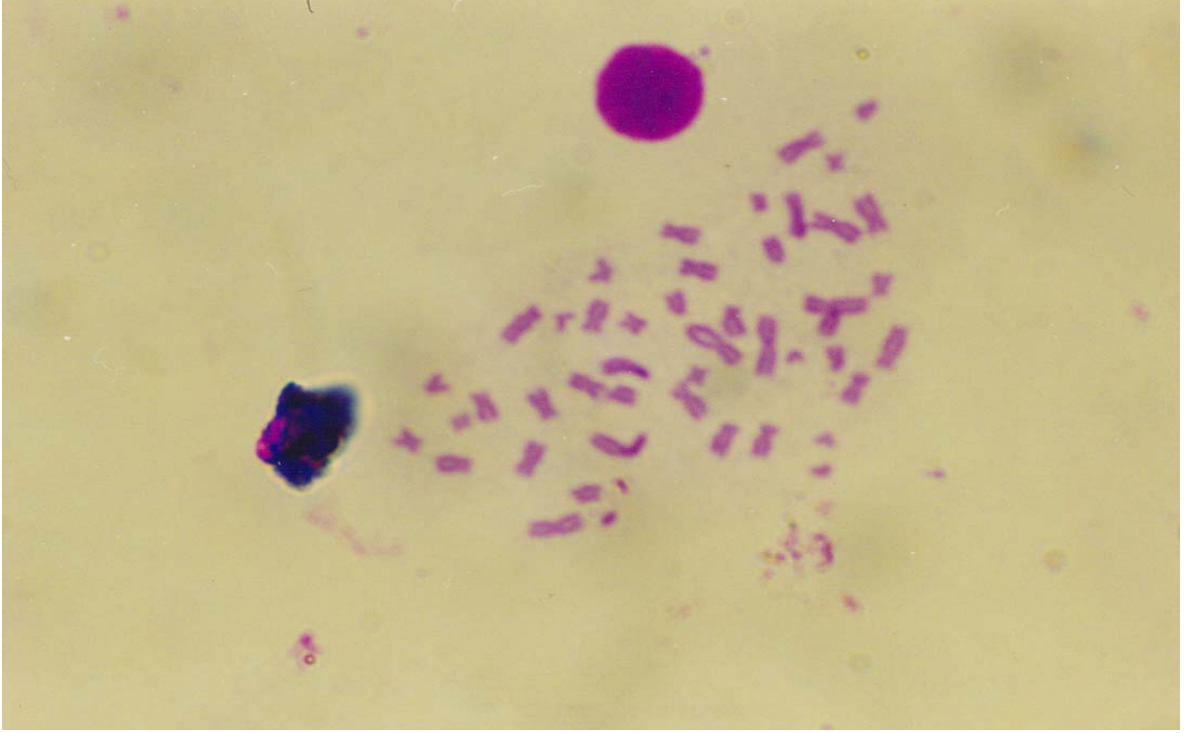
Kontrol grubunda ise kromozom anormalliklerinin dağılımı % 58,33 kromatid kırığı, % 26,39 kromozom kırığı, % 8,33 kardeş kromatid birleşmesi, % 4,17 disentrik kromozom, % 2,78 poliploidi şeklinde gözlenmiştir. Her iki grupta da en sık görülen aberasyon tipi kromatid kırığıdır.



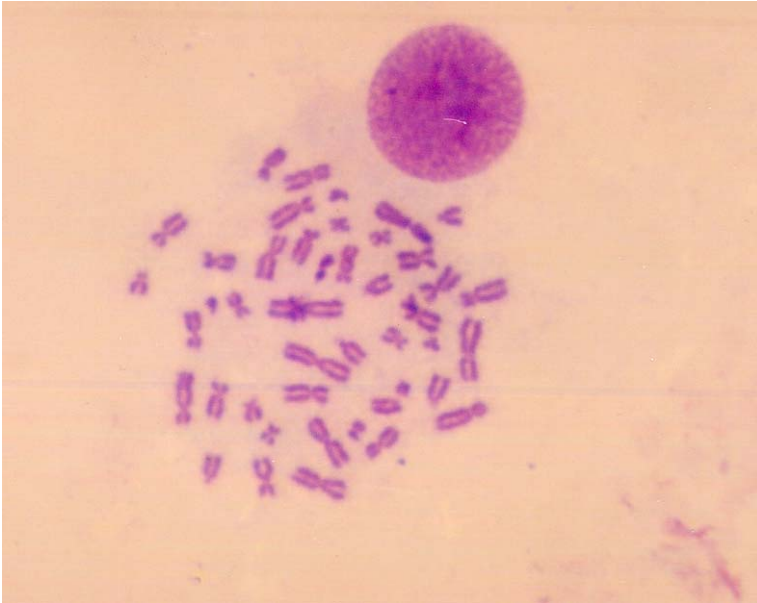
şekil 4.1. 2005/15 protokol nolu, 26 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferel lenfositlerindeki bir metafaz kromozomunda kromatid kırığı (x1000).



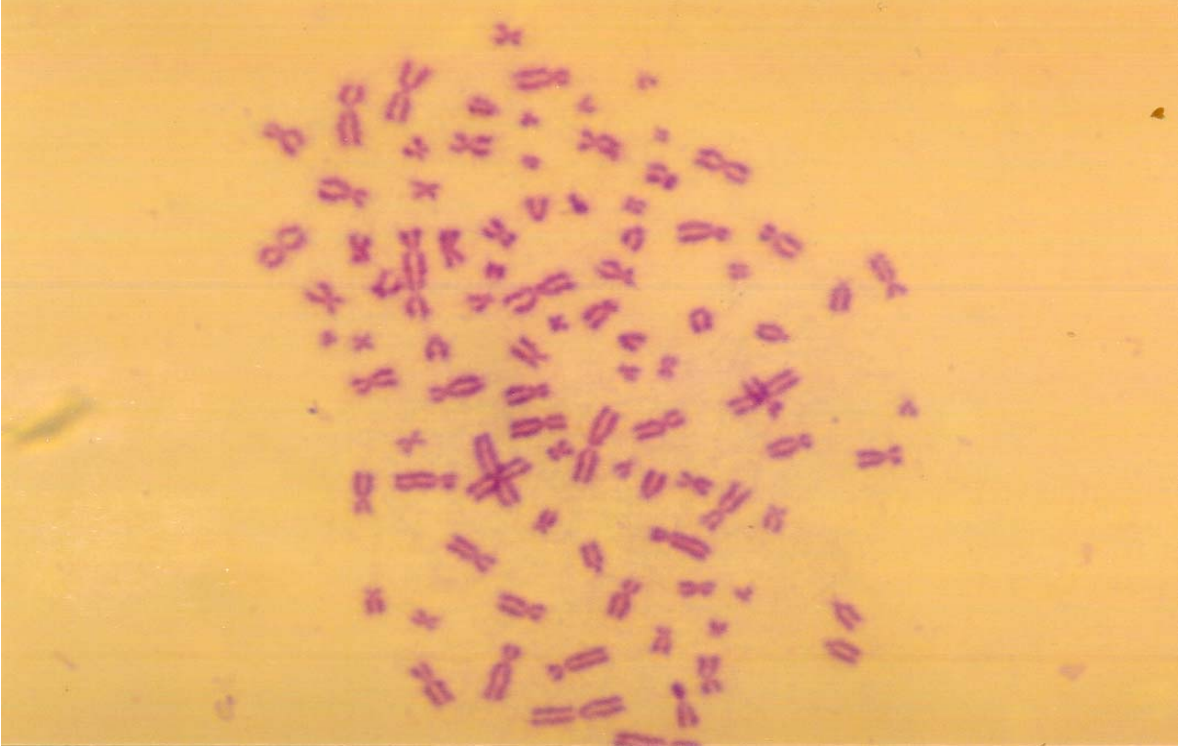
şekil 4.2. 2005/27 protokol nolu, 28 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferel lenfositlerindeki bir metafazda kromozom kırığı (x1000).



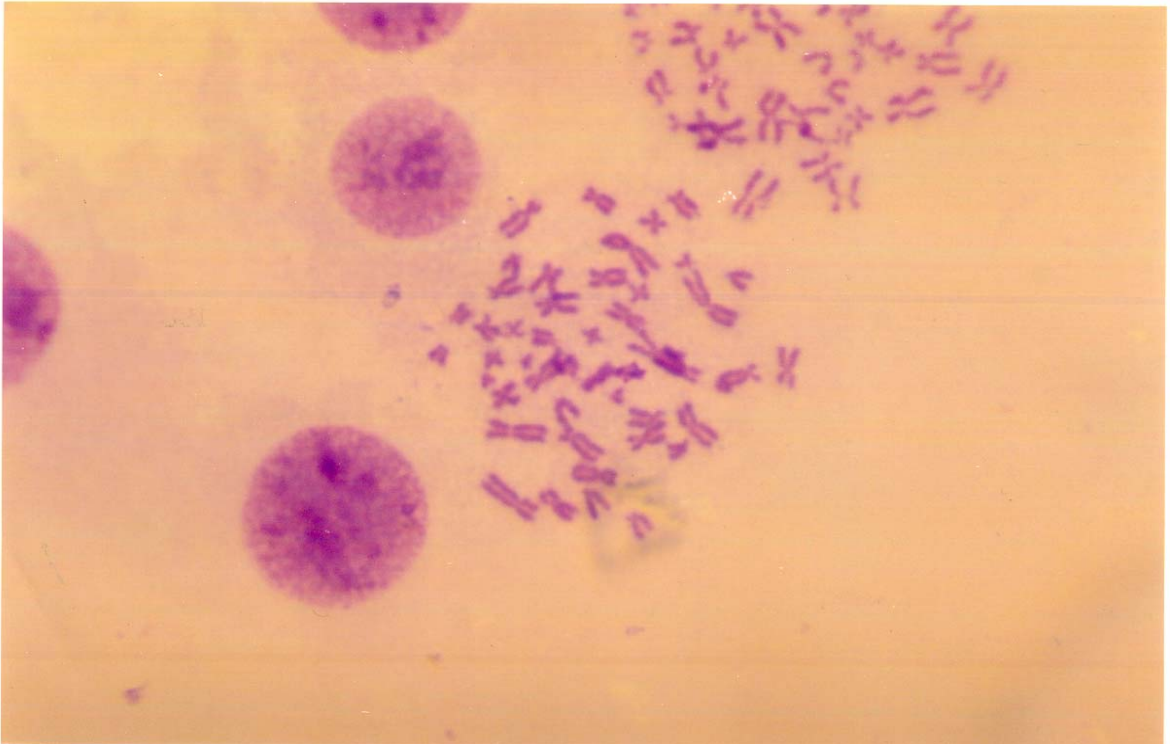
Şekil 4.3. 2005/31 protokol nolu, 32 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferel lenfositlerindeki bir metafazda kardeş kromatid birleşmesi (x1000).



Şekil 4.4. 2005/32 protokol nolu, 30 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferel lenfositlerindeki bir metafaz kromozomunda disentrik kromozom yapısı (x1000).



şekil 4.5. 2005/13 protokol nolu, 30 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferel lenfositlerinde poliploidi (x1000).



şekil 4.6. 2005/27 protokol nolu, 28 yaşında, Maraş otu kullanan bireyin periferel lenfositlerindeki bir metafaz kromozomunda kromatid değişmesi (x1000).

AH ve KA değerleri ile bireylerin Maraş otu kullanım süreleri ve yaşları arasındaki korelasyon analizlerine ait sonuçlar Çizelge 4.2’de görülmektedir. Elde edilen veriler; anormal hücre frekansı ve KA değerleri ile Maraş otu kullanım süresi arasında pozitif korelasyon olduğunu göstermiştir ($P<0.01$). Aynı şekilde anormal hücre frekansı ve KA değerlerinin Maraş otu kullanan bireylerin yaşı ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır ($P<0.01$). Anormal hücre yüzdesi ve KA değerleri kontrol grubunda da bireylerin yaşı ile pozitif korelasyon göstermiştir. ($P<0.01$)

Çizelge 4.2. Sitogenetik markırların Spearman’s rho korelasyon analizleri.

Sitogenetik Markır	Maraş otu kullananlar		Kontrol grubu	
	r	P	r	P
AH				
Anormal hücre-Kullanım süresi	0,518	<0,01		
Anormal hücre-Yaş	0,509	<0,01	0,572	<0,01
KA				
KA/hücre-Kullanım süresi	0,674	<0,01		
KA/hücre -Yaş	0,613	<0,01	0,618	<0,01

Yirminci yüzyıldan itibaren hemen hemen tüm Dünya ülkelerinde dumansız tütün kullanıcılarının sayısının hızla artmakta olduğu saptanmıştır. Özellikle Afrika, Asya, ve Orta Amerika ülkeleri ile Avrupa’nın bazı ülkelerinde gevşetici-rahatlatıcı bir unsur olarak kullanılmaktadır. Dumansız tütünün bağımlılık yapıcı etkisinin içerdiği nikotin, nitrosamin gibi sayısız kimyasal maddelerden kaynaklandığı bildirilmektedir (Nair ve ark., 1989; Kannan ve ark., 1991; Grupta ve ark., 2003; Rani ve ark., 2003).

Genel olarak değerlendirildiğinde dumansız tütünün çeşitli amaçlarla kullanıldığı gözlenmektedir. Kimi insanlar dumansız tütünü zevk ve eğlence verici bir unsur olarak hayat içerisinde belli zamanlarda kullanırken kimi insanlar ise bir yaşam tarzı olarak benimsemekte ve günün her saatinde kullanmaktadırlar. Kullanım formatındaki bu değişim dumansız tütün tipine bağlı olmakla beraber, kullanıldığı bölgeye göre değişiklik gösterebilmektedir. Kullanıcı gruplar arasında erkeklerin kadınlara oranla daha fazla olduğunu söylemek mümkündür. Ancak kadınların dumansız tütün kullanım oranları da azımsanmayacak bir orandadır. Ayrıca bazı bölgelerde hamile kadınların, gençlerin hatta çocukların dumansız tütün kullanmaları normal karşılanmaktadır (Rodu, 1994; Lando ve ark., 1999; Patel ve Greynadus, 1999; Coogan ve ark., 2000).

Nemli, ıslak veya kurutulmuş toz halinde hazırlanıp kullanıma sunulan dumansız tütün formları farklı şekillerde kullanılabilir. Buruna çekilerek ya da oral yolla kullanım bunlardan birkaçıdır ki bunlar arasında en çok tercih edileni oral yolla kullanımdır.

Genel anlamda dumansız tütün, ülkeler bazında değerlendirildiğinde farklı isimlerle ve farklı içeriklerle karşımıza çıkmaktadır. Aynı şekilde kullanıldığı mevcut bir alan bazında düşünülecek olursa bir ülke içerisinde 4-5 çeşit dumansız tütün formunun bulunduğu durumlar da vardır (Nair ve ark., 1989; Niphadkar ve ark., 1996).

Dumansız tütün kullanımının birçok zararlı etkisi artık tüm dünyaca bilinmektedir. Bu kişilerin oral kanser olma riskinin normal popülasyona göre daha yüksek olduğu bildirilmiştir. Özellikle ağız mukozasında lezyon oluşumunda, diş ve diş eti hastalıklarında başlıca etken olduğu saptanmıştır. Dumansız tütün kullanımının bir takım sistemik rahatsızlıklara neden olduğu saptanmıştır. Özellikle solunum sistemi, kalp ve damar sistemi ile boşaltım sistemi üzerine olumsuz etkide bulunduğu tespit edilmiştir. Yapılan çalışmalarda dumansız tütün kullanımına bağlı olarak bu metallerin fetus üzerinde toksik etkilere neden olabileceği gösterilmiştir (Gross ve ark., 1995; Grupta ve Ray, 2003; Asplung, 2003; Güven ve ark., 2004). Ayrıca dumansız tütün formlarının genotoksik etkiye sahip olduğu çeşitli çalışmalarla gösterilmiştir. (Nair ve ark., 1991; Govekar ve Bhisey, 1993; Niphadkar ve ark., 1994).

Adhvaryu ve ark. (1991), Hindistan’da yaygın olarak kullanılan bir dumansız tütün formu olan mavanın periferik lenfositlerde SCE ve CA’yı ağız mukoza hücrelerinde MN oluşumunu indükleyici etkisini değerlendirmişlerdir. Mava kullananlarda SCE, CA ve MN düzeylerinin önemli oranda yüksek olduğunu bildirmişlerdir.

Dave ve ark. (1991), pan masala olarak adlandırılan dumansız tütün kullanımının kullanımının insan periferik lenfositlerinde SCE ve CA frekansını önemli oranda arttırdığını gözlemişlerdir. Ayrıca pan masalanın ağız mukoza hücrelerinde MN oluşumunu da indüklediğini saptamışlardır.

Trivedi ve ark. (1993), kuru enfiye veya tütün-kireç karışımının genotoksik etkisini araştırdıkları çalışmalarında dumansız tütün kullanımının lenfositlerde SCE ve CA düzeyini arttırdığını, ağız mukoza hücrelerinde MN frekansını indüklediğini gözlemişlerdir.

Mahimkar ve ark. (2001), ise masheri adı verilen dumansız tütünün genotoksik etkilerini araştırmışlardır. Analizler sonucunda dumansız tütün kullananlarda CA düzeyinin kullanamayanlara oranla daha yüksek bir değerde olduğunu bulmuşlardır.

Ülkemizde ise Güneydoğu Anadolu Bölgesi’nde özellikle Kahramanmaraş ve Gaziantep illerini içine alan yörelerde Maraş otu olarak adlandırılan dumansız tütün kullanılmaktadır. Oldukça fazla sayıda tiryakisi bulunan bu toz sigara yerine kullanılmaktadır. Maraş otu, “Deli Tütün” olarak da adlandırılan *Nicotiana rustica* L. bitkisinin yapraklarının toz haline getirilerek meşe, ceviz veya asma çubuğundan elde edilen kül ile karıştırılarak hazırlanmaktadır. Karışımındaki kül oranı yaklaşık yarı yarıyadır. Bu karışım ortalama bir tatlı kaşığı kadar avuca alınıp alt dudak ile çene arasına konmakta ve burada bir süre (5-10 dakika) tutulmaktadır. Daha sonra karışım ağızdan tükürülerek dışarı atılır ve bu işlem gün boyunca tekrarlanır. Maraş otunun hazırlanması aşamasında karıştırılan kül ortamı alkali yapmakta ve ağız mukozasından emilimi kolaylaştırmaktadır. Bu özellik maraş otuna olan bağımlılığı artırmaktadır (Erenmemişoğlu ve ark., 1992).

Maraş otunun yapıldığı *Nicotiana rustica* L. bitkisi ile sigaralık kültür tütününü olan *Nicotiana tabacum* arasında alkaloid kompozisyonları bakımından belirgin bir farklılık olmadığı bildirilmiştir. Sigaralık kültür tütününde bulunan nitrosonornikotin (NNN), nitrosoanabasin (NAB), nitrosoanabatin (NAT) ve nitrosamin (TSNA) gibi alkaloidlerin benzer oranlarda *Nicotiana rustica* L. bitkisinde de bulunduğu saptanmıştır. Ancak *Nicotiana rustica* L.'nin nikotin içeriğinin *Nicotiana tabacum*'dan yaklaşık 6-10 kat yüksek olduğu bildirilmiştir (Saitoh ve ark., 1985).

Maraş otu kullanımının hücrel immün yanıtı olumsuz yönde etkilediği, bu nedenle Maraş otu kullananların enfeksiyonlara daha duyarlı olduğu saptanmıştır (Aral ve ark., 2002). Maraş otu kullanımının akciğerlerin fonksiyonlarını olumsuz yönde etkilediği sigaraya eşdeğer zararlı etkisinin bulunduğu gözlenmiştir (Büyükbeşe ve ark., 2004). Maraş otu kullanımının kalp ve damar rahatsızlıklarına neden olduğu vurgulanmış özellikle sistolik ve diyastolik fonksiyon parametrelerinde aksamalara neden olduğu saptanmıştır. Kardiyovasküler sistem üzerine sigara ile eşdeğer oranda zararlı etkide bulunduğu saptanmıştır (Güven ve ark., 2004). Maraş otunun biyokimyasal ve hematolojik parametreleri de olumsuz yönde etkilediği gösterilmiştir (Kılınç ve ark., 2004; Kurtul ve ark., 2005). Ayrıca Maraş otu kullanımının ağız kanserği riskini arttırdığı bildirilmiştir (Erenmemişoğlu ve ark., 1995).

Maraş otunun insan sağlığına etkilerinin yanısıra, bazı araştırmacılar olası genotoksik etkisi ile ilgili çalışmalar yapmışlardır. Maraş otu kullanan bireylerin periferik kan lenfositlerindeki SCE düzeyinin kullanmayanlara oranla yüksek olduğu saptanmıştır. Ancak, Maraş otunun SCE'yi indükleyici etkisinin sigaranın etkisinden daha düşük olduğu bildirilmiştir (Özkul ve ark., 1995). Ayrıca, Maraş otunun ağız mukoza hücrelerinde MN oluşumunu indüklediği gösterilmiştir (Özkul ve ark., 1997; Burgaz ve ark., 2000).

Yapılan kaynak taramasında maraş otu kullanımının KA üzerine etkisi ile ilgili bir çalışmaya rastlanmamıştır. Bu nedenle, bu çalışmada Maraş otu kullanan bireylerden kan örnekleri alınmış ve periferik lenfositlerinde KA analizleri yapılarak genotoksik riskleri araştırılmıştır. Çalışmaya, farklı yaş gruplarındaki toplam 40 erkek birey deney grubu olarak, 20 erkek birey de kontrol grubu olarak dahil edilmiştir. Çalışmada deney ve kontrol gruplarının AH ve KA frekansları saptanmış, elde edilen verilerin yaş ve Maraş otu kullanım süresi ile korelasyon gösterip göstermedikleri analiz edilmiştir.

Çalışmada Maraş otu kullanımının; KA ve anormal hücre frekansını artırdığı saptanmıştır. Spearsman's rho korelasyon analizi yapıldığında Maraş otu kullananlarda KA ve AH frekansının bireylerin yaşı ve Maraş otu kullanım süreleri ile pozitif korelasyon gösterdiği gözlenmiştir. Bu çalışma sonuçları, Adhvaryu ve arkadaşlarının (1991) mava kullananlarda, Dave ve arkadaşlarının (1991) pan masala kullananlarda, Trivedi ve arkadaşlarının (1993) kuru enfiye ve tütün-kireç karışımı kullananlarda, Mahimkar ve arkadaşlarının (2000) masherli kullananlarda yaptıkları çalışmalarda elde ettikleri sonuçlarla uyumludur.

Bu çalışma sonuçları Maraş otunun genotoksik etkisi ile ilgili çalışmalara ilave veriler sağlamış ve Maraş otu kullanımının periferik lenfositlerde KA oluşumunu indüklediğini göstermiştir. Bu etkinin bilinen klastojenik ve mutajenik etkilerinden dolayı tütüne spesifik N-nitrosaminlerden kaynaklanmış olabileceği düşüncesindeyiz.

5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Maraş otu kullanan bireylerin periferik lenfositlerinde anormal hücre ve KA analizleri yapılarak genotoksik risklerinin araştırıldığı bu çalışmada aşağıdaki sonuçlar elde edilmiştir:

1. Maraş otu kullanan bireylerde ortalama KA değeri 9,05 olarak saptanırken bu değer kontrol grubunda 3,60 olarak gözlenmiştir. Aradaki farkın istatistiksel olarak önemli olduğu saptanmıştır ($P<0.01$).
2. Maraş otu kullananlarda saptanan AH frekansı (8,15) kontrol grubuna (3,55) göre önemli derecede yüksek bulunmuştur ($P<0.01$).
3. Maraş otu kullananlarda görülen kromozom aberasyonları; % 43,38 kromatid kırığı, % 22,93 kromozom kırığı, % 15,20 kardeş kromatid birleşmesi, % 8,84 disentrik kromozom, % 5,23 poliploidi ve % 4,42 kromatid değişmesi şeklinde dağılım göstermektedir.
4. Kontrol grubunda ise kromozom anormalliklerinin dağılımı % 58,33 kromatid kırığı, % 26,39 kromozom kırığı, % 8,33 kardeş kromatid birleşmesi, % 4,17 disentrik kromozom, % 2,78 poliploidi şeklinde gözlenmiştir. Her iki grupta da en sık görülen aberasyon tipi kromatid kırığıdır.
5. AH frekansı ve KA değerleri ile Maraş otu kullanım süresi arasında pozitif korelasyon olduğu saptanmıştır ($P<0.01$).
6. AH frekansı ve KA düzeyinin Maraş otu kullanan bireylerin yaşı ile pozitif korelasyon gösterdiği saptanmıştır ($P<0.01$).
7. Anormal hücre yüzdesi ve KA değerleri kontrol grubunda bireylerin yaşı ile pozitif korelasyon göstermiştir. ($P<0.01$)

Bu çalışma ile Maraş otunun genotoksik etkisi ile ilgili çalışmalara ilave veriler sağlanmış ve Maraş otu kullanımının periferik lenfositlerde KA oluşumunu indüklediği gösterilmiştir. Saptanan yüksek KA frekansı, Maraş otu kullananların genotoksik risk altında olduklarına işaret etmektedir.

Maraş otunun küçük büyük çoğu yöre halkı tarafından kullanılıyor olması endişe verici bir durumdur. Küçük yaşlarda başlayan bağımlılık ileri yaşlara kadar devam etmekte bu durum kişinin sağlığını olumsuz yönde etkilemektedir. Özellikle ileri yaşlarda kullanım veya uzun süreli kullanımlar genotoksik risk oranını artırmaktadır. Özellikle sigara kullanan kişilerin sigaraya olan bağımlılığı azaltmak ya da tamamen ortadan kaldırmak için Maraş otunu tercih etmeleri sağlıklı bir yol değildir Bu bakımdan genel popülasyonun maraş otu kullanımının zararlı etkisi konusunda bilgilendirilmesi gerektiği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- ADHVARYU, S.G., DAVE, B.J., TRIVEDI, A.H. 1991. Cytogenetic Surveillance of Tobacco-Areca Nut (mava) Chewers, Including Patients with Oral Cancers and Premalignant Conditions. *Mutation Research*, 261: 41-49.
- AKMAN, Y. 1998. Bitki Biyolojisine Giriş, Botanik. Palme Yayıncılık, Ankara, 220 s.
- ALBERTINI, R.J., ANDERSON, D., DOUGLAS, G.R., HAGMAR, L., HEMMINKI, K., MERLO, F., NATARAJAN, A.T., NORPPA, H., SHUKER, D.E.G., TICE, R., WATERS, M.D., AITIO, A. 2000. IPCS Guidelines For The Monitoring of Genotoxic Effects of Carcinogens in Humans. *Mutation Research*, 463:111-172.
- ALBERTS, A. 1994. How DNA and Histons are Organized in Chromosomes. *Molecular Biology of the Cell*. Garland Publishing, London, 342 s.
- ALLEN, S.S., HATSUKAMI, D., JENSEN, J., GRILLO, M., BLISS, R. 2002. Effects of Treatment on Cardiovascular Risk Among Smokeless Tobacco Users. *Preventive Medicine*, 6:242-245.
- ARAL, M., EKERBİÇER, H., ARAL, İ., ÇELİK, M., GÜL, M., ÇIRAGİL, P. 2002. Maras Otu (*Nicotiana rustica* L.) Kullanımının Hücrel İmmün Sistem Parametrelerine Olan Etkilerinin Araştırılması. 8. Ulusal Halk Sağlığı Kongresi, 23-28 Eylül, 2002, Diyarbakır, Türkiye.
- ASPLUND, K. 2003. Smokeless Tobacco and Cardiovascular Disease. *Mutation Research*, 36:124-128.
- BENOWITZ, N. 1988. Pharmacologic Aspects of Cigarette Smoking and Nicotine Addiction. *New England Journal of Medicine*, 319: 1318-1328.
- BHISEY, R.A., BAGWE, A.N., MAHIMKAR, M.B., BUCH, S.C. 1999. Biological Monitoring of Bidi Industry Workers Occupationally Exposed to Tobacco. *Toxicology Letters*, 108: 259-265.
- BOFFETTA, P., AAGNES, B., WEIDERPASS, E., ANDERSEN, A. 2005. Smokeless Tobacco Use and Risk of Cancer of the Pancreas and Other Organs. *International Journal of Cancer*, 114: 992-995.
- BOZCUK, A. N. 2000. Genetik. Palme Yayıncılık, Ankara, 320 s.
- BURGAZ, S., ÇOK, İ., UYSAL, B.T., KARAKAYA, A.E. 2000. Monitoring of Genotoxic Damage in Smokeless Tobacco (Maras Powder) Consumers Using Micronucleated Oral Cells. *Biomarkers*, 5:219-224.
- BURGAZ, S., KARAHALİL, B., CANHİ, Z., TERZİOĞLU, F., ANCEL, G., ANZİON, R.B., BOS, R.P., HUTTNER, E., 2002. Assessment of Genotoxic Damage in Nurses Occupationally Exposed to Antineoplastics by the Analysis of Chromosomal Aberrations. *Human Experimental Toxicology*, 21:129-135.
- BÜYÜKBEŞE, A.B., KÖKSAL, N., GÜVEN, A., ÇETİNKAYA, A. 2004. Effects of Smokeless Tobacco 'Maras Powder' Use on Respiratory Functions. *Tohoku Journal of Experimental Medicine*, 204:173-178.
- COOGAN, P.F., GELLER, A., ADAMS, M. 2000. Prevalence and Correlates of Smokeless Tobacco Use in a Sample Connecticut Students. *Journal of Adolescence*, 23:129-135.
- ÇOK, İ., ÖZTÜRK, R. 2000. Urinary Cotinine Levels of Smokeless Tobacco (Maras Powder) Users. *Human and Experimental Toxicology*, 19:650-655.
- DAS, R.K., DASH, B.C. 1992. Genotoxicity of 'Gudakhu', a Tobacco Preparation. II. In Habitual Users. *Food and Chemical Toxicology*, 30: 1045-1049.

- DAVE, B.J., TRIVEDI, A.H., ADHVARYU, S.G. 1991. Cytogenetic Sstudies Reveal Increased Genomic Damage among 'Pan Masala' Consumers. *Mutagenesis*, 6: 159-163.
- DEMİRSOY, A. 1991. Yaşamın Temel Kuralları. Meteksan Matbaacılık ve Teknik Sanayi Tic. Ltd. Şti., Ankara, 560 s.
- DOROTHY, K., HATSUKAMİ, P.D., CHARLOTTE, L.D., SCOTT, L., TOMAR, D. 2004. Smokeless Tobacco Use: Harm Reduction or Induction Approach. *Preventive Medicine*, 38:309-317.
- ELLISON, J.A. 2003. Smokeless Tobacco. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics*, 95:639-640.
- ERENMEMİŞOĞLU, A., TEKOL, Y., KARTAL, M., KURUCU, S. 1992. The Use of a Smokeless Tobacco in Our Country 'Maras Powder'. *Doga-Turkish Journal of Medical Science*, 16:567-576.
- ERENMEMİŞOĞLU, A., KARTAL, M., ÜSTÜN, H. 1995. Carcinoma of Buccal Mucosa in Smokeless Tobacco Users: A Preliminary Study of the Use of Cytology for Early Detection. *Cytopathology*, 6:403-408.
- ERENMEMİŞOĞLU, E. 1999. Turkish Smokeless Tobacco "Maras powder". *Preventive Medicine*, 28:616-617.
- FATİMA, S.K., PRABHAVATHI, P.A., REDDY, P.P. 2001. Analysis of Chromosomal Aberrations in Men Occupationally Exposed to Cement Dust. *Mutation Research*, 490:179-786.
- GOVEKAR, R.B., BHİSEY, R.A. 1993. Mutagenic Activity in Urine Samples from Female Habitues. *Cancer Letters*, 69:75-80.
- GÖZÜKARA, E.M. 1990. Biyokimya. Ofset Repronat Ltd. Şti., Ankara, 1104 s.
- GROSS, A.J., LACKLAND, D.T., TU, D.S. 1995. Oral Cancer and Smokeless Tobacco: Literature Review and Meta- Analysis. *Environmental International*, 21:381-394.
- GRUPTA, P.C., Ray, C.S. 2003. Smokeless Tobacco and Health in India and South Asia. *Respirology*, 8:419-431.
- GUPTA, R., GUPTA, V.P., SARNA, M., PRAKASH, H., RASTOGİ, S., GUPTA, K.D. 2003. Serial Epidemiological Surveys in an Urban Indian Population Demonstrate Increasing Risk Factors among the Lower Socioeconomic Strata. *Journal of Association of Physicians of India*, 51:470-477.
- GÜVEN, A., KÖKSAL, N., BÜYÜKBEŞE, M.A., ÇETİNKAYA, A., SÖKMEN, G., AKSU, E., ÇAĞLAYAN, C.E. 2003. Effects of Using a Different Kind of Smokeless Tobacco on Cardiac Parameters: "Maras powder". *Anadolu Kardiyoloji Dergisi*, 3:230-235.
- JANSSON, T., ROMERT, L., MAGNUSSON, J., JENSSEN, D. 1991. Genotoxicity Testing of Extracts of a SwedishMmoist Oral Snuff. *Mutation Research*, 261: 101-115.
- KANNAN, K.P., THANKAPAN, K.R., KUTTY, V.R., ARAVİNDAN, K.P. 1991. Consumption of Tobacco and Alcohol, Health and Development in Rural Kerala. *Sastra Sahitya Parishad*, 28:98-105.
- KAROL, S., 1998. Hücre Biyolojisi. A.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, Ankara, 451 s.
- KAYAL, J.J., TRIVEDI, A.H., DAVE, B.J., NAIR, J., NAIR, U.J., BHIDE, S.V., GOSWAMI, U.C., ADHVARYU, S.G. 1993. Incidence of Micronuclei in Oral Mucosa of Users of Tobacco Products Singly or in Various Combinations. *Mutagenesis*, 8: 31-33.

- KILINÇ, M., OKUR, E., KURUTAŞ, E.B., GÜLER, F.İ., YILDIRIM, İ. 2004. The Effects of Maras Powder (Smokeless Tobacco) on Oxidative Stres in Users. *Cell Biochemistry and Function*, 22:233-236.
- KILINÇ, M., OKUR, E., YILDIRIM, İ., INANÇ, F., KURUTAŞ, E.B. 2004. The Investigation of the Effect of Maras Powder (Smokeless Tobacco) on Hematological Parameters. *Turkish Journal of Haematology*, 21:131-136.
- KÖKSAL, N., GÜVEN, A., ÇETİNKAYA, A., BÜYÜKBEŞE, M.A. 2004. Dumansız Tütün “Maraş Otu” Kullanımının Solunum Fonksiyonları Üzerine Olan Etkileri. *Akciğer Arşivi*, 5:174-178.
- KURTUL, N., ÇİL, M.Y., PAÇACI, S.D. 2005. Serum Total Sialic Acid Levels in Smokers and Users of Smokeless Tobacco in Form of Oral Powder (Maras Powder). *Journal of Biomedical Sciences*, 12: 559-563.
- KURU, M., GÖZÜKARA, S.E. 2001. Genetik. Palme Yayıncılık, Ankara, 360 s.
- LANDO, H.A., HADDOCK, C.K., KLESGES, R.C., TALCOTT, G.W., JENSEN, J. 1999. Smokeless Tobacco Use in Population of Young Adults. *Mutation Research*, 24:431-437.
- MAHIMKAR, M.B., BUCH, S.C., SAMANT, A., KAPOOR, M.D., BHISEY, R.A., 2001. Influence of Smokeless Tobacco Exposure on Detoxification Status and Chromosomal Damage in Male and Female Habitues. *Mutation Research*, 491:111-117.
- MATTSON, M.E., WINN, D.M. 1989. Smokeless Tobacco Association with Increased Cancer Risk, *NCI Monographs*, 20: 89-92.
- NAİR, J., PAKHALE, S.S., BHIDE, S.V. 1989. Carcinogenic Tobacco Specific Nitrosamines in Indian Tobacco Products. *Food and Chemical Toxicology*, 27:751-753.
- NAİR, U., OBE, G., NAİR, J., MARU, G.B., BHIDE, S.V., PIEPER, R. 1991. Evaluation of Frequency of Micronucleated Oral Mucosa Cells as a Marker for Genotoxic Damage in Chewers of Betel Quid with or without Tobacco. *Mutation Research*, 261:163-168.
- NARANG, A.P., GREVAL, R.S., GOYAL, S.C. 1995. Arsenic Adulteration in Indian Tobacco. *Indian Journal of Medical Sciences*, 3:55-57.
- NİPHADKAR, M.P., CONTRACTOR, Q., BHISEY, R.A. 1994. Mutagenic Activity of Gastric Fluid from Chewers of Tobacco with Lime. *Carcinogenesis*, 15:927-931.
- NİPHADKAR, M.P., BAGWE, A.N., BHISEY, R.A. 1996. Mutagenic Potential of Indian Tobacco Products. *Mutagenesis*, 11:151-154.
- OZBAN, N., 1994. Hücre Sitolojisi. İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 250 s.
- ÖNER, C. 2002. Genetik Kavramlar. Palme Yayıncılık, Ankara, 816 s.
- ÖZKUL, Y., ERENMEMİŞOĞLU, A., CÜCER, N., MENEVŞE, A., SAATÇİ, C.A. 1995. Sister-Chromatid Exchange Inducing Effects of Smokeless Tobacco Using on T-Lymphocyte Chromosomes. *Mutation Research*, 334:209-212.
- ÖZKUL, Y., DÖNMEZ, H. ERENMEMİŞOĞLU, A., DEMİRTAŞ, H., İMAMOĞLU, N. 1997. Induction of Micronuclei by Smokeless Tobacco on Buccal Mucosa Cells of Habitual Users. *Mutagenesis*, 12:285-287.
- PAKHALE, S.S., DOLAS, S.S., MARU, G.B. 1997. Determination of Alkaloids, Nitrate, Moisture and pH in Tobacco Varieties from Different Parts of India. *Tobacco Research*, 23:11-18.
- PATEL, D.R., GREYDANUS, D.E. 1999. Substance Abuse: A Pediatric Concern. *Indian Journal of Pediatrics*, 66:557-567.

- PATRICIA, F.C., GELLER, A., ADAMS, M. 2000. Prevalence and Correlates of Smokeless Tobacco Use in a Sample of Connecticut Students. *Journal of Adolescents*, 23:129-135.
- PINTO, D., CEBALLOS, J.M., GARCIA, G., GUZMAN, P., DEL RAZO, L.M., VERA, E., GOMEZ, H., GARCIA, A., GONSEBATT, M.E. 2000. Increased Cytogenetic Damage in Outdoor Painters. *Mutation Research*, 467:105-111.
- RANI, M., BONU, S., JHA, P., NGUYEN, S.N., JAMJOUR, L. 2003. Prevalence and Predictors of Smoking and Chewing in a National Cross-Sectional Household Survey. *Tobacco Control*, 12:3-4.
- REGINALD, V.F., JACK, E.H., RICHARD, A.N., WALLACE, B.P. 1999. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Moist Snuff in Humans, *Tobacco Control*, 8:387-392.
- RODU, B. 1994. An Alternative Approach to Smoking Control. *American Journal of Medical Sciences*, 308:32-34.
- RODU, B., JANSSON, C. 2004. Smokeless Tobacco and Oral Cancer: A Review of the Risks and Determinants. *Critical Reviews in Oral Biology and Medicine*, 21:156-157.
- RUSSEL, M.A., JARVIS, M.J., DEVITT, G., FEYERABEND, C. 1981. Nicotine Intake by Snuff Users. *British Medical Journal*, 283:814-817.
- SAITOH, F., NOMA, M., KAWASHIMA, N. 1985. The Alkaloid Contents of Sixty Nicotiana Species. *Phytochemistry*, 24:477-480.
- SOLAK, M. 2000. Moleküler Genetik ve Rekombinant DNA Teknolojisi. Afyon Kocatepe Üniversitesi, Yayın No:5, Afyon.
- STICH, H.F., CURTIS, J.R., PARIDA, B.B. 1982. Application of the Micronucleus Test to Exfoliated Cells of High Cancer Risk Groups: Tobacco Chewers. *International Journal of Cancer*, 30: 553-559.
- SULUDERE, Z., 1995. Hücre Biyolojisi. A.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, Ankara, 458 s.
- SURRALES, J., AUTIO, K., NYLUND, L., JARVENTAUS, H., NORPPA, H., VEIDEBAUM, T., SORSA, M., PELTONEN, K. 1997. Molecular Cytogenetic Analysis of Buccal Cells and Lymphocytes from Benzene-exposed Workers. *Carcinogenesis*, 18:817-823.
- TEMİZKAN, G., 1994. Genetik (Temel Genetik). İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 276 s.
- 1999. Genetik (Moleküler Genetik) İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 399 s.
- TOPAKTAŞ, M., RENCÜZOĞULLARI, E. 1995. Sitogenetik. Ç.Ü. Fen Fakültesi, Adana, 182 s.
- TRIVEDI, A.H., DAVE, B.J., ADHVARYU, S.G. 1993. Monitoring of Smokeless Tobacco Consumers Using Cytogenetic End Points. *Anticancer Research*, 13: 2245-2250.
- WALSH, P.M., EPSTEIN, J.B. 2000. The Oral Effects of Smokeless Tobacco. *Journal of Canadian Dental Association*, 66:22-25.
- WOLFE, M.D., CARLOS, J.P. 1987. Oral Health Effects Of Smokeless Tobacco Use in Navajo Indian Adolescents, *Community Dentistry and Oral Epidemiology*, 22:158-164.
- YAKAR, N. 1987. Sitoloji. İ.Ü. Fen Fakültesi Basımevi, İstanbul, 246 s.

EKLER
ANKET FORMU

1. Adınız-soyadınız:
2. Kaç yaşındasınız?:
3. Mesleğiniz nedir?:
4. Sigara içiyor musunuz?:
5. Bir günde içilen ortalama sigara miktarı:
6. Alkol alıyor musunuz?:
7. İçki içme sıklığınız ve tahmini miktarı nedir?:
8. Maraş otu kullanıyor musunuz?:
9. Günlük Maraş otu kullanımı sıklığı:
- 10.Sürekli kullandığınız bir ilaç var mı?:
- 11.Süreğen bir hastalığınız var mı?:
- 12.Kalıtsal anomalili çocuğunuz var mı?:
13. Son 3 ay içinde röntgen çektirdiniz mi?:

ÖZGEÇMİŞ

1978 yılında Kahramanmaraş'ta doğdu. 1985-1990 yıllarında ilköğrenimini Ilıca İlkokulu'nda, orta öğrenimini 1991-1997'de Kahramanmaraş Çukurova Anadolu Lisesi'nde tamamladı. 1998'de Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü'nde lisans eğitime başladı. Lisans eğitimini 2002 'de tamamlayarak bu bölümden mezun oldu.

2003 şubat ayında aynı bölümde yüksek lisans programına başladı.