

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SCHİFF BAZI KOMPLEKSLERİNDEN
Cd(8Q)₂(SCN)₂'NİN
İN VİTRO GENOTOKSİK ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice TUNCA

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Tez Danışmanı : Yrd. Doç Dr. Tuğba ONGUN SEVİNDİK

Aralık 2011

T.C.
SAKARYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SCHİFF BAZI KOMPLEKSLERİNDEN
Cd(8Q)₂(SCN)₂'NİN
İN VİTRO GENOTOKSİK ETKİLERİ**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

Hatice TUNCA

Enstitü Anabilim Dalı : BİYOLOJİ

Enstitü Bilim Dalı : BİYOLOJİ

Bu tez 22 / 12 / 2011 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından Oybirliği ile kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Feray KÖÇKAR

Jüri Başkanı

Yrd. Doç Dr. Hüseyin

AKSOY

Üye

Yrd. Doç Dr. Tuğba ONGUN

SEVİNDİK

Üye

ÖZET

Anahtar kelimeler: Schiff bazı, Kromozomal anormallik, Mikronukleus, Genotoksisite, Sitotoksisite

İlaç hammaddesi olarak araştırılmak üzere sentezlenen $Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff bazı kompleksinin insan periferik lenfositlerinde meydana getirdiği in vitro genotoksik etkileri belirlemek amacıyla yapılmış bu çalışmada kromozomal anomalilikler ve mikronukleus testleri kullanılmıştır.

1, 2, 4, 6, ve 8 $\mu g/ml$ dozlarla yapılan çalışmalar sonucunda 24 saat süre ile uygulanan kromozomal anomalilikler testinde, kontrol gruplarına göre hem kromozomal anomalilik frekansı hem de anormal hücre yüzdesi bakımından 4 $\mu g/ml$ dozdan itibaren anlamlı artış gözlenirken 48 saat sürelik uygulamada 2 $\mu g/ml$ dozdan itibaren anlamlı artış gözlenmiştir. 48 saat süre ile uygulanan mikronukleus testinde ise 4 $\mu g/ml$ doz negatif kontrol grubuna göre anlamlı bulunmuştur. 48 saat süreli uygulamalarda 6 ve 8 $\mu g/ml$ dozların periferik lenfositler üzerine sitotoksik etkisi sebebiyle düşük dozda hücre bölünmesi olmuş ve sayım yapılamamıştır.

***IN VITRO* GENOTOXIC EFFECTS OF SCHIFF BASE COMPLEXES**

SUMMARY

Key words: Schiff base, Micronucleus, Chromosomal abberation, Genotoxicity, Cytotoxicity

In this study, chromosomal abberation and micronucleus tests were used to determine in vitro genotoxic effects occuring on human peripheral lymphocytes by Cd(8Q)₂(SCN)₂ with schiff base complex as synthesized drug raw material for research .

In the results of reseach explored with 1, 2, 4, 6, and 8 µg/ml doses, in chromosomal abberation test applied with 24 h perioud, doses as from 4 µg/ml were observed significantly increase from controls when in chromosomal abberation test applied with 48 h perioud, doses as from 2 µg/ml were observed significantly rise from controls at both chromosomal abberation frequency and abnormal cell percentage

In the micronucleus test applied 48 h period, 4 µg/ml dose were detected significantly difference from negatif control. In the application which was made with 48 h period due to being cytotoxicity effects of 6 and 8 µg/ml doses on human peripheral lymphocytes the cell proliferations decreased and data was not got from these doses.

TEŞEKKÜR

Tez çalışmalarımın en zor anlarında yanımda olan, benden bilgisini, desteğini, esirgemeyen danışman hocam Sayın Yrd. Doç. Dr. Tuğba ONGUN SEVİNDİK'e, tez çalışmamın belli aşamalarında katkısı olan Sayın Yrd. Doç. Dr. Hüseyin AKSOY'a, test maddesinin sentezini yapan Kimya Bölümü öğretim üyesi Sayın Prof. Dr. Salih Zeki YILDIZ'a, çalışmalarım sırasında manevi desteklerini esirgemeyen hocalarım Sayın Yrd. Doç. Dr. Ali UZUN'a ve Sayın Yrd. Doç. Dr. Mehmet SAĞIROĞLU'na, tez çalışmalarımda katkısı olan ve birlikte çalışmalar yaptığımız yüksek lisans öğrencisi değerli arkadaşım Merve Ayşe DOĞANCI'ya, fotoğraf çekiminde yardımcı olan değerli arkadaşım Arş. Gör. Tarık DİNÇ'e ve tez sürecimde manevi desteklerini ve sabırlarını esirgemeyen mesai arkadaşlarıma, tez çalışmalarımda katkıları bulunan öğrencilerim Burçin ÖNEM'e, Birol AKSOY'a, Ozan ZORER'e ve Reyyan KOBAK'a teşekkürü bir borç bilirim.

Her zaman yanımda olan maddi, manevi yardımlarda bulunan canım annem, babam ve ağabeyime teşekkür ederim.

Bu çalışma Sakarya Üniversitesi 2010-02-20-007 no'lu BAP projesi ile desteklenmiştir.

İÇİNDEKİLER

ÖZET.....	ii
SUMMARY.....	iii
TEŞEKKÜR.....	iv
İÇİNDEKİLER.....	v
ŞEKİLLER LİSTESİ.....	vii
TABLolar LİSTESİ.....	ix
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ.....	x
BÖLÜM 1	
GİRİŞ.....	1
BÖLÜM 2.	
GENEL BİLGİLER.....	3
2.1. Schiff Bazları.....	3
2.1.1. Schiff bazlı bileşiklerin kullanım alanları.....	4
2.1.2. Schiff bazlı bileşiklerin biyolojik önemi.....	5
2.2. Genetik Toksisite.....	11
2.2.1.Kromozomal mutasyonlar.....	12
2.2.2. Genotoksisite testleri.....	14
2.2.2.1. Kromozomal anomalilikler testi.....	17
2.2.2.2. Mikronukleus testi.....	18
2.3. Schiff Bazları Üzerine Yapılan Genotoksik Çalışmalar.....	20
BÖLÜM 3.	
MATERYAL VE METOD.....	22

3.1. Materyal.....	22
3.2. Metot.....	23
3.2.1. Kromozomal anormalliği testi.....	23
3.2.2. Mikronukleus testi.....	24
3.2.3. Preparatların boyanması.....	25
3.2.4. Kromozom anormalliklerinin ve mitotik indeksin saptanması.....	25
3.2.5. Mikronukleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi hesaplanması..	26
3.2.6. İstatistiksel analizler.....	26
BÖLÜM 4.	
BULGULAR.....	27
4.1. [Cd(8-Q) ₂ (SCN) ₂] uygulamasının kromozom anormalliği ve mitotik indeks üzerine etkisi.....	27
4.2. [Cd(8-Q) ₂ (SCN) ₂] uygulamasının mikronukleus ve nükleer bölünme indeks üzerine etkisi.....	36
BÖLÜM 5.	
TARTIŞMA.....	39
KAYNAKLAR.....	45

ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1.	Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdiği kondenzasyon reaksiyonu.....	3
Şekil 2.2.	Mikronukleusun klastojenik veya anöjenik etkilerle meydana gelişi.....	19
Şekil 3.1.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ bileşiğinin kimyasal yapısı.....	22
Şekil 4.1.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler.....	30
Şekil 4.2.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler.....	31
Şekil 4.3.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler.	32
Şekil 4.4.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksinin 24 saat uygulamasında in vitro insan lenfositlerinde anormal hücre yüzdesi doz etki ilişkisi.....	33
Şekil 4.5.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksinin 24 saat uygulamasında in vitro insan lenfositlerinde hücre başına düşen kromozomal anormallik doz etki ilişkisi.....	33
Şekil 4.6.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksinin 48 saat uygulamasında in vitro insan lenfositlerinde anormal hücre yüzdesi doz etki ilişkisi.....	34
Şekil 4.7.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksinin 48 saat uygulamasında in vitro insan lenfositlerinde hücre başına düşen kromozomal anormallik doz etki ilişkisi.....	34
Şekil 4.8.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksinin 24 saat uygulamasında insan lenfosit kültüründe mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı ilişkisini gösteren grafik.....	35

Şekil 4.9.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksinin 48 saat uygulamasında insan lenfosit kültüründe mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı ilişkisini gösteren grafik.....	35
Şekil 4.10.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan bir mikronukleuslu binukleat hücre.....	36
Şekil 4.11.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksi uygulamasıyla insan lenfosit kültüründe mikronukleus frekansının doza bağlı ilişkisi..	37
Şekil 4.12.	$Cd(8Q)_2(SCN)_2$ Schiff Bazı Kompleksi uygulamasıyla insan lenfosit kültüründe nükleer bölünme indeksinin doza bağlı ilişkisi.....	37

TABLULAR LİSTESİ

Tablo 4.1	Cd(8Q) ₂ (SCN) ₂ 24 saat süre uygulaması ile <i>in vitro</i> insan lenfositlerinde oluşan Kromozomal Anomalilik ve Mitotik indeks.....	28
Tablo 4.2	Cd(8Q) ₂ (SCN) ₂ 48 saat süre uygulaması ile <i>in vitro</i> insan lenfositlerinde oluşan Kromozomal Anomalilik ve Mitotik indeks.....	29
Tablo 4.3	Cd(8Q) ₂ (SCN) ₂ uygulaması ile <i>in vitro</i> insan lenfositlerinde oluşan mikronukleus frekansları ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi.....	36

SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

BrdU.....	Bromodeoksiuridin
cm.....	Santimetre
CytB.....	Sitokalsin B
DNA.....	Deoksiribonükleik asit
DMF.....	Dimetikformamit
HNO ₃	Nitrik asit
KA.....	Kromozom anormalliği
KCl.....	Potasyum klorür
kg.....	Kilogram
MI.....	Mitotik indeks
MMC.....	Mitomycin C
MN.....	Mikronukleus
NBI.....	Nükleer bölünme indeksi
SCE.....	Kardeş kromatid değişimi
SH.....	Standart hata
°C.....	Santigrat derece
%.....	Yüzde
µg/mL.....	Mikrogram / Mililitre
rpm.....	Dakikadaki devir sayısı
mg.....	Miligram
mL.....	Mililitre
N.....	Normalite
PABA.....	Paraaminobenzoik asit
OECD.....	Ekonomik Kalkınma ve İşbirliği Örgütü

BÖLÜM 1. GİRİŞ

Schiff bazları, aldehit veya ketonların primer aminler ile reaksiyonları sonucunda oluşurlar (Loudon, 1995). Schiff bazı komplekslerinin benzersiz koordinasyonları, katalitik ve biyolojik aktivitelerinden dolayı büyük ilgi toplamıştır (Raman, 2001). Organik reaktifler arasında Schiff bazları doğal biyolojik materyallere benzemesi, basit sentezleme süreçleri ve tasarımının sentetik esnekliği gibi yapısal özelliklere sahip olması bakımından önemlidir (Jungreis ve Thabet, 1969). Schiff bazı ligandları geçiş metali ve geçiş metali olmayan iyonları iyi şelatlama özelliğine sahiptir. Bu bileşiklerin şelatlama kabiliyetleri, analitik ve biyolojik uygulamaları önemli ölçüde dikkat çekmiştir. Schiff bazı kompleksleri manyetik materyaller, katalitler ve biyoloji mühendisliği alanlarında sıklıkla kullanılmaktadır (You, 2004). Geçiş metallerini içeren Schiff baz ligandları enzimatik reaksiyonlarda, manyetizmada ve moleküler yapıların aydınlatılmasında önemli role sahiptir (Bhaita, 1981). Bu bileşiklerin çoğu türevleri etkili pestisit ve insektisit olarak geliştirilmektedir (Zhu, 2004). Schiff bazları antibakteriyel, antifungal ve antitüberküler alanlarda biyolojik aktiviteye sahiptir (Lednicer, 1984). Schiff bazları ve bunların metal kompleksleri biyolojik, klinik analitik ve farmakolojik pek çok alanda uygulama alanı bulur (Osowole, 2005).

Kimyasal maddelerin canlı organizmada zararlı etkilerini göstererek ölüme neden olan miktarları (letal dozları) çok geniş bir sınır içerisinde yayılmıştır. Kimyasal bir maddenin toksik olması canlı vücuduna giren miktarına yani dozuna bağlıdır. Fizyolojik bozuklukları düzeltmek, yani hastalıkları tedavi için kullanılan ilaç ancak belirli bir dozda verildiği zaman beklenen biyolojik etkiyi gösterir. Ancak bu dozun üstüne çıkıldığında, ilacın toksik etkisi ve öldürücü etkisi görülür (Vural, 2005).

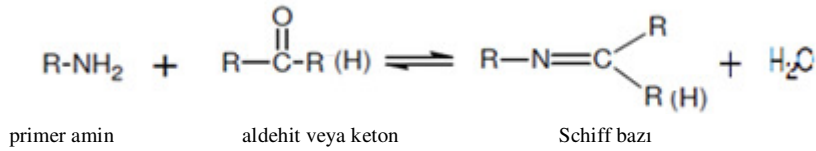
Bu sebeple ilaçların elde edilmesinde ilk 3nemli basamak kimyasal maddelerin 3nce daha basit h3cre, doku veya organlarda daha sonra canlı hayvanlar 3zerinde fizyolojik fonksiyonları 3zerinde etkileri ve yan etkilerinin araştırıldığı prelinik d3nemdir (B3kesoy, 2000).

Bu çalışmanın amacı ilaç etken maddesi başta olmak 3zere birçok alanda kullanılması muhtemel olan Schiff bazı kompleksi Cd (8Q)₂ (SCN)₂ maddesinin genotoksik etkilerinin araştırılmasıdır.

BÖLÜM 2. GENEL BİLGİLER

2.1. Schiff Bazları

İmin, ketimin veya azometin gibi farklı isimler de verilen Schiff bazları, aslında C=O grubunun bulunduğu bölgeye C=N-R grubunun geçmesiyle oluşan aldehitlerin veya ketonların nitrojen analoglarıdır (Şekil 2.1)(Loudon, 1995, Carey ve Sundberg, 2000).



Şekil 2.1. Aminlerin karbonil bileşikleriyle verdiği kondenzasyon reaksiyonu (Carey ve Sundberg 2000)

İminlerin oluşumu geri dönüşümlüdür ve genellikle asit veya baz katalizi veya sıcaklık vasıtası ile oluşur. İmin formasyonunun tamamlanması tipik olarak su çıkışı veya imin çökmesi veya her iki olay sonucunda gerçekleşir (Loudon, 1995).

İmin oluşum mekanizması karbonil gruba nükleofilik katılma ile başlar. Bu durumda, aldehit veya ketonlarla etkileşime girerek kararsız katılma ürünü karbinolamin olarak isimlendirilen ürünü oluşturan nükleofil, amindir. Karbinolamin aynı karbon grubu üzerinde bir hidroksi ve bir amin grubu bileşiği bulundurur. Karbinolaminler izole edilemezler fakat imin oluşumu için asit katalizli dehidrasyona uğrayabilirler. Bu reaksiyon alışılmış alkol dehidrasyonundan daha hızlı gerçekleşir. Schiff bazlarının sentezi esnasında aminlerin bazik karakterde olması sebebiyle asit konsantrasyonu seviyesinin çok yüksek olmaması gerekir. Kısaca imin formasyonu karbonil katılma ve β -eliminasyonu gibi birbirine çok yakın iki reaksiyonun seri halde gerçekleşmesi ile meydana gelir (Loudon, 1995).

Amin veya karbonil bileşiklerin yapılarına ve molar oranlarına bağlı olarak birbirinden farklı yapıda çeşitli Schiff bazları elde etmek mümkündür. Hidroksilamin, semikarbazit ve fenilhidrozin gibi farklı primer aminlerden; oksim, semikarbozon ve fenilhidrozon gibi farklı Schiff bazları elde edilir (Hornback, 2006).

2.1.1. Schiff bazlı bileşiklerin kullanım alanları

Schiff bazlı bileşikler ve bu bileşiklerin metal kompleksleri fotokromizim göstermesi (farklı spektrum gösteren iki kimyasal formun elektromanyetik radyasyonun absorpsiyonu ile birbirine dönüşebilmesi), katalitik indirgeme sergilemesi (kimyasal komplekslerin basit bileşiklere indirgemesi), tautomerizme uğraması (hidrojen atomları veya protonların transferi ile sağlanan kimyasal reaksiyonlar), ağır metal ve zehir bağlama yeteneği gibi önemli özellikleri sebebiyle çok sayıda sentezlenmektedir (Soliman, 1999, Tunçel, 2006). Schiff bazlarının sentezlenme süreci basittir ve grupların eklenmesi beklenen özelliklerine göre kolaydır (Ravari, 2009). Bu maddelerin pratik uygulamadaki önemli özelliklerinden birisi de geleneksel olarak düşük maliyetli ham materyalden sentezlenmesidir (Hosseini, 2003).

Metal-Schiff bazı komplekslerinin uygulama alanları içerisindeki rolü moleküler yapısına dayanmaktadır. Naftalamin türevli azo- grubu bağlayıcı Schiff bazları ve bunların metal kompleksleri özellikle boya endüstrisi içerisinde uygulama alanlarına sahiptir (Venkataraman, 1971; Tunçel, 2006). Salisilaldehit polidentat ligandlarından türevlenen Schiff bazları plastik yapımında kullanılmaktadır (Shamspur, 2003). Bunların kompleksleri roket yakıtı, metalomesojen (metal içeren sıvı kristaller) ve polimer teknolojisinde antistatik madde (statik elektriklenmeyi engelleyen maddeler) olarak kullanıldığı bilinmektedir (Allan, 1992; Koçak, 2008). Ayrıca fotonik cihazların geliştirilmesinde potansiyel uygulama alanları bulunmaktadır (Shamspur, 2003). Metal komplekslerinde görülen sıvı kristal özelliğinden yararlanılarak uçak sanayinde, televizyon ve bilgisayar ekranlarında, dijital saatlerin göstergelerinde ve tarım alanında kullanılmaktadır (Öztürk, 1998).

Schiff bazları sistematik olarak mukayese edilen aminlere göre daha güçlü korozyon inhibisyon özelliği gösterir (Shockry, 1998, Hosseini, 2003). Bu bileşikler yumuşak çelik, bakır ve alaşımlarının genellenmiş korozyonu için etkili inhibitörlerdir (Ravari, 2009).

Kimyasal sensörlerin yararları çevresel kaygılarla karşı karşıya kalan endüstrinin hızlı büyümesi nedeniyle artmaktadır. Elektroaktif etken olarak Schiff bazlarından oluşan sensörlerin Cu^{+2} iyonlarının belirlenmesinde mükemmel davranış sergilediği rapor edilmiştir. Schiff bazlarının proton kaybı ile zar matriks içerisinde yük taşıyıcısı olarak hareket eden Cu^{+2} 'lu kompleksleri oluşur. Bu sensörlerin Hg^{+2} ve Ag^{+} ayırımında da kullanıldığı rapor edilmiştir (Singh, 2004).

2.1.2. Schiff bazlı bileşiklerin biyolojik önemi

Schiff bazları fizyolojik koşullar altında aminlerden ve aldehit veya ketonlardan sentezlenebilir ve aynı şekilde amin ve karbonil bileşiklerine hidrolize olabilirler (Hornback, 2006). Bu sebeple Schiff bazları substratın amino ve karbonil grupları ile enzimin arasındaki etkileşimi içeren pek çok enzimatik reaksiyonda önemli bir vasıta (Nelson ve Cox, 2005).

Birçok enzim katalitik fonksiyonu gerçekleştirebilmek için yapısına katılması gereken koenzim adı verilen bileşiğe ihtiyaç duyar. Koenzim sıklıkla substrata bağlanır ve katalitik reaksiyonlar gerçekleştirebilmek için yapısını kolaylıkla değiştirebilir. Pridoksin plazmada Schiff bazı şeklinde bulunan bir vitamindir. (Dökmeci, 2000; Hornback, 2006). Besinlerde pridoksin, glikozitler ve pridoksin fosfat halinde bulunur. Pridoksinin fosfatlanmış türevleri bağırsakta önce defosforilasyona uğrar ve sonra pasif difüzyonla kolayca absorbe edilir (Kayaalp, 2005). Ayrıca hidroksilamin, hirozin, fenilhidrozin, semikarbazid zehirli bileşikleri pyridoksalın imin türevlerine dönüştürülürler (Hornback, 2006). Karaciğer hücrelerinde pridoksin, pridoksal ve pridoksamin; büyük ölçüde pyridoksal 5 fosfata dönüştürülür (Kayaalp, 2005). Pridoksal fosfat, enzimin katalitik alanında, aldehit fonksiyonu metabolize aminoasitin NH_2 fonksiyonu ile dekarboksilasyonlarını ve transaminasyonlarının kaynağı olan bir adlimin veya Schiff bazı oluşturur, yani

substratın bir amin grubu ile kendi aldehit grubu arasında imin formunu oluşturan bir koenzim olarak görev alır. Bu biyolojik reaksiyon içerisinde imin formunun kararlılığının kuvvetli olmamasından dolayı C=N çift bağı hidroliz ile ayrıldığında reaksiyonlar biter ve katalitik döngü tamamlanmış olur (Dökmeci, 2000; Hornback, 2006). Böylece pridoksal aminoasitlerin ve bazı yağ asitlerinin metabolizmasında rol oynar (Dökmeci, 2000). Ayrıca pridoksal ve aminoasit türevli Schiff bazlarının biyolojik açıdan önemli ligandlar olduğu düşünülür (Buckhari, 2002).

Biyokimyasal süreçlerdeki katalitik metabolizmadaki enzimler primer aminlerin kondensasyonunu içerir, genellikle enzimlerin lizin residüleri ve karbonil grubu substratları imin formu veya Schiff bazı olarak şekillenir. Glisin için öncül madde olan porfirin sentezinde enzimin lizin rezidülerinin ϵ -amino grubu ve δ - amino levulinik asit molekülünün keto grupları arasında Schiff bazı formasyonu gerçekleşir (Buckhari, 2002).

Schiff bazlarının organizmalarda ışığın absorblanmasında ve fotokimyasal değişikliğe sebep olmasıyla rodopsin molekülünde konformasyonel değişikliğe sebep olarak görmenin sağlanmasında önemi büyüktür (Hornback, 2006). Görme iletimi dış parçanın disklerinin her birinin içinde binlerce molekülü olan rodopsinin üzerine ışık düşünce başlar. Rodopsin zarı kateden yedi α sarmalla karakteristik serpentin yapısına sahip bir integral proteindir. Bu proteinin amino ucu bölgesi diske doğru uzanırken karboksil uç bölgesi dış parçanın sitozolüne bakmaktadır (Nelson ve Cox 2005). Rodopsin molekülünün ışığı absorblamasıyla 11. ve 12. karbonlarındaki cis çift bağı trans çift bağına dönüşür. Bu izomerizasyon göz tarafından absorblanan ışığın beyine ulaşmasını sağlayan impulsun oluşumunu tetikler. Schiff bazı izomerizasyonu kararsızdır. Bu yüzden opsine ve trans retinal forma hidroliz olur. Trans retinal form rodopsin formasyonunda yeniden kullanılabilmek için cis retinal forma dönüştürülür (Hornback, 2006).

Schiff bazlarının ışığı absorblama yeteneği *Holobacterium salinarum* halofilik bakterisi için yaşamsaldır. Bu bakteri güneş enerjisini fotosentetik mekanizmadan çok farklı bir işlemlerle yakalayan, tuzlu sularda ve tuz göllerinde yaşayan bir arkebakteridir. Bu organizmalar aeroptur ve organik yakıt moleküllerini normalde O₂ kullanarak yakar ancak tuzlu sularda O₂ çözünürlüğünün düşük olmasında dolayı oksidatif metabolizmanın alternatif bir enerji kaynağı olarak güneş ışığıyla

desteklenmesi gerekir (Nelson ve Cox, 2005). *H. salinarum* plazma zarı bakteriorodopsin denilen ve retinal pigmentler içeren bir protein bulundurur. Bu proteinin amino ve lizin rezidüleri bir Schiff bazı vasıtasıyla bağlanmıştır ve 570 nm kadar olan dalga boylarına duyarlıdır (Oesterhelt, 1974). Hücre aydınlandığında bakteriorodopsine bağlı tüm trans retinal bir foton tutar ve fotoizomerleşmeyle 13 cis retinale döner. Tüm trans retinalin değişimi plazma zarından dışarıya protonların çıkışıyla birlikte yürür. Karanlıkta Schiff bazının azotu protonlanır, ancak retinalin fotoizomerleşmesi bu grubun pKa'sını daha da düşürür ve protonu yakınındaki asparjine verir. Bu şekilde bir seri proton sıçraması tetiklenerek sonuçta zarın dış yüzeyine bir proton salınmış olur. Oluşan elektrokimyasal potansiyel, protonları mitokondri ve kloroplasttakine çok benzeyen bir ATP sentetaz kompleksiyle hücreye geri döner (Nelson ve Cox, 2005). Bu kemiozmotik mekanizma ile Holobakteriler O₂'nin kısıtlı olduğu zaman ışığı kullanarak ATP sentezler (Oesterhelt, 1974).

Schiff bazları biyolojik, inorganik, analitik ve ilaç sentezlenmesi gibi pek çok alanda koordinasyon kimyasının ligandları olarak sıklıkla kullanılmaktadır (Tümer, 1999; Gölcü, 2005; Awadallah El-Halabi, 2005). Schiff bazlı kompleksler katalitik reaksiyonlarda ve yine kimyasal ve tıbbi substratlar olarak kullanılmaktadır (Awadallah El-Halabi, 2005). Biyolojik olayların açıklanmasında bu bileşiklerden büyük ölçüde yararlanır (Koçak, 2008). Schiff bazı ligandların geçiş metal kompleksleri önemli enzim modelleridir (Buckhari, 2002).

Sulfametaoksazol, trimetoprim, 5 nitroimidazol, semikarbazidler antimikrobiyal özellikleri bilinen Schiff bazına sahip moleküllerdir (Dökmeci, 2000, Hornback, 2006).

Sulfametaoksazol, sulfanomid grubu ilaçlardan olup paraminobenzoik asitten (PABA) folik asit sentezlenmesinde dihidropteroat sentetaz enzim basamağını inhibe eder (Dökmeci, 2000). DNA ve RNA sentezi için gerekli olan folik asit sentezinin bloklanması DNA ve RNA sentezini durdurur (Dökmeci, 2000). Bu yüzden bu grup ilaçlar bakteriyostatik ilaçlar olarak sınıflandırılırlar (Buckhari, 2002). Bu madde gram pozitif koklardan *Pneumococcus streptococcus*, *Staphlococcus sp.*, gram negatif koklardan *Meningococcus sp.*, gram pozitif basillerden *Clostridium sp.*, şarbon ve difteri basili gram negatif basiller *Haemophilus ducreii* ve *H.influenza*, *Brucella*,

Shigella, *Klebsiella pneumoniae*, *Pastreurella pestis*, *Actinomyces bovis* ve *A. humanise* karşı etkilidir (Dökmeci, 2000).

Trimetoprim, diaminopirimidin grubu ilaçlardandır. Bu ilaçlar mikroorganizmaların folik asit sentezinde dihidrofolat redüktaz enzimini spesifik olarak inhibe ederler. Bakteriler tarafından dihidropteroat sentezinin artmasıyla sağlanan dirence karşılık sülfanomidler ile birlikte sağlanan kombinasyonlar sayesinde iki basamaklı bir inhibisyon sağlanır (Dökmeci, 2000). Bu kombinasyon ko-trimoksazol olarak isimlendirilir ve trimetoprim ile aynı antibakteriyel spektruma sahiptir fakat kombinasyonlarının sinerjistik etkilerinde dolayı bir dirençle karşılaşmaz. Ko-trimeksoazol idrar yolu enfeksiyonları rahatsızlıklarında kullanılır. Gastrointestinal yoldan hızla absorblanır (Buckhari, 2002). Kotrimaksazol tedavide başlıca üriner solunum yolları ve gastrointestinal enfeksiyonlarda kullanılmaktadır. Menenjit septisemi ve endokartit gibi ağır enfeksiyonlarda kotrimaksazol öncelikli antibiyotik olmamakla beraber birlikte kullanıldığında yararlı sonuçlar alınabilmektedir. Günümüzde *Pneumocystis carini*'nin pulmoner enfeksiyonları tedavisinde kotrimaksazol öncelikli ilaçtır (Dökmeci, 2000).

5 nitro imidazoller bir *Streptomyces* cinsinden elde edilen azomisin çıkışlı yarı sentetik, suda çözünür ve iyi absorbe olan ve bakterisitik özellikte antibiyotiktir. 5 nitro imidazollerin etkinliği nitro grubunun redüksiyonudur. Bu ilaçlarda redüksiyona uğrayan grup elektron tuzağı gibi görev yapar. Piruvat ferrodoksin oksiredüktaz enziminin etkisiyle bakteri hücrelerinde ferrodoksin dönüştürülebildikleri gibi flavadoksin tipi moleküller tarafından redüksiyona uğratarak aktif metabolitleri olan süperoksit anyonlara ve radikal nitro atomuna çevrilebilirler. Bu aktif metabolitler bakterilerin ya da protozoonların DNA'sını ya da diğer moleküllerini bozarak hücre ölümüne sebep olurlar. Buna karşın bu enzimden yoksun aneoroplarda doğal olarak 5 nitro imidazole dirençlidir (Dökmeci, 2000).

Birçok araştırmacı Schiff bazlarının sentezleme, karakterleme ve yapı aktivite ilişkilerini çalışmıştır. Aromatik halkada bir veya daha fazla halo atom içeren Salisilaldehit türevlerinin antibakteriyel ve antifungal etkileri vardır. 4-klor-2-((4-florobenzilimino)-metil)fenol Schiff bazı maddesinin *Bacillus subtilis*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas fluorescense* ve *Staphylococcus aureus* bakterilerine karşı ve *Aspergillus niger* fungusuna karşı olumlu sonuçlar verdiği bilinmektedir (Shi, 2007).

Polimerik schiff bazlarının antitümör aktiviteye sahip olduğu rapor edilmiştir. Schiff bazlarının en yüksek hidroliz derecesi pH 5 dir ve su içerisindeki en yüksek çözünürlüğü yine bu seviyededir. Assitik tümöre karşı antitümör aktivitesinin temeli su içerisinde çözünürlüğün önemli ölçüde artmasıyla artacaktır (Buckhari, 2002).

Hidroksiguanidin ve tiyosemikarbozon bileşikleri ribonükleotid redüktaz inhibitörleridir. Ribonükleotid redüktaz (RR) ribonükleotidlerin deoksiribonükleotidlere indirgeyen ve bölünen hücrelerde DNA'nın de novo sentezini gerçekleştiren anahtar enzimdir. Tümör oluşumu ile ilgili RR aktivitesi antikanser ilaçların geliştirilmesinde önemli bir hedeftir. Bu aktif bileşiklerin bazılarının in vivo antikanser aktiviteleri ve klinik potansiyelleri mevcuttur (Lien, 1997, Ren, 2002).

Tiyosemikarbazon ve türevleri; antiviral, antimalarial, antifungal ve antibakteriyal özelliklerinden dolayı birçok hastalıkta tedavi edici olarak kullanılmaktadır. Ayrıca antitiroid aktivite gösterdikleri de belirtilmektedir (Karataş, 2009).

P-aminosalisik asitten türevlenen Schiff bazlarının, *Mycobacteria sp.* üzerinde antitüberküler özellik sergilediği bilinmektedir. Saprofitik bakterilerde ekzoselin ve patojenlerde karboksimikobaktin isimli siderofor olarak bilinen özel bileşikler bulunur. Bu bileşiklerden mikobaktin, Mycobakterilerin gelişiminde hücre sitoplazması içerisindeki demirin yavaş salınımını düzenler ve hücrelerde çeşitli demir içeren proteinlerin sentezinde etkili olur. Demir eksikliğinde salisilik asit makrofajlarda *M. tuberculosis*'in büyümesi için gerekli olan mikobaktin ve karboksimikobaktin öncülüdür. P-aminosalisik asit antisalasilat olarak davranarak salisik asitin, karboksimikotin ve mikobaktine dönüşmesini engeller. Böylelikle *Mycobacteria sp.* çoğalmasına mani olur (Patole, 2006).

Kinolin ve türevleri kömür katranı, kemik yağı ve yağ şisti ve bitki alkoloitlerinden elde edilir ve kimyasal endüstride çözücü ve ara bileşen olarak kullanılır. Kinolin türevleri antiameobik, antikoksidal, antifungal, antikanser ve antiviral aktiviteler gösterir (Shukla, 1986, Via, 2008). Kinolinin mısır ve yulaf için nitrojen kaynağı olduğu da rapor edilmiştir (Shukla, 1986).

Malarya etkeni konukçu eritrositleri enfekte ederek asidik vakuoller içerisinde hemoglobini sindirip degrade eder. Ortama salınan hem parazit için toksiktir ve çözülemez hemotin veya hemozin olarak isimlendirilen malarya pigmentine

dönüştürülür. Kinolinin antimalaryal ilaç olarak etkisinin nasıl gerçekleştiği tam olarak açıklanmasa da bu ilaçların ya besin vakuolündeki pH'ı yükselterek toksik etkileri sebebiyle organizmayı öldürdüğü ya da hemozin formasyonunu önlemek amacıyla hem polimeraz enzimini inhibe ettiği düşünülür. Antimalaryal kinolin bileşiklerinin hematinin inhibe ederek eritrosit içerisindeki malarya etkenine karşı etkili ilaçların hem komplekslerini basitleştirdiği ve hematin polimerizasyonunu önlediği muhtemeldir (Egan, 1994).

8-hidroksikinolin antiamaebik, anti kanser, antileismanial ve antifungal etkileri gibi biyolojik özelliklerinden dolayı büyük ilgi toplamıştır. Mayalarda özellikle RNA sentezini engeller 8-hidroksikinolinin demir bağlayan lipofilik şelatörleri kültüre edilmiş insan akciğer hücrelerinde DNA zincir kırıklarının oluşumuna sebep olmuştur. 8-hidroksikinolin metal şelatlama yeteneği metabolizma için önemlidir. 8-hidroksikinolin şelatlarının lipit çözünürlüklerinden dolayı biyolojik aktiviteleri karşılaştırılabilir. Komplekslerin aktiviteleri, lipit çözünürlükleri ve 8-hidroksikinolin komplekslerinin enzimlerin metal bağlayıcı bölgeleri ile bağlanıp toksik etki göstermesi bu bileşiğin hücre duvarından geçişi sayesinde olduğu düşünülmektedir (Patel, 2011).

Hidroksikinolin türevlerinin herbisit etkileri bulunmaktadır. Fotosistem II kompleksleri suyu oksitlemek için ışık enerjisini kullanır ve plastokinona indirger. Herbisitlerin plastokinona bağlanması fotosistem II klorofil a dan klorofil b ye elektron transferini engeller. Bu sebeple fotosistem II'nin klorofil b kinon bağlayıcı bölgesi hidroksikinolin türevleri için önemli bir hedef bölgesidir. 8-hidroksikinolinden türevlenen bileşiklerin potansiyel HIV-I integras inhibitörü olduğu da bilinmektedir (Jampilek, 2006).

Bazı kinolin türevlerinin antiproliferatif etkileri bilinmektedir. Bu bileşikler DNA ile interkalatif kompleks oluşturarak, DNA topoizomeraz II'yi inhibe ederek ve G₂/M fazında hücre döngüsünü bloke ederek etki gösterirler. Bu sebeple bu bileşiklerin melanoma ve prostat hücrelerinden kökenlenen tümör hücre hatlarına karşı sitotoksik etki gösterdiği bilinmektedir (Via, 2008).

2.2. Genetik Toksikite

Genetik toksikolojinin konusu hücrelerde meydana gelen DNA ve kromozom hasarıdır (Zeiger, 2001). Bir organizmanın genetik yapısında daimi bir farklılaşma oluşturan maddelere genel olarak *-genetik zehirler-* denir (Vural, 2005). Genetik toksisitenin araştırılması ile genetik zehrin kimyasalın yapısı ve etkileri belirlenir (Zeiger, 2001). Genetik zehir, gonadların gamet hücrelerini etkilediği takdirde ya gametlerin sayıca değişmesine veya gametlerdeki genetik bilgiyi (informasyonu) değiştirmesine sebep olur. Böylece iki ayrı cinsiyete ait gametlerin birleşmesiyle oluşan zigot yaşamını sürdürürse anne ve babadan farklı döller meydana gelir. Mutasyonlar vücut doku hücrelerinde gerçekleşirse gelecek nesillere geçmez (Vural, 2005). Bu durum daha çok karsinogenez olayında rol oynar (Zeiger, 2001, Vural 2005). DNA ile etkileşen (DNA-aktif) maddeler elektrofilik özellikte olup genotoksik karsinojenler adını alır. Bu maddeler DNA veya genetik ekspresyonu geri dönüşümsüz olarak etkileyerek kalıtsal bir değişime yol açarlar. Bu nedenle genotoksik karsinojenler birçok araştırmalarla da gösterildiği gibi aynı zamanda mutajenik maddelerdir (Vural, 2005).

Genotoksik karsinojenler, primer karsinojenler veya sekonder karsinojenler olmak üzere iki alt sınıfa bölünmektedir. Ortak bir kimyasal yapısı olmayan ve organizma içerisinde biyotransformasyona uğramadan aktif veya nonenzimatik bir yolla kuvvetli elektrofilik özellik kazanarak dokuların makromolekülleri ile kovalent bağ oluşturan organik bileşiklere primer organik karsinojenler adı verilir. Bu tür moleküllere alkilendirici ajanlar, kükürtlü ve azotlu hardal gazları örnektir. Birçok karsinojen ise karsinojenik etkilerini biyoaktivasyonla kazanır. Bu tür özellik gösteren karsinojenlere sekonder karsinojenler adı verilir (Vural, 2005).

Genetik zehirler, hücreleri üzerindeki etkilerine göre sitotoksik, sitostatik ve mutajenik etkenler olmak üzere sınıflandırılabilir (Vural, 2005).

Sitotoksik maddeler, hücreleri anoksi, protein koagülasyonu veya membran permeabilitesinin artmasına neden olarak öldürürler. Genlerdeki DNA üzerindeki değişimler ise "*genelokus mutasyonu*" olarak isimlendirilir. Bu olaya "mutajenesiz",

mutasyona uğrayan türe de "mutant" denir. Sitostatik etki, daha çok kromozom yapısı ve sayısındaki değişmelerdir. (Vural, 2005). Bu anomalilikler fiziksel veya kimyasal mutajenler vasıtasıyla meydana gelebilir (Natarajan, 2002).

Bu mutajenler etkilerini DNA'ya bağlanarak meydana getirerek veya serbest radikallerinin DNA kırıklarının oluşumuna sebep olarak gösterebilirler (Zeiger, 2001). İyonize radyasyon gibi fiziksel ajanlar G1 fazında kromozom tip anomalilikleri, G2 fazında ise kromatid tip anomalilikleri artırmakta, en fazla etkiye ise S fazında sebep olmaktadır. Bleomisin ve neokarsinostatin gibi radyomimetik kimyasallar da iyonize radyasyon ile benzer anomalilikleri indüklemektedir. DNA zincir kırıklarına direkt sebep olmayan fakat diğer lezyonlara sebep olan kimyasal mutajenler genetik materyalin hangi sentez aşamasında olduğuna bağlı olmaksızın sadece kromatid tip anormalliklere sebep olmaktadır. Diğer anomaliliklerin meydana gelebilmesi için hücrenin S fazını geçirmesi gerekmektedir. Kısa boylu UV ışınları ise kimyasallarla aynı yollarla anomalilikler meydana getirmektedir. Bu sebeple kromozom kıran ajanlar S fazına bağımlı ve S fazına bağı olmayan olarak ikiye gruplandırılır (Natarajan, 2002).

2.2.1. Kromozomal mutasyonlar

Genom, kromozom yapısındaki değişiklikler veya bir hücre içerisindeki sayı değişimleri vasıtasıyla yeniden düzenlenebilmektedir. Bu değişiklikler gen mutasyonlarından farklı olarak kromozomal mutasyonlar olarak isimlendirilen mutasyonlardır. Gen mutasyonları bir gen içerisindeki mutasyonlar olarak tanımlanırken kromozom mutasyonları çoklu gen bölgelerinde meydana gelir. Kromozom mutasyonları mikroskobik incelemelerde veya genetik analizlerle veya her iki yolla da incelenebilir. Kromozom mutasyonları genomik ölçüde genlerin birbiriyle nasıl etkileşim halinde olduğunun anlaşılması, mayoz ve kromozom yapısının önemli karakterlerini ortaya koyması, organizmal fonksiyonlarda ve hücrelerinde anomalilikler meydana getirmesi sebebiyle biyolojik açıdan birçok öneme sahiptir (Klug ve Cummings, 2003). Kromozom mutasyonları sayısal kromozom mutasyonları ve yapısal kromozom mutasyonları başlıkları adı altında incelenir (Karol ve Suludere, 1992).

Kromozom sayısındaki değişiklikler kromozomların ayrılmaması sonucu ortaya çıkan değişikliklerdir. Kromozom sayısındaki çeşitlilik bir ya da daha fazla haploit kromozom takımının ilavesi veya kaybına kadar değişkenlik gösterir. Kromozom sayısındaki değişiklikler anöplodi veya öpoliplodidi durumda kendini ifade eder. Anöplodi organizmanın tam bir kromozom takımını değil bir ya da birden fazla kromozomu kazanması veya kaybetmesi durumudur (Klug ve Cummings, 2003). Anöplodi, monosomi, nullisomi veya polisomi olarak üçe ayrılır. Monosomi diploit bir bireydeki tek bir kromozom eksilme olayıdır. Böyle bir birey ayrılmama durumu gerçekleşmiş bir kromozomla normal bir gametin birleşmesi sonucunda meydana gelir. Monosomik bireyler genellikle yaşayamazlar fakat insanlarda XO durumu olan Turner sendromlu bireyler hayatlarını sürdürür. Nullisomi bir canlıda bir kromozomun homoloğu ile beraber eksik olması olayıdır. Böyle diploit bireyler $2n-2$ ile gösterilir. Nullisomik bireyler ayrılmama olayı ile meydana gelmiş iki gametin birleşmesi ile meydana gelir. Polisomi kromozomlardan birinin veya bir kaçının yükselmesi olayıdır. Trisomi ve tetrasomi gibi çeşitleri vardır (Kuru ve Ergene, 2011).

Trisomi diploit bir bireyde kromozomlarından bir tanesinin fazla olması durumu iken tetrasomi ise dört defa bulunması durumudur. Hiperploidi polisomi olayının yüksek katsayılı poliplodilerde görülen şeklidir. Hipoplodi yüksek katsayılı poliploidlerde bir takımındaki kromozomlardan yalnız bir tanesi değerine nazaran daha azdır (Kuru ve Ergene, 2011). Poliplodinin oluşum mekanizmaları daha az bilirse de anoplodidi mitotik iğ ipliklerinin zarar görmesi, hücre fizyolojisindeki değişimler ve kromozomal alt yapıların zarar görmesi sonucunda medya gelebilir (Albertini, 2000).

Kromozomal yapısal anomalilikleri; delesyon, dublikasyon, translokasyon ve inversiyon şeklinde karşımıza çıkar. Kromozomlarda meydana gelen kırılmalar kromatid ve kromozom kırığı, kardeş kromatid birleşmesi, disentirik kromozom oluşumu, halka kromozom, asentrik fragment, izokromozom oluşumu gibi çeşitli anomalilere sebep olur. Homolog kromozomların eşleşme göstermesi ile delesyon, dublikasyon, insersiyon olayları neticesinde kompensasyon halkası, inversiyon sonucunda inversiyon halkası ve translokasyon olayı sonucunda da quadrivalent denilen haç görüntüsü oluşur. Mitoz ya da mayoz bölünmenin metafaz safhasında bu

değişimler gözlenebilir (Klug ve Cummings, 2003). Yapısal kromozom anomalilikleri direk DNA kırılmaları, hasar görmüş DNA'nın replikasyonu, DNA sentezinin inhibisyonu gibi olaylarla sonuçlanabilir (Albertini, 2000).

Kromozomal anomalilikler ile insanlarda meydana gelen yeni doğan anomalilikleri ve neoplasia gibi rahatsızlıkları arasında ilişki kurulmaktadır. Canlılarda kendiliğinden kromozomal anomalilik meydana gelme oranı % 0.6'dır. Fakat canlı düşüklerinin %50'sinin kromozomal anomaliliğe sahip olduğu gözlenmektedir (Natarajan, 2002). Kromozomal değişmeler teratojenesis (embriyo ölümü), infertilite (kısırlık) gibi zararlara neden olur (Vural, 2005). Ataxia telegiactesia, Fanconi anemisi ve Bloom sendromu gibi birçok resesif hastalık artan kromozomal karasızlıklar sebebiyle oluşmaktadır. İnsan periferal lenfositlerinde meydana gelen kromozomal anomalilik frekansı ile kanser başlangıcı arasında pozitif bir korelasyon bulunmuştur. Bu gözlemler kromozom anomaliliklerinin kökeninin anlaşılmasının önemini göstermektedir (Natarajan, 2002).

2.2.2. Genotoksisite testleri

İnsan popülasyonlarındaki genetik bütünlüğün sınırları, endüstriyel aktiviteler sebebiyle oluşan kimyasal ve fiziksel genotoksinlere maruziyet sonucunda tehdit altındadır. Yaşama faktörleri, çeşitli tıbbi terapiler ve atmosferik ozonun incelmelerinden kaynaklı ultraviyole radyasyona maruziyetin artması sonucunda oluşan iklim değişiklikleri gibi diğer faktörler genetik zararı tetikler. Bu sebeple genotoksisite testleri, insan popülasyonlarındaki kabul edilebilir genetik zarar seviyesinin değerlendirilmesinde, belirli genotoksinlere aşırı duyarlılığı bulunan kişilerin belirlenmesinde, büyük bir kaza sonucunda popülasyondaki genetik zarar artışının açıklanmasında, rutin olarak zararlı seviyelerde ajanlara maruz kalan kişilerin izlenmesinde ve çevreye salınan yeni kimyasalların izlenmesinde önemlidir (Fenech, 1993). Genotoksisite testleri esas olarak kanserden korunmada, çevresel etkenlerin (UV, radyasyon), endüstriyel kimyasalların etkisini araştırmada, ilaçların piyasaya sürülmeden önce toksik etkilerini ve güvenilirliğini araştırmada kullanılmaktadır (Bedir, 2004). Spesifik ajanlara maruziyeti belirleyen ve mutajenik olaylara bağlı ölçülerin değerlendirmesini sağlayan bir çok sitogenetik teknik geliştirilmiştir (Fenech, 1993).

Günümüzde genotoksisite tayinlerinde farklı yöntemler kullanılmaktadır. Genetik toksikolojide kullanılan testler nükleotid değişimlerinin belirlenmesini amaçlayan gen mutasyon testleri; DNA bağlanmaları, DNA oranının stimülasyonu, DNA zincir kırılmaları ve kardeş kromatid değişimi gibi DNA etkileşimlerinin araştırılan primer DNA hasarı testleri; hedef hücrelerde tümorojenik aktivite ile ilgili morfolojik değişimleri araştırılan morfolojik dönüşüm testleri; normal karyotipte yapısal ve sayısal değişimlerin araştırılmasını sağlayan kromozom değişim testleri, olarak dört grupta toplanır. Her grup içinde, kullanılan biyolojik sistem ve uygulama şekline göre birçok testler bulunmaktadır (Vural, 2005).

Ames Salmonella/microsome testi gen mutasyonlarının izlenmesinde ve karsinojenitenin belirlenmesinde çok kullanılan kısa süreli bir mikrobiyal mutajenite testidir (Margoli, 1989, Vural, 2005). Ames testi oksotrofik ve prototrofik *Salmonella typhimurium* suşları kullanılarak uygulanır. Prototrofik suşlar bakterilerin büyümesi için gerekli olan histidin aminoasidini sentezleyebilme kapasitesine sahiptir fakat oksotrofik suşların yaşayabilmeleri için dışarıdan ortama histidin takviyesi gerekmektedir. Oksotrofik suşlar spontan olarak veya bir mutajen vasıtasıyla geri mutasyona uğradıkları zaman dışarıdan histidin ilavesine gerek duymazlar. Böyle bir durumda minimal histidin içeren petri kapları üzerinde hücre bölünmesi vasıtasıyla koloniler gözlenir. Diğer oksotroflar minimal histidin içeren ortamda birkaç kez bölünebilmelerine karşın ortamdaki histidin tükendiği için koloni oluşturamazlar. Ames testinde sonuç genellikle deneysel bir plakta görülebilir koloni sayısı ile elde edilir. Ames testi üç tekrarlıdır ve kontrol dozları ile birlikte bir testte test maddesinin aralıklı olarak dört veya beş dozu bulunur (Margoli, 1989).

Protokolün gelişmesi ile birlikte S9 karaciğer enzimleri ile birleştirilmesi bu sistemlerin insanlardaki kimyasalların metabolik dönüşümleri gerçekleştirmesi sağlanmış olmaktadır. Böylelikle test kimyasallarının ve metabolitlerinin mikroorganizmalarda meydana getirdiği genetik zararı artırma yeteneği izlenmiş olmaktadır. Genel olarak mikroorganizmalarda genetik zarara sebep olan maddelerin insan genomu için de benzer etkilere sahip olacağı düşünülmektedir (Margoli, 1989).

DNA zararını belirlemek için kullanılan en elverişli tekniklerden biri primer DNA hasarını belirleyen Comet testidir. Bu test Östling ve Johanson tarafından 1984 yılında temel hücre seviyesinde DNA zararını belirlemek amacıyla geliştirilmiştir. Bu test hücre içerisindeki tek ve çift zincir kırıklarını tespit eder (Tice, 2000).

Bu teknikte hücreler veya çekirdekler lameller üzerine yayılarak agoroz içerisine gömülür, lizise uğrattılır ve alkalın veya nötral tamponlar altında elektroforeze uğrattılır (Tice, 2000; Dhawan ve Anderson, 2009). Bu lameller EtBr veya YoYo-1 boyları gibi DNA spesifik boyları ile boyandıktan sonra mikroskop altında incelenmeye alınır. Proteinaz K ve RNaz uygulaması çekirdek DNA'sının proteinler ve RNA'dan ayrılmasına yardımcı olur ve zincir kırıklarının belirlenmesini sağlar. Bu koşullar altında DNA'nın negatif yüklenmiş kırık uçlarının hücreden anot kutbuna doğru göçü zincir kırıklarının boyutuyla orantılıdır.

Bu metot genetik toksikolojisi açısından sağlık ve çevre alanlarında DNA onarım süreçlerinin izlenmesi amacıyla kullanılan en temel metotlardan biridir (Dhawan ve Anderson, 2009).

Kardeş kromatid değişimi (KKD) homolog kromozom lokuslarındaki DNA replikasyon ürünlerinin kendi aralarında değişimini kapsar. Bu değişimler DNA kırıklarından ve bu kırıkların yeniden birleşmelerinden kaynaklanır. KKD analizleri DNA değişimlerinin sitolojik olarak belirlenmesini sağlar (Wilson, 2007).

KKD ilk olarak Taylor tarafından bitki hücrelerinde zayıf sonuçlar veren tritium ve otoradyografi kullanılarak görüntülenmiştir (Taylor, 1958). Daha sonraları KKD gözlenmesinde otoradyografi tekniğinden daha kullanışlı olan BrdU boyama tekniğinin gelişmesiyle daha iyi sonuçlar elde edilmiştir (Latt, 1980). Bu yöntemde BrdU DNA baz analogu olarak kullanılır ve Hoechst 33258 boyası ile boyanarak kardeş kromatidler arasındaki değişimlerin ortaya çıkması sağlanır. BrdU timin bazına çok benzer ve DNA sentezi sırasında bu bazın yerine geçer BrdU bulunan ortamda büyüme esnasında iki kardeş kromatid birbirinden farklılaşır. Bu ipliklerden bir tanesi orijinal ipliktedir ve boylarla koyu renk boyanır diğeri ise BrdU içeren ipliktedir ve bu iplik daha açık renkli boyanır (Wilson, 2007). KKD testleri

karsinojenite çalışmalarında ve DNA tamir hasarlarından kaynaklı genetik hastalıkların tespitinde de kullanılmaktadır (Latt, 1980).

2.2.2.1. Kromozom anomalilikleri testi

Kromozom anomaliliği (KA) testi ile kimyasal maddelerin genotoksik etkilerinin belirlenmesinde daha çok kromatid kırığı, kromotid gap ve kromozom kırığı gibi aberasyon çeşitlerinin anormal hücre yüzdesi veya hücre başına düşen anomalilik sayısı oranları hesaplanarak araştırılır (Zeiger, 2001). Bu testlerin ilk denemeleri Leva (1951)'nın ve Sax ve Sax (1966)'ın içerisinde test kimyasalları bulunan nemli kağıtlar bulunan petri kaplarında soğan kök uçlarını çimlendirerek yaptıkları çalışmalarıdır. Bu çalışmalarda anafazda meydana gelen kromozom ve kromatit kırıklarının ve köprülerinin tespiti ile test materyalinin toksisitesi belirlenmiştir. Natarajan ve ark. (1976) bir maddenin karsinojen olup olmadığını %70 oranında doğru tespit eden bir sitogenetik çalışma yayınlayarak Çin hamster hücrelerinde kromozom anomalilikleri ve kardeş kromatid değişimleri gözlemlemişlerdir. 1983 yılında S9 kullanımı hakkında yönergeler içeren ilk OECD rehberi yayınlanmıştır. Bu yönergeler test ve zamanlama çalışmalarının üst limitlerini tanımlamak için önemli bir yayın olmasına karşın bu zamanda yapılan ilk protokoller iyi geliştirilememiştir. 1983 yılında OECD rehberi yeniden düzenlenmiş ve yine aynı yıl Birleşik Krallık Çevresel Mutajenite birliği kendi önerilerini yayınlamıştır (Kirkland, 1998).

Günümüz KA çalışmalarında periferik lenfositler indüklenmiş KA'yı gösterebilme yeteneği ve bazı kimyasalların biyotransformasyonlarını içeren kalıtsal metabolik aktiviteleri sebebiyle yaygın olarak kullanılmaktadır (Kirkland, 1998). Bu hücreler ayrıca doku kültüründe kolay çoğaltılabilir, kolay elde edilebilir ve test analizlerinde tüm vücuda dağılırlar (Tucker, 1996).

Kimyasal maddelerin birçoğu, hücreler DNA replikasyonunu tamamlarken etkisini gösterdiğinden kromozomal anomaliliklerin oluşumunu gözleyebilmek için, test aşamasında kimyasal madde uygulanmasından sonra geçen sürenin iyi ayarlanması gereklidir (Evans, 1976). Kimyasal maddenin uygulanmasıyla %50/%80 düzeyine

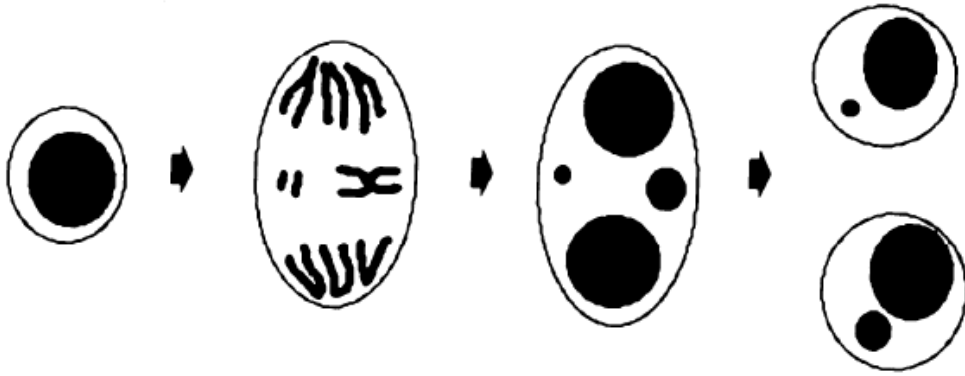
çıkan sitotoksosite sebebiyle hücrelerin muameleden sonra bir buçuk hücre döngüsü geçirmesi uygundur. Bu sebeple hücre döngüsü üzerinde etkileri bulunmayan test kimyasalları için muameleden 8-12 saat sonrasına yani ilk metafaz aşamasına kadar hücre kültürüne devam edilmelidir (Kirkland, 1998). Çoğalan hücreler, tubulin polimerizasyonunu bozan Colcemid veya kolşisin gibi maddeler sayesinde metafaz aşamasında tutulur. Bu evrede yapısal ve sayısal kromozom anormallikleri rahat gözlenebilmektedir (Albertini, 2000).

2.2.2.2. Mikronükleus testi

Mikronükleuslar hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan ve kardeş çekirdek oluşumuna dahil olmayan, tam kromozom veya asentrik kromozom fragmentlerinden köken alan oluşumlardır (Şekil 2.2)(Fenech, 1993, Demirel ve Zamani, 2002). Bu oluşumlar spontan olarak veya genotoksik ajanlara maruz kalınması sonucunda meydana gelir. Fiziksel veya kimyasal özelliklere sahip olabilen genotoksik ajanlar etkilerini gösterdikleri hücrelerde klastojenik veya anöjenik tahripler meydana getirir (Yılmaz, 2008).

Anöjenik etki gösteren ajanlar kinetokor proteinlerinde, iğ iplikçiklerinde ve sentromerlerde fonksiyon bozukluklarına yol açarak eşit olmayan kromozom dağılımı veya anafazda bir kromozomun bütünüyle yok olmasına neden olurlar. Klastojenik etki gösteren ajanlar ise DNA kırıklarına sebep olarak asentrik kromozom fragmentlerinin oluşumunda rol oynarlar. Bu nedenle mikronükleus testi hücrelerde hem anöjenik hem klastojenik etkilerin bir arada değerlendirilmesine olanak veren bir biyomarkerdir (Fenech, 1993).

İnsan hücrelerinde DNA hasarlarının kromozom seviyesinde güvenilir olarak değerlendirilmesini sağlayan mikronükleus yöntemi çok sık bir biçimde kullanılmaktadır (Fenech, 1993).



Şekil 2.2. Mikronükleusun klastojenik veya anöjenik etkilerle meydana gelişi (Fenech 1993)

Mikronükleus testi 1950'lerde bitki hücrelerinde kromozom hasarının ölçülmesinde, 1970'lerde hayvan hücrelerinde ve daha sonra Haddle ve arkadaşları tarafından kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kimyasal karsinojenlerin belirlenmesine yönelik bir test olarak kullanılmaya başlanmıştır (Demirel ve Zamani, 2002). Kültüre alınmış hücrelerde bölünmenin gerçekleştiğini saptamak güç olduğundan kabul görmesi yavaş olmuştur. 1985'de Fenech ve Morley tarafından mikronükleus yönteminde sitokinezi durdurmak üzere sitokalsin B (CytB) adlı kimyasalın kullanılmasıyla ilk bölünmesini geçirmiş mitotik hücrelerin iki çekirdekli görüntülerinin tanınabilmesi bu sorunu çözmüştür. Bu metot küf mantarlarının metabolitlerinden biri olan CytB ile mitoz geçiren hücrelerde sitokinezi durdurma esasına dayanmaktadır (Demirel ve Zamani, 2002, Türkez, 2007). Plazma membranında bulunan yüksek moleküler ağırlığa sahip bazı kompleksler aktin polimerizasyonunu ve dolayısıyla mikrofilamentlerin bir araya geliş sürecini tetikler. Mikrofilamentlerin bir araya gelmesi sitokinezin başlangıcı demektir. CytB mikrofilament aktivitesini inhibe eder (Türkez, 2007). CytB'nin kullanılmasıyla sitoplazma bölünmesi tamamlanamazken karyokinez gerçekleşir ve iki çekirdekli hücreler oluşur (Fenech, 1993, Yılmaz, 2008). Mitozun anafazında iğ ipliklerine bağlanamamış kromozomlar ve asentrik kromatitler kutuplara çekilemez ve bu yapılar aynı sitoplazma içerisinde nükleustan ayrı olarak membranla çevrili bir yapı oluşturur (Yılmaz, 2008). Bu yapıların sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu genotoksik etkilerin bir göstergesidir (Korkmaz, 2005).

2.3. Schiff Bazları Üzerine Yapılan Genotoksik Çalışmalar

İlk kez 1864 yılında Alman kimyacı H. Schiff tarafından elde edilen Schiff bazları 1930 yılında Pferiffer tarafından ligand olarak kullanılmıştır (Turan, 2003). Schiff bazlarının antimikrobiyal, antifungal, antitumoral, antitubercular gibi biyolojik özelliklerini araştırılmasının yanı sıra bu bileşiklerin toksik özelliklerini içeren çalışmalar da mevcuttur.

Dillion ve ark. (2000) tarafından $[\text{Cr}(\text{salen})(\text{OH}_2)_2]^+$ ve $\text{cis}-[\text{Cr}(\text{phen})_2(\text{OH}_2)_2]^{3+}$ imin kompleksleri ile yapılan bir çalışmada in vitro olarak MN oranını 13.6 ve 3.3 MN/1000 BN hücre/ μmol Cr olarak artırdığı bulunmuş ve bu bileşiklerin yüksek genotoksik özellikleri bulunduğu rapor edilmiştir.

Vijayalakshmi ve ark.'nın (2000) yaptığı bir çalışmada Cr içerikli Schiff bazlarının dana timus DNA'sı üzerine etkileri araştırılmıştır. Bu komplekslerin timusdan elde edilen DNA'nın on bazlık bölgesini absorblama yeteneğinde olduğu, basit zincir plazmit DNA'sını ise parçaladığı bildirilmiştir.

Vaidyanathan ve ark (2005) ve Sabolova ve ark. (2010) bu yayına benzer yaptıkları çalışmalarda Cr komplekslerinin dana timus DNA'sı üzerinde hasar oluşturduğunu yinelemişlerdir.

İspir ve ark. (2008) farklı Schiff bazı ligandları ve bunların metal komplekslerinin genotoksik etkilerini Ames testi *Salmonella typhimurium* bakterisi TA 98 ve TA 100 suşları üzerinde çalışmışlar ve mutajenik etkilerinin olduğunu ortaya koymuşlardır.

Tümer ve ark. (2008) H_2L_1 , H_2L_2 ve H_2L_3 schiff bazlı ligandlarının ve onların Schiff bazlı CoII, FeIII, RuIII komplekslerini sentezleyerek *Salmonella typhimurium* TA 98 ve TA 100 suşlarında S9 enzimleri varlığında ve yokluğunda çalışmışlar ve bu ligandlardan H_2L_1 - H_2L_3 'ün TA 100 suşu H_2L_1 - H_2L_2 'nin TA 98 suşu üzerine mutajenik olduğunu fakat H_2L_3 'ün ise TA 100 suşu üzerinde etkisinin olmadığını tespit etmişlerdir.

Saleh ve ark. (2011) *N*-(8-kuinoil)salisilaldimin (HL¹) ve *N*-(8-kinoil)naphthaldimin (HL²) ligandlarından türevli Ni(II) ve Fe(III) Schiff bazı kompleksleri ile yaptıkları bir çalışmada bu bileşiklerin metal iyon şelatlama özelliğinden dolayı klastojenik olduğu ve rat kemik iliği hücrelerinde kromozom anomaliliklerini artırdığı saptamışlardır.

Kara ve ark. (2011) ONNO içerikli azometin ligandları ile ames testi üzerinde yaptığı çalışmada bu ligandların ve bunların metal komplekslerinin TA 98 ve TA 100 suşlarında muhtemel genotoksik olduğunu söylemişlerdir.

Eisha ve ark. (2004) sulfametaoksazolun insan periferal kan lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus testleri üzerinde denemişler ve her iki testte de 10 ile 500 µg/mL arasında klastojenik ve anöjenik olarak primer DNA hasarına sebep olduğunu, sitostatik ve sitotoksik etkilerinin olduğunu bildirmişlerdir

Ortiz ve ark. (2011) 48 saat kültüre ettikleri lenfositlerde 25 ila 100 µg/mL konsantrasyonlarda trimetoprim uygulamışlar ve bu maddenin kardeş kromatid değişimlerini ve mikronukleus sayısını artırdığını ve insan lenfositleri üzerinde genotoksik etkilerinin bulunduğunu rapor etmişlerdir.

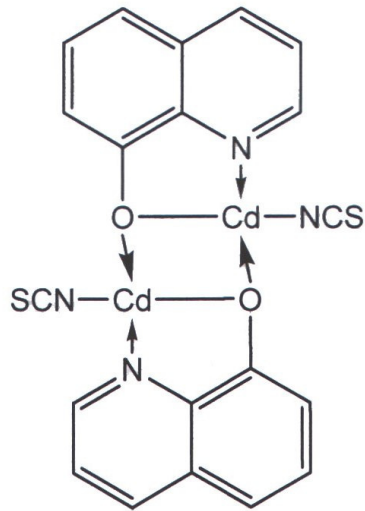
8-hidroksikinolinin genetik toksisitesi in vitro denemelerde uygulanmış ve nonkarsinojenik olarak bildirilmiştir (Paersh 2011).

BÖLÜM 3. MATERYAL VE METOT

3.1. Materyal

Bu araştırmada Cd içerikli Schif bazı di 8 hidrokşikinolin di tiyosiyanat [Cd(8-Q)₂ (SCN)₂] genotoksik etkilerini incelemek amacıyla insan periferik kan kültürü kullanılmıştır. Test materyali için kullanılacak olan periferik kan, sigara, alkol ve ilaç kullanmayan, herhangi bir sağlık problemi olmayan 24-25 yaşlarında iki bayan ve iki erkek donörden sağlanmıştır.

Test materyali olarak [Cd(8-Q)₂ (SCN)₂] etken maddesi Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Kimya Bölümü Organik Kimya laboratuvarında sentezlendikten sonra kullanılmıştır. [Cd(8-Q)₂ (SCN)₂]'ın kimyasal yapısı Şekil 3.1'de sunulmuştur.



Şekil 3.1. Cd(8Q)₂(SCN)₂ bileşiğinin kimyasal yapısı

Çalışmada kullanılan diğer maddeler; Mitomisin-C (A2190.0002) AppliChem'den , Kolkisin (Katolog No: C 9754) Sigma, Sitokalsin B (Katolog No: 14930-96-2), Heparin (Katolog No:100467411), Giemsa (Katolog No: 10920Cl), Etil alkol (Katolog No: 64-17-5) Kimetsan'dan, Metanol (Katolog No: 1.06008.2500), KCL (Katolog No: 104936) Asetik asit (Katalog No:1000562500) Merck'den, Kromozom medium B (Katolog No: F 5023), DPX (Katolog No: 44581) Biochrom'dan alınmıştır.

3.2. Metod

3.2.1. Kromozomal anormallik testi

Sağlıklı sigara içmeyen 24-25 yaşlarında iki bayan ve iki erkek donörden alınan periferik kan kullanılarak lenfosit kültürleri hazırlanmıştır. Bireylerden alınan 0,2 mL'lik periferik kanlar 1/10 oranında heparinize edilerek, steril şartlarda 2,5 mL'lik besiyerine (Kromozom medium B) ekilmiştir. Bu işlem sonunda kültür tüpleri, 37 °C'deki inkübatörde 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kültür süresinin başlangıcından 24 ve 48 saat sonra $[Cd(8-Q)_2 (SCN)_2]$ bileşiğinin önceden belirlenmiş olan 1, 2, 4, 6, 8 µg/mL'lik dozları kültür ortamına ilave edilmiştir. Ayrıca bir pozitif (MMC, 0,20 µg/mL), bir negatif (distile su) ve birde çözücü kontrol (%50 DMF) kullanılmıştır. Daha sonra kültürün 70. saatinde her bir tüpe, 0,06 µg/mL olacak şekilde kolkisin çözeltisi ilave edilerek hücrelerin 2 saat boyunca inkübatörde kolkisin ile işleme tabi tutulması sağlanmıştır.

72 saatlik inkübasyon sonunda tüpler 1200 rpm'de (dakikadaki devir sayısı) 10 dakika santrifüj edildikten sonra üstte kalan sıvı (süpernatant) atılmıştır. Tüpün dibinde kalan ve hücreleri içeren 0,5-0,7 mL'lik kısmı vorteks yardımıyla iyice karıştırılarak homojen bir şekilde dağıtılmıştır. Daha sonra tüplere, her bir tüpe 5 mL olacak şekilde 37 °C'de bekletilen hipotonik solüsyondan (0,075 M KCl) vorteks üzerinde damla damla ilave edilmiştir. Tüpler 37 °C'de 30 dakika bekletilmiştir. Süre sonunda 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra, önceden hazırlanan ve buzdolabında soğutulan 3:1 oranında metanol:asetikasitten oluşan fiksatif, tüplere vorteks üzerinde damla damla her tüpe 5 mL olacak şekilde

ilave edilmiştir, ve buzdolabında 45 dakika bekletilen tüpler, süre sonunda 1200 rpm'de santrifüj edilmiş ve süpernatant kısmı atılmıştır. Fiksatifle yıkama işlemi 3 kez tekrarlanmıştır.

Son fiksasyondan sonra tüpün dibinde kalan 0,5-0,7 mL'lik çökelti pipetajla homojen hale getirilmiştir. Pastör pipetine çekilen çökelti, önceden 1N HNO₃ (Nitrik asit)'te temizlenmiş ve % 70'lik etil alkolde buzdolabında bekletilen nemli lamalar üzerine 15-20 cm yükseklikten farklı alanlara gelecek şekilde damlatılmıştır. Bu sayede hücrelerin patlatılmaları ve kromozomların dağılımları sağlanmıştır. Hazırladığımız bu preparatlar 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır.

3.2.2. Mikronukleus testi

Mikronukleus (MN) testi için, lenfosit kültürlerinin hazırlanması amacıyla sağlıklı, sigara içmeyen 24-25 yaşlarında iki bayan ve iki erkek bireyden alınan ve 1/10 oranında heparinize edilmiş 0,2 mL periferik kan, steril şartlarda 2,5 mL'lik besi yerine (Chromosome Medium B) ekilmiştir. Ekimi takiben tüpler, 37 °C'deki inkübatöre yerleştirilerek, burada 72 saat inkübasyona bırakılmıştır. Kültür süresinin başlangıcından 24 saat sonra (48 saat muamele olacak şekilde), Cd di 8-hidroksikinolin ditiyosiyanat 1, 2, 4, 6, 8 µg/mL'lik dozları kültür tüplerine ekilmiştir. Uygulamada bir negatif, bir pozitif kontrol (MMC, 0,20 µg/mL) ve bir çözücü kontrol (%50 DMF µg/mL) kullanılmıştır. Sitokinezi bloke etmek için, inkübasyonun 44. saatinde kültür ortamına 5,2 µg/mL olacak şekilde sitokalsin B ilave edilmiştir. Tüpler, inkübasyon süresi tamamlandığında 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve ardından üstte kalan süpernatant atılmıştır. Tüpün dibinde kalan ve hücreleri ihtiva eden 0,5-0,7 mL'lik kısmı vorteks yardımıyla homojenize edilmiştir. Sonraki aşamada tüplere, vorteks üzerinde her bir tüpe 5 mL olacak şekilde önceden hazırladığımız 4 °C'de bekletilen 0,075 M KCl hipotonik solüsyondan damla damla ilave edilmiş ve sonra tüpler buzdolabında 5 dakika bekletilmiştir. Süre bitiminde tüpler etüvden çıkarılarak, 1000 rpm'de 10 dakika santrifüj edilip süpernatant atılmıştır. Daha sonra tüplere, önceden buzdolabında soğutulan soğuk fiksatif (3:1 oranında metanol:asetik asit) yine her tüpe 5 mL olacak şekilde vorteks üzerinde damla damla ilave edilmiş ve buzdolabında 15 dakika

bekletilmiştir. Soğuk fiksatifle yıkama işlemi toplam üç kez gerçekleştirilmiş ve her fiksasyon işleminden sonra tüpler buzdolabında 5 dk bekletilmiştir.

Sitoplazmaların korunması amacıyla üçüncü fiksatife % 1'lik formaldehit eklenmiştir. Son santrifüj işleminden sonra tüplerdeki süpernatant atılmış, geriye tüpün dibinde kalan 0,5-0,7 mL'lik çökelti pipetaj yapılarak homojen hale getirilmiştir. Daha önceden 1 N HNO₃ (Nitrik asit)'te temizlenmiş ve % 70'lik etilalkolde buzdolabında bekletilen nemli lamlar üzerine, bu süspansiyon 10-15 cm yükseklikten pastör pipeti ile farklı alanlara damlatılarak yayılması sağlanmıştır. Hazırladığımız bu preparatlar 24 saat oda sıcaklığında kurumaya bırakılmışlardır.

3.2.3. Preparatların boyanması

Kromozomal anormallik ve mitotik indeks için; preparatlar kuruduktan sonra Sorensen tamponu ile hazırlanmış % 5'lik Giemsa ile (pH=6,8) 15-20 dakika, MN preparatları 13- 14 dakika boyama işlemi yapılmıştır. Giemsa boyasından çıkarılan preparatlar, saf sudan geçirilerek fazla boyanın akması sağlanmış ve dik bir şekilde kurumaya bırakılmıştır. Oda sıcaklığında kurutulan preparatlar, DPX ile daimi hale getirilmiş ve mikroskopik incelemeye alınmıştır.

3.2.4. Kromozom anormalliklerinin ve mitotik indeksin saptanması

Kromozom anormalliklerinin (KA) saptanmasında, her bir uygulama için kromozomları iyi dağılmış olan 100'er metafaz plağı (2 dişi ve 2 erkek toplam 400 metafaz) değerlendirilmiştir. İncelenen toplam hücre içindeki anormal hücrelerin yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom anormalliği sayısı belirlenmiştir. Mitotik indeksin (MI) saptanmasında ise; tüm uygulamalar için hazırlanan preparatlardan 3000'er hücre (2 dişi ve 2 erkek toplam 12000 hücre) değerlendirilmiştir. Mitotik indeks, bölünen hücre sayısının toplam hücre sayısına oranı yüzde cinsinden hesaplanarak belirlenmiştir.

3.2.5. Mikronükleus frekansı ve nükleer bölünme indeksi saptanması

Dişi ve erkek bireye ait her bir preparattan 1000 tane (toplam 4000 tane) binükleat hücre değerlendirilmiş ve hücre başına düşen MN sayısı (MN/hücre = MN frekansı) belirlenmiştir. Nükleer bölünme indeksinin belirlenmesinde ise, her bir donörden 500 hücre (2 dişi ve 2 erkek toplam 2000 hücre) değerlendirilmiştir. Hücreler 1, 2, 3, 4 çekirdekli hücreler şeklinde sayılmış nükleer bölünme indeksi $1x(1N)+2x(2N)+3x(3N)+4x(4N)/n$ (n incelenen toplam hücre sayısı) formülü ile hesaplanmıştır.

3.2.6. İstatistiksel analizler

Bu çalışmada, anormal hücre frekansı, hücre başına düşen kromozom anormalliği, mitotik indeks, mikronükleus frekansı, nükleer bölünme indeksi için doz-etki ilişkisini ortaya koymak amacıyla SPSS 20.0 bilgisayar programıyla regresyon analizi uygulanmıştır. Regresyon grafik çizimleri Microsoft Excell 2007 kullanılarak çizilmiştir.

Deney gruplarındaki kromozomal anormallikler, mitotik indeks, mikronükleus frekansının ve nükleer bölünme indeksinin kontrol grupları ile farklılık gösterip göstermediğinin belirlenmesinde z dağılım testi kullanılmıştır.

BÖLÜM 4. BULGULAR

4.1. Cd(8Q)₂(SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksi Uygulamasının Kromozom Anormallikleri ve Mitotik İndeks Üzerine Etkisi

Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 1, 2, 4, 6 ve 8 µg/mL'lik dozlarının insan lenfosit kültürüyle muamelesi sonucunda kromatid kırığı, fragment, kromozom kırığı disentirik kromozom, kromatid değişmesi ve endoreduplikasyon oluşumuna neden olduğu belirlenmiştir (Tablo 4.1, 4.2., Şekil 4.1- 4.3.). 24 saat ve 48 saat süreyle uygulanan analizler, anormal hücre yüzdesinin ve hücre başına düşen anormalliklerin, hem negatif hem de çözücü kontrole göre arttığını göstermiştir. 24 saat anormal hücre yüzdesinde ve hücre başına düşen anomalilikler 4 µg/mL dozdan itibaren istatistiksel olarak anlamlı bulunmuştur (Tablo 4.1). 48 saat süreyle uygulanan analizlerde ise anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik ise 2 µg/mL'lik dozundan sonra anlamlıdır (Tablo 4.2.). 48 saat süreyle 6 ve 8 µg/mL uygulanan dozlarda toksisite sebebiyle düşük oranda hücre bölünmesi olmuş ve sayım yapılamamıştır. 24 ve 48 saat süreyle uygulanan ilaç muamelesi sonucunda anormal hücre yüzdesinin ve hücre başına düşen anomalilik artışları doza bağlıdır. (Şekil 4.4-4.7) (24 saat sırasıyla r=0,96, r=0,96; 48 saat sırasıyla r=0,97, r=0,98)

Tablo 4.1 Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 24 saat Süre ile Uygulamasında *In vitro* İnsan Lenfosit Kültürlerinde Oluşturduğu Kromozom Anormallikler ve Mitotik İndeks

Test maddesi	Uygulama		Anomalilikler						Anormal Hücre±SH (%)	KA/Hücre ± SH*	Mitotik İndeks Süre (%)
	Süre	Doz	Ktk	Kzk	F	Dk	Ktd	Er			
Kontrol	24 saat	0,00 µg/ml	5	1					1,50±1,18	0,015±0,006	8,48±0,003
Çözücü Kontrol	24 saat	% 50 v/v	5	1					1,50±1,18	0,015±0,006	8,03±0,002
Pozitif Kontrol	24 saat	0,20 µg/ml	57	7	24	1	8		21,50±2,05	0,2425±0,214	3,31±0,002
Cd(8Q) ₂ (SCN) ₂	24 saat	1,00 µg/ml	8	2	3	1			3,25±1,68	0,035±0,009	7,28±0,002*+
		2,00 µg/ml	7	2	4	1			3,00±1,62	0,035±0,009	6,65±0,002*++
		4,00 µg/ml	17	2	17		1	1	6,50±2,19*++	0,095±0,014*++	5,55±0,002*++
		6,00 µg/ml	27	4	10	1			9,00±2,40*++	0,105±0,015*++	4,53±0,002*++
		8,00 µg/ml	26	3	18				8,75±2,38*++	0,1175±0,016*++	3,73±0,002*++

Anormal Hücre %'si ve KA/Hücre Değerlendirilmesinde her uygulanan dozda 400 metafaz hücre kromozomu incelenmiştir. MI için 12000 hücre sayılmıştır. Ktk: Kromatid kırığı, F: Fragment, Kzk: Kromozom kırığı, Dk: Disentrik kromozom, Kkb: Kardeş kromatidlerde birleşme, Ktd: Kromatidlerde değişme, KA: Kromozomal anormallik

*Kontrolle göre p<0.001

+Çözücü kontrole göre p<0.01

++Çözücü kontrole göre p<0.001

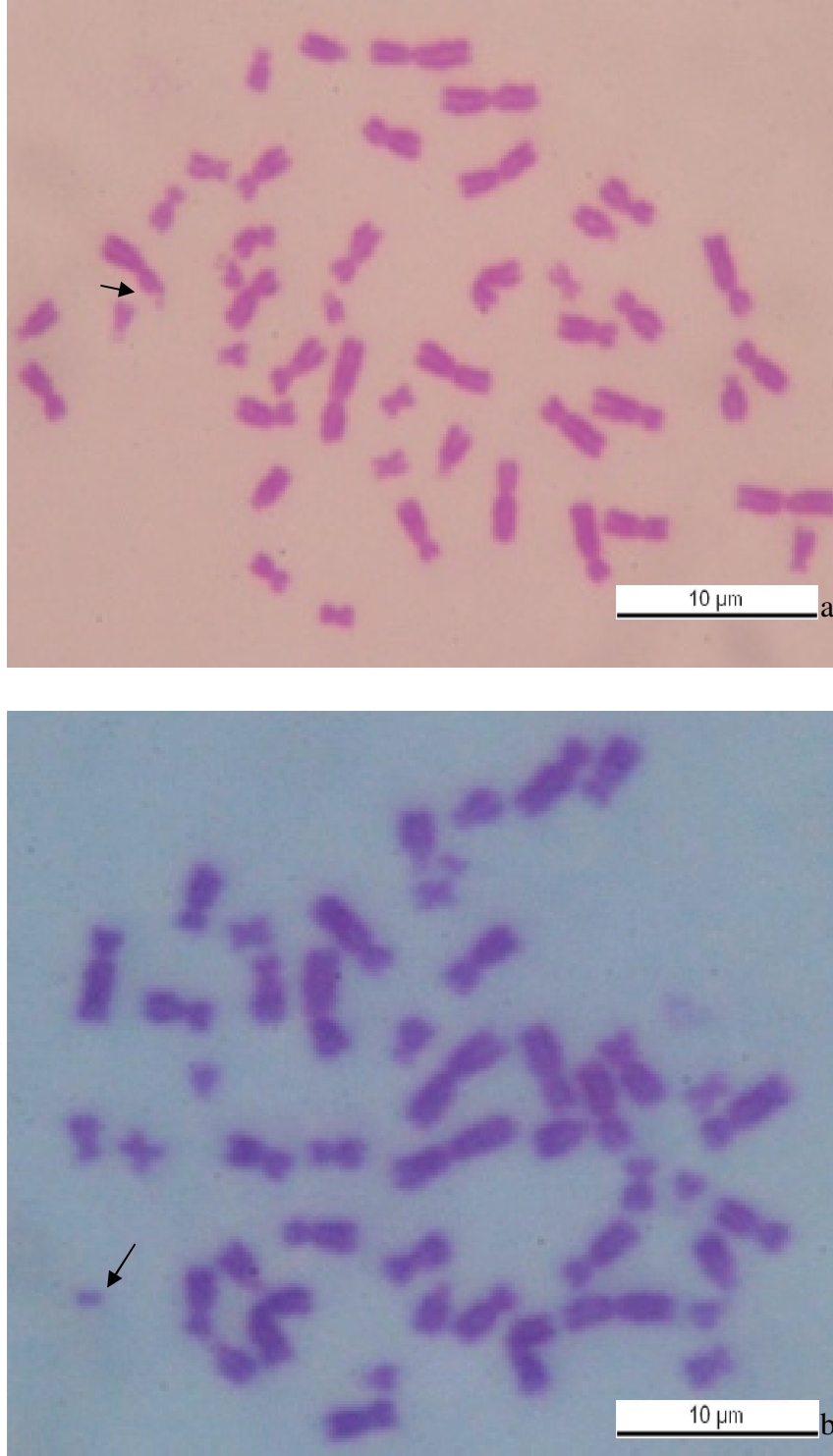
Tablo 4.2. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 48 saat Süre ile Uygulamasında *In vitro* İnsan Lenfosit Kültürlerinde Oluşturduğu Kromozom Anormallikler ve Mitotik İndeks

Test maddesi	Uygulama		Anomalilikler						Anormal Hücre ±SH (%)	KA/Hücre ± SH*	Mitotik İndeks Süre (%)	
	Süre	Doz	Ktk	Kzk	F	Dk	Ktd	Er				
Kontrol	48 saat	0,00 µg/ml	8							2,00±1,35	0,0200±0,007	8,13±0,002
Çözücü kontrol	48 saat	% 50 v/v	8		2					2,50±1,50	0,0250±0,008	6,15±0,002*
Pozitif kontrol	48 saat	0,20 µg/ml	111	18	28	1	25			40,75±5.06	0,4575±0,024	1,90±0,007
Cd(8Q) ₂ (SCN) ₂	48 saat	1,00 µg/ml	10		6				1	3,50±1,73	0,0425±0,010	5,90±0,002*
		2,00 µg/ml	21	3	10					7,25±2,26*+	0,0825±0,013*+	4,83±0,002*+
		4,00 µg/ml	26	1	15			2		9,75±2,43*+	0,1100±0,016*+	2,13±0,001*+
		6,00 µg/ml				Toksik				Toksik	Toksik	1,00±0,001*+
		8,00 µg/ml				Toksik				Toksik	Toksik	0,40±0,001*+

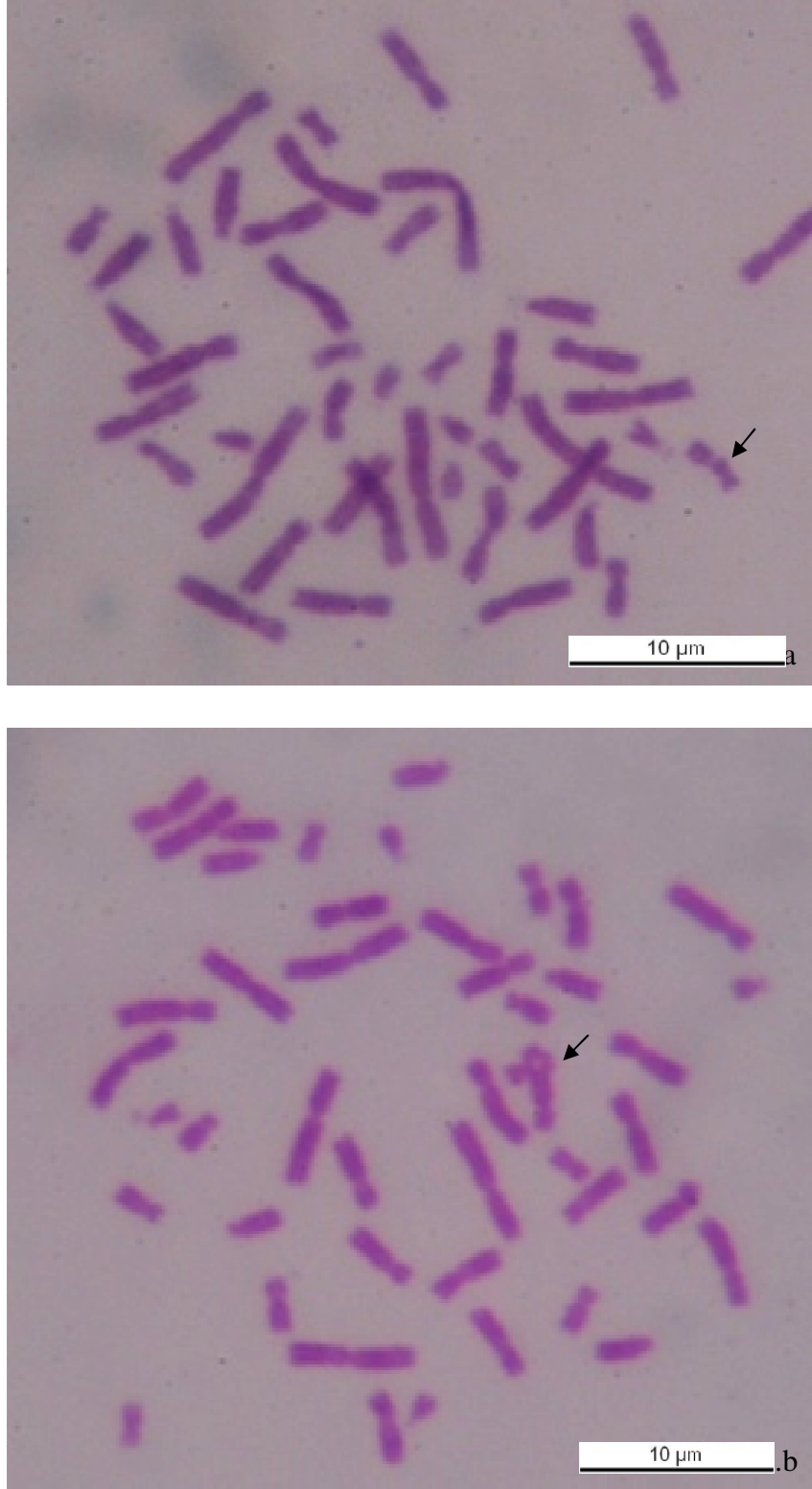
Anormal Hücre %'si ve KA/Hücre Değerlendirilmesinde her uygulanan dozda 400 metafaz hücre kromozomu incelenmiştir. MI için ise 12000 hücre sayılmıştır. (6 ve 8 µg/ml dozlarda 4000 hücre bulunabilmiştir.) Ktk: Kromatid kırığı, F: Fragment, Kzk: Kromozom kırığı, Dk: Disentrik kromozom, Ktd: Kromatiddeğişimi, KA: Kromozomal anormallik

*Kontrolle göre p<0.001

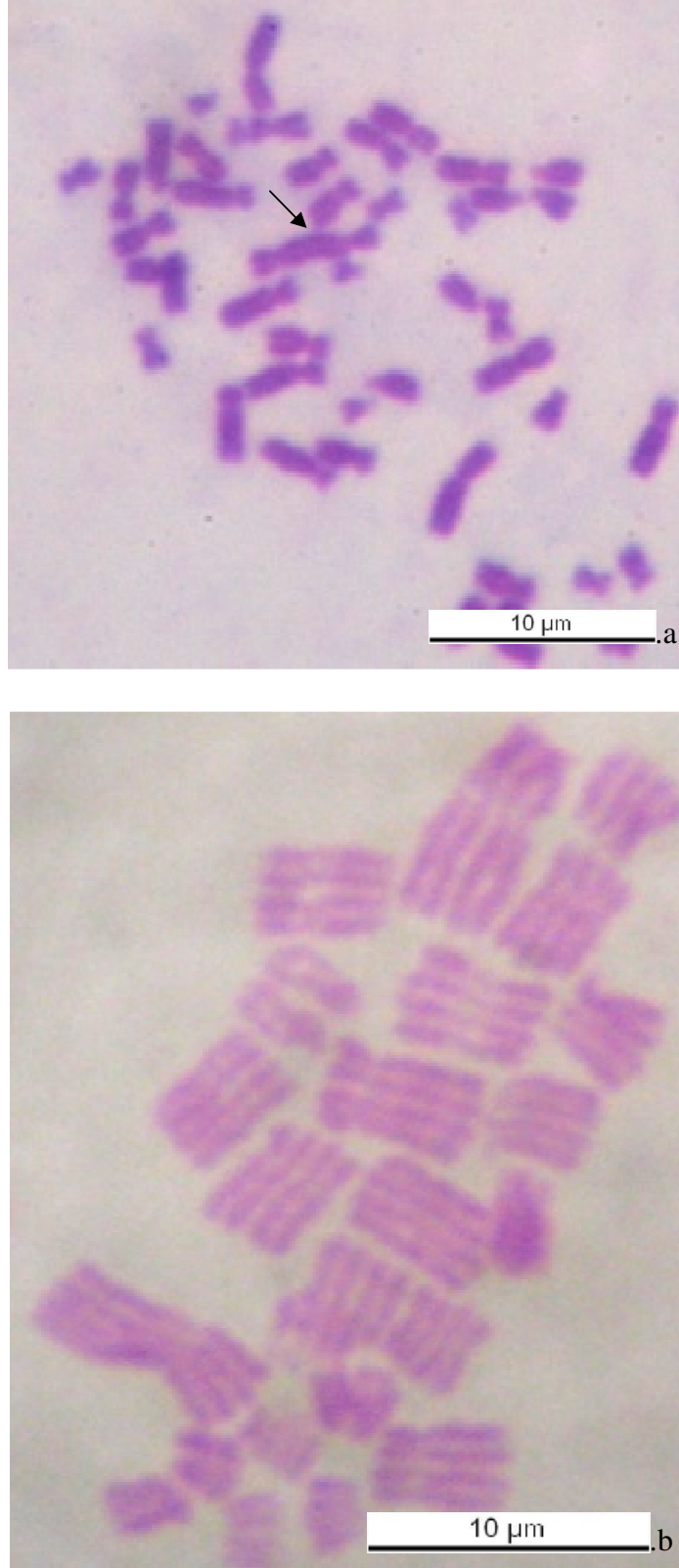
+Çözücü kontrolle göre p<0.001



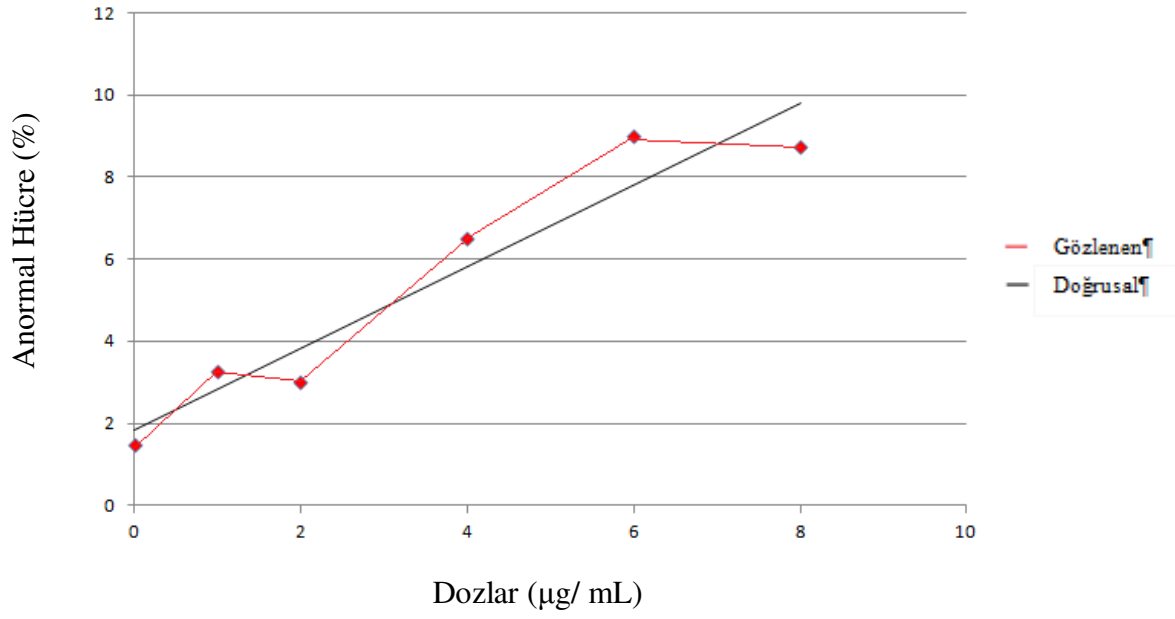
Şekil 4.1. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler. a) Kromatid kırığı b) Fragment



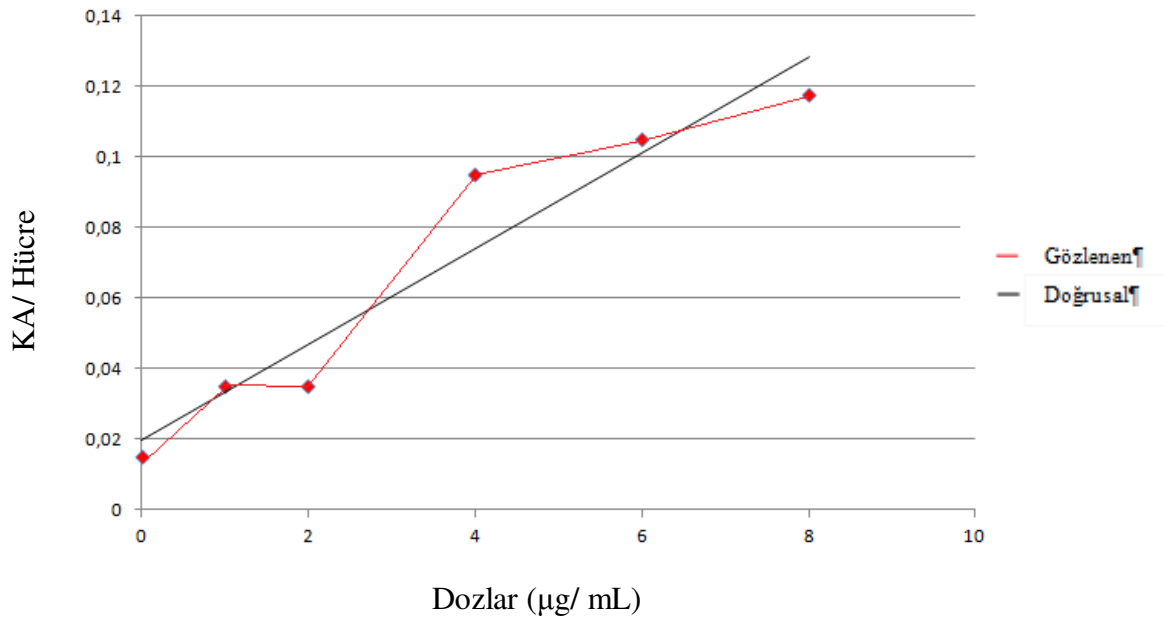
Şekil 4.2. Cd (8Q)₂(SCN)₂ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler.
a)Kromozom kırığı b) Kromatid değişmesi



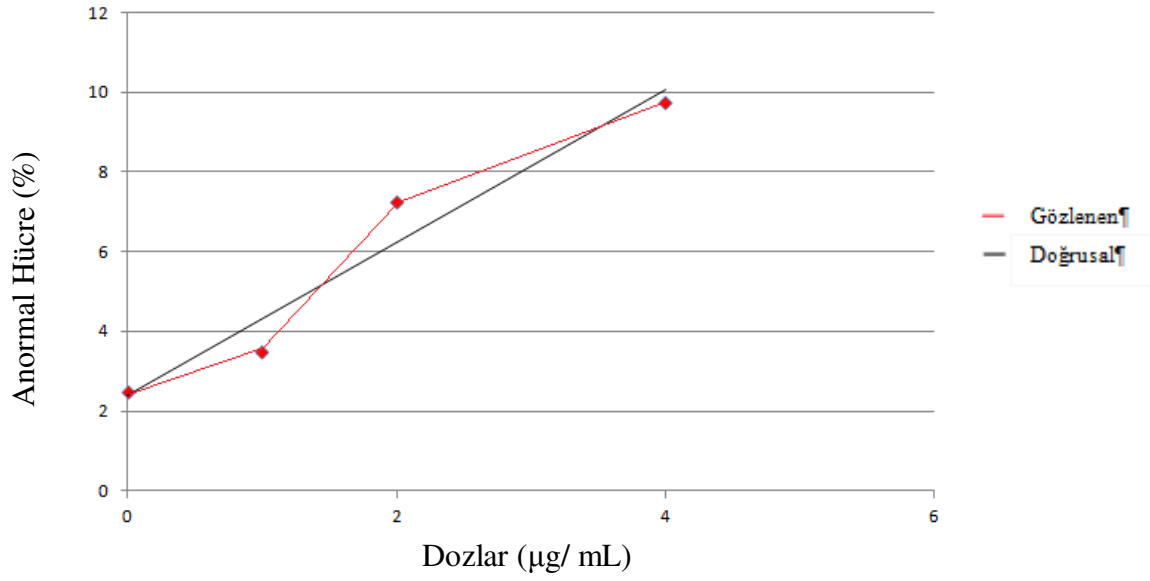
Şekil 4.3. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan kromozomal anomalilikler a. Disentrik kromozom b. Endoreduplikasyon



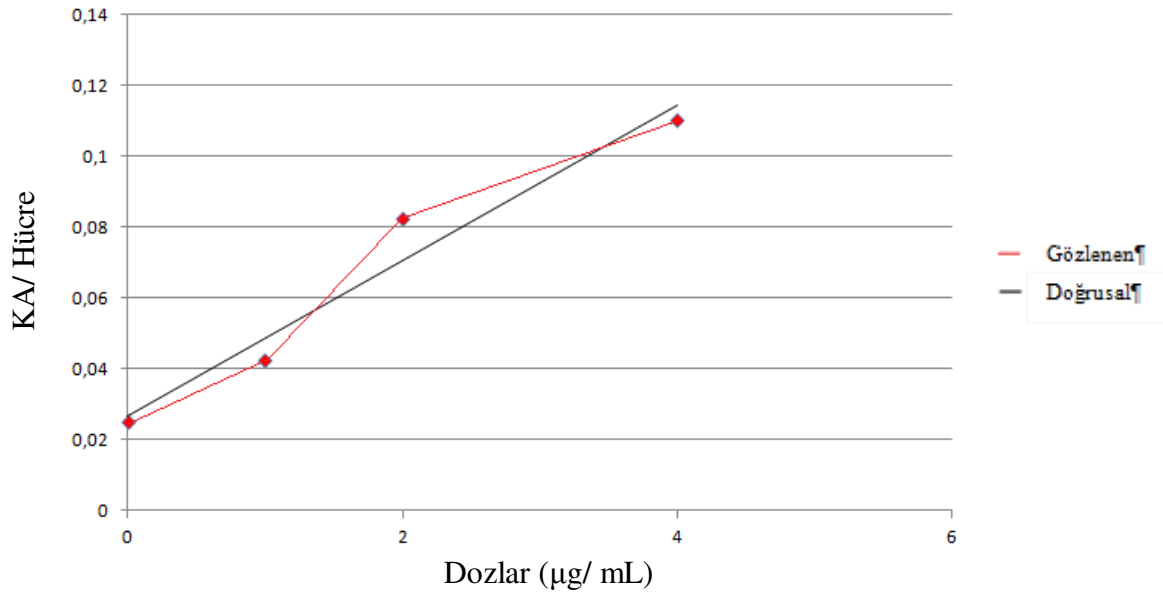
Şekil 4.4. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 24 saat uygulamasında *in vitro* insan lenfositlerinde anormal hücre yüzdesi doz etki ilişkisi



Şekil 4.5. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 24 saat uygulamasında *in vitro* insan lenfositlerinde hücre başına düşen kromozomal anormallik doz etki ilişkisi

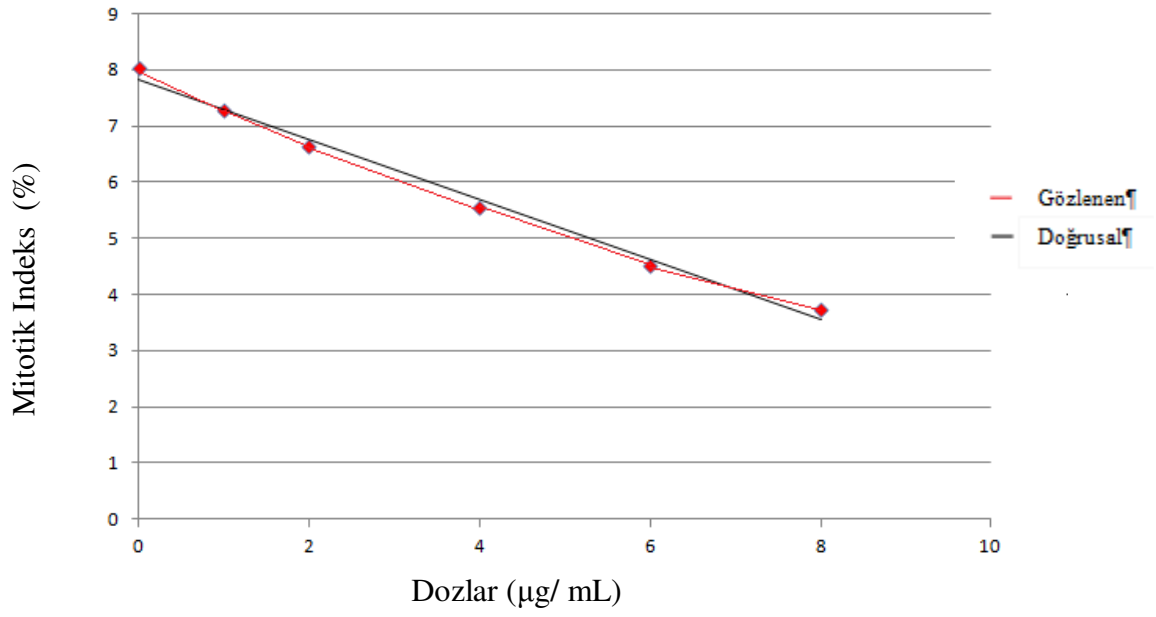


Şekil 4.6. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 48 saat uygulamasında *in vitro* insan lenfositlerinde anormal hücre yüzdesi doz etki ilişkisi

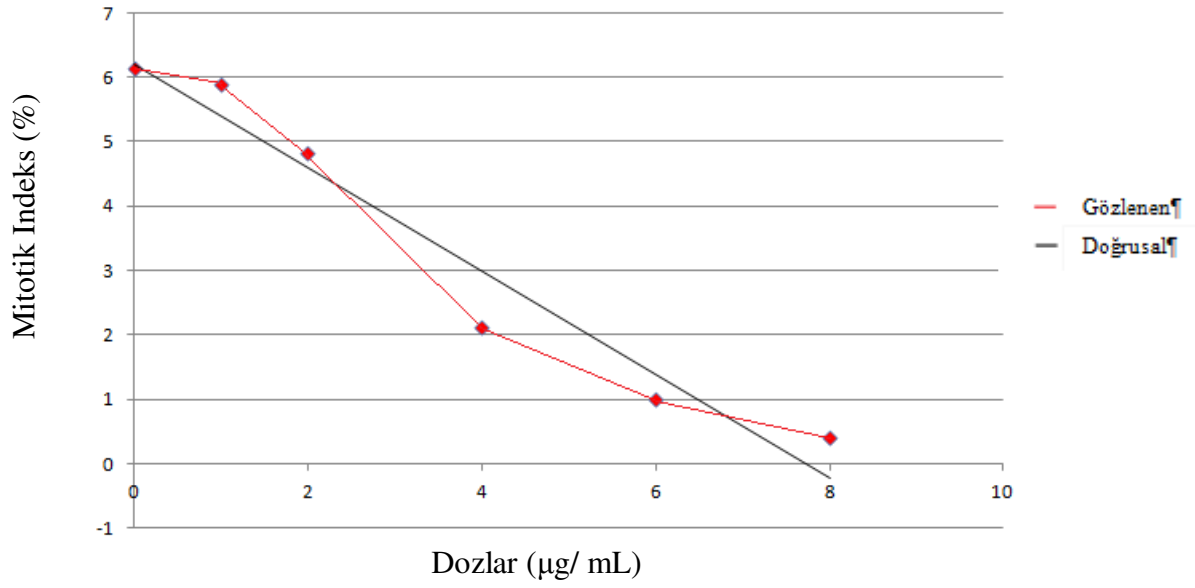


Şekil 4.7. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 48 saat uygulamasında *in vitro* insan lenfositlerinde hücre başına düşen kromozomal anormallik doz etki ilişkisi

24 saat ve 48 saat doz muamelesinde mitotik indeks kontrol ve çözücü kontrole kıyasla doza bağlı (sırasıyla $r = -0,99$ ve $-0,97$) ve istatistiksel olarak anlamlı bir azalma göstermiştir (Şekil 4.8, 4.9.)(Tablo1-Tablo2)



Şekil 4.8. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 24 saat uygulamasında insan lenfosit kültüründe mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı ilişkisini gösteren grafik



Şekil 4.9. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazı Kompleksinin 48 saat uygulamasında insan lenfosit kültüründe mitotik indeks yüzdesinin doza bağlı ilişkisini gösteren grafik

4.2. Cd(8Q)₂(SCN)₂ Schiff Bazlı Kompleksi Uygulamasının Mikronukleus (MN) ve Nükleer Bölünme İndeksi Üzerine Etkisi

Cd(8Q)₂(SCN)₂ Schiff Bazlı Kompleksinin bütün uygulama gruplarında, mikronukleus taşıyan binükleatların sayısında kontrol ve çözücü kontrole göre artış gözlenmiştir (Tablo 4.3.) Doza bağlı artış gösteren mikronukleus frekansı (r=0.97), sadece 4 µg/ml dozda istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 4.11). En yüksek iki doz ise toksik etki göstermiştir. NBI'da en yüksek iki doz kontrole göre anlamlı bir azalış gösterirken nükleer bölünme indeksinde doza bağlı bir azalma gözlenmiştir.

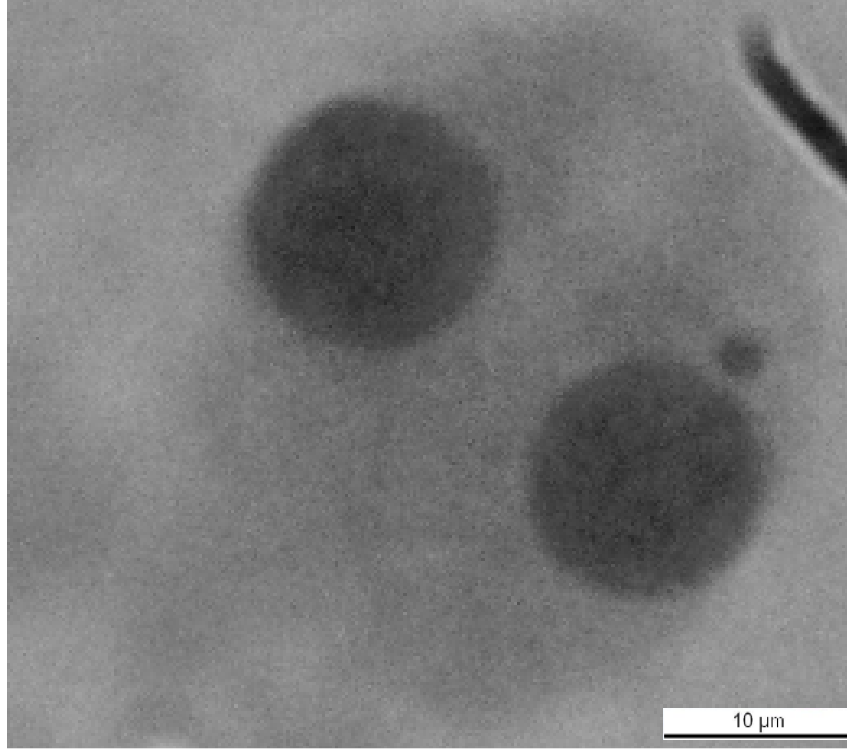
Tablo 4.3. Cd(8Q)₂(SCN)₂ insan lenfositlerinde mikronükleus frekansları ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Sayılan binükleat Hücre sayısı	BN hücreler içinde mikronükleus frekansları			MN±SH (%)	Nükleer bölünme indeksi±SH (NBI)
	Süre (saat)	Doz		1	2	3		
Kontrol	48	0,00 µg/ml	4000	27			0,675±0,001	1,85±2,80
Çözücü kontrol	48	%50 v/v	4000	35			0,875±0,001	1,72±2,40
Pozitif kontrol	48	0,20 µg/ml	4000	208	5	3	5,825±0,010	1,30±1,30
Cd(8Q) ₂ (SCN) ₂	48	1,00 µg/ml	4000	37			0,925±0,002	1,74±2,50
		2,00 µg/ml	4000	37			0,925±0,002	1,57±2,10
		4,00 µg/ml	4000	51	1		1,325±0,002**	1,25±1,25
		6,00 µg/ml	Toksik	Toksik			Toksik	1,08±0,60*
		8,00 µg/ml	Toksik	Toksik			Toksik	1,02±0,30*

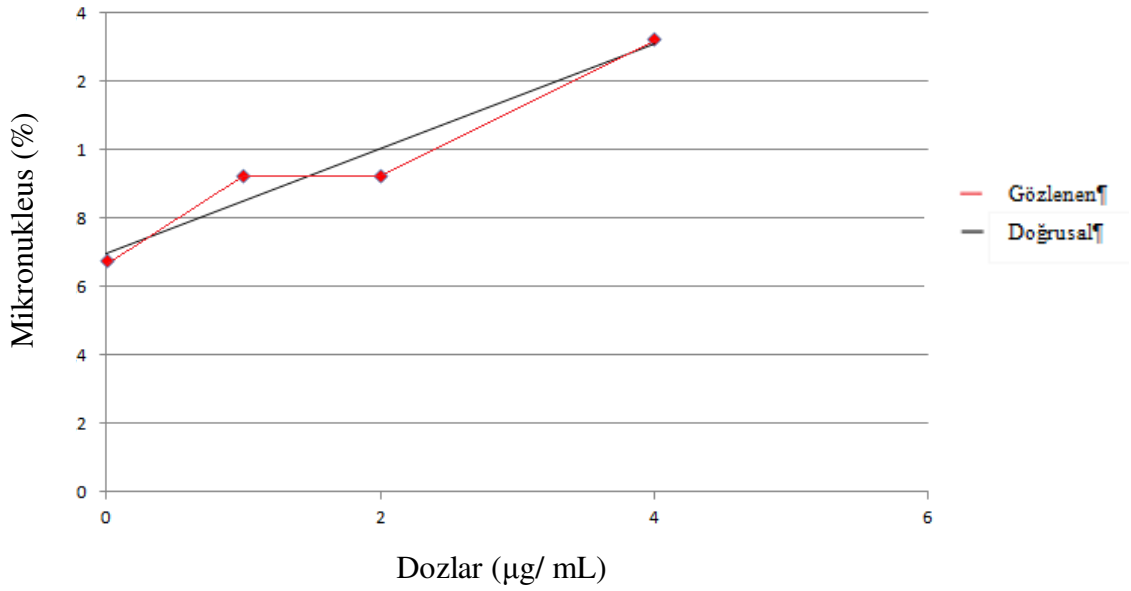
MN değerlendirilmesinde her uygulama grubu için 4000 binükleat hücre, NBI için 2000 hücre incelenmiştir.

*Kontrole göre p<0.05

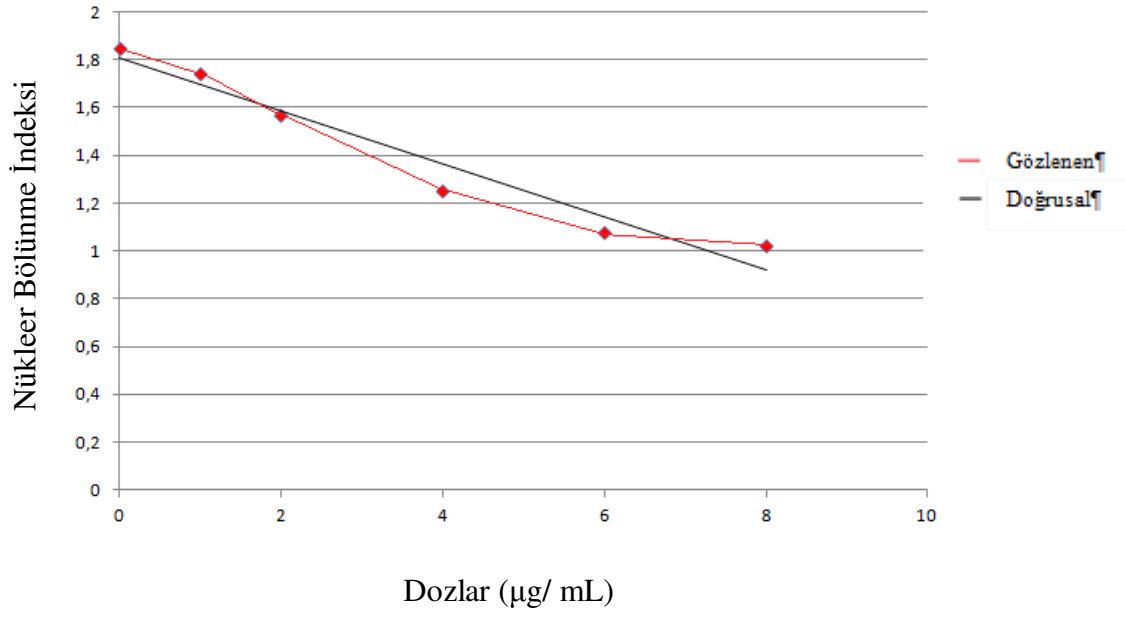
**Kontrole göre p<0.01



Şekil 4.10. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ uygulamasıyla insan lenfositlerinde oluşan bir mikronukleuslu binukleat hücre



Şekil 4.11. Cd (8Q)₂ (SCN)₂ Schiff Bazlı Kompleksi uygulamasıyla insan lenfosit kültüründe mikronukleus frekansının doza bağlı ilişkisi



Şekil 4.12. $\text{Cd}(\text{8Q})_2(\text{SCN})_2$ Schiff Bazlı Kompleksi uygulamasıyla insan lenfosit kültüründe nükleer bölünme indeksinin doza bağlı ilişkisi

BÖLÜM 5. TARTIŞMA

Amin ve aldehitlerden türevlenen Schiff bazları azometin nitrojeni vasıtasıyla metal iyonlarının koordine eden önemli bir ligand sınıfıdır (Sinha, 2007). Schiff bazı ligandları C=N bağının hidrojenasyonu vasıtasıyla metal iyonları ile daha kolay koordine olurlar. Bu bileşiklerin metal iyonları ile koordinasyonu aktivitelerini artırmaktadır (Kara, 2011). Bazı Schiff bazlarının antitümör ve antibakteriyel aktiviteleri eser geçiş metalleri ile şelatlanma yeteneği ile yorumlanır (Bukhari, 2002). Bir ilacın geliştirilmesinde ve izlenmesinde moleküllerin hücre zarından geçmesi önemlidir. İlaçların hücre duvarından pasif geçişi onun lipofilitesiyle alakalıdır (Musiol 2006). Bazı bileşiklerin hücre geçirgenliğini artırmak amacıyla Schiff bazı olarak yeniden koordine edilmesi bu bileşiklerle yapılan antikanser ve antituberküler çalışmalarında olumlu sonuçlar vermiştir (Sinha, 2007; Patole, 2006). Bu sebeplerle son yıllarda Schiff bazlarına olan ilgi artmakta ve çok sayıda Schiff bazı kompleks sentezlenmektedir.

Bean ve arkadaşlarının (1985) *Salmo gairdneri* ile yaptıkları çalışmada 1mg/L konsantrasyondaki suya maruz bırakılan kinolinin hızlı bir şekilde metabolize olduğunu ortaya koymuşlardır. 48 saat muamelenin ardından kinolin metabolitleri %60 üzerinde safra kesesinde birikmiştir. Hidroliz ürünleri olarak hidrosikinolin ve kinoliethiol oluşmuştur ve hidroksi formları glukoronide olarak safra kesesine geçmektedir. Kinolin metabolitlerinin 48 saat sonra safra kesesi, kas, mide, gözler, karaciğer, solungaçlar ve böbrekte bulunmuştur.

Birkholz ve ark. (1989) tarafından *Salmo gairdneri* üzerinde yapılan bir başka çalışmada ise 1 mg/L olarak biyokonsantre edilmiş 6,7 dimetilkinolin ve 6,8 dimetilkinolin bileşiği 69 ve 96 saatte safra, karaciğer ve kasda 0,54 ve 0,48 µg/g dozlarda bulunduğu rapor edilmiştir.

6,7 DMQ bileşiği organizmada glukoronit veya sülfat konjugasyonuna uğrayarak 7-hidroksimetil-6-metilkinoline ve 6-hidroksimetil-7-metilkinoline transforme olmuşlardır. Uygulanmada 7,5 saat sonrasında bu metabolitlerinin miktarının safrada 500µg/g düştüğü ve 69 saat sonra ise tam anlamıyla metabolize olduğu bildirilmiştir. 6,8-dimetilkinolinin (6,8-DMQ) ise 1mg/L uygulamasının 63 saat sonra safra karaciğer kas ve gövdede 4.0, 0.67, 0.49, ve 3.2 µg/g bulunduğu bildirilmiştir.

Bu bileşiğin 6, 8-dimetil-5-hidroksikinolin, 6,8-dimetil-7-hidroksikinolin, 6,8-dimetil-3-hidroksikinolin ve 6-hidroksimetil-8-metilkinolin gibi temel metabolitleri ise yine sülfat ve glukoronid konjugasyonu ile oluşmaktadır. Bu uygulamadan sekiz saat sonra metabolitlerin ana konsantrasyonu safrada 1278 µg/g iken 63 saat sonra tam anlamıyla metabolize olmaktadır.

Su ve arkadaşları (2007) telomeraz inhibitörü olarak bilinen, farelerde antitümör aktivitesi kanıtlanmış SYUIQ-5 (N'-(10H-Indolo [3, 2-b] kinolin-11-yl)-N,N-dimetilpropan-1, 3-diamin)'in ratlar üzerinde farmokokinetiğini ve metabolizmasını incelemişlerdir. 0.1, 5 or 10 mg/kg dozlar ile 5 gün yapılan çalışmalar sürecince 10 mg/kg dozda CYP1A1/2 ve CYP3A1/2 P450 enzimlerinin aktivitelerinin arttığı yalnız CYP2E1 ve CYP2B1/2 enzimlerinin aktivitesinde bir değişme olmadığı rapor edilmiştir. SYUIQ-5 rat karaciğer mikrozomları tarafından N-demetilasyonu ve O-oksijenasyonu ile en az iki metabolite ayrıştırılmaktadır.

Kinolin maddesi rat ve farelerde hepatokarsinojen olarak bilinir ve rat karaciğer mikrosomlarının inkubasyonun ardından bakterilerde iyi bilinen mutajendir. Reign ve ark. (1996) insan ve rat kaarciğerinde kinolin metabolizmasını içeren özel sitokrom P450 enzimleri cDNA ve eksprese edilmiş P450 kullanarak belirlemişlerdir. CYP2A6 insan ve karaciğer mikrosomları içerisinde kinolin 1 oksit formasyonunu içeren en temel sitokrom P450'dir. CYP2A6 aktivitesi ile kinolin 5-6 diol formasyonu arasında bir korelasyon bulunmuştr aynı zamanda 5-6 kinolin epoksit oluşumu da gözlenmiştir.

Tiyosiyanatın biyotransformasyonu hakkında literatürde çok az çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmalardan birinde tiyosiyanatın oral olarak insan üzerinde uygulanması sonucunda bu bileşiğin vücut tarafından tam olarak absorbe edildiği ve

serum yarılanma ömrünün 3 gün olduğu atılımın büyük miktarda böbrekler tarafından sağlandığı bildirilmiştir (Schulz, 1984).

Genotoksisite testleri yeni sentezlenen kimyasalların ilaç, katkı maddesi, ve endüstriyel materyallerin güvenlik testlerinin ilk ve zorunlu basamağıdır (Kara, 2011). Bundan dolayı sentezlenen Schiff bazlarının biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesinde bu testler önem arz etmektedir.

Çalışmamızda 1, 2, 4, 6 ve 8 µg/mL'lik dozlarda uygulamalar yapılmıştır. Mitotik indeks 24 saatlik uygulamada 1 µg/mL'lik dozdan itibaren hem negatif hem de çözücü kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı azalış gösterirken 48 saatlik uygulamada negatif kontrole göre 1 µg/mL'lik dozdan itibaren, çözücü kontrole göre 2 µg/mL'lik anlamlı azalış göstermektedir. Mitotik indeksteki bu azalma Cd(8Q)₂(SCN)₂ maddesinin sitotoksik etkili olduğu anlamına gelmektedir.

Ashby ve ark. (1989) ratlar üzerine yaptığı *in vivo* programlanmamış DNA sentezi denemelerinde oral olarak 200-500 mg/kg olarak kullanılan kinolin dozlarının potansiyel mitojenik aktiviteye sahip olduğunu belirtmişlerdir fakat 8-hidroksikinolinin benzer etkiye sahip olmadığı rapor etmişlerdir.

Hamoud ve ark. (2005) hem kinolin hem de 8-hidroksikinolin maddelerinin genotoksisitesini erkek farelerde kemik iliği eritrositlerinde mikronukleus testini kullanarak denemiştir. Kinolin maddesinin 24 saatlik uygulamasında 50 ve 100 mg/kg kullanılan dozlarda istatistik olarak polikromotik eritrosit hücrelerinde mikronukleus sayısında önemli bir artış olduğunu gözlemlemişlerdir. Hidroksikinolin maddesi ise 48 saatlik uygulamalarda ise 25 ve 50 mg/kg kullanılan dozlarda normokromotik eritrositlerin mikronukleus sayısında istatistiksel olarak önemli bir artışa sebep olmuştur. Her iki madde için 100 mg/ml uygulanan dozlarda 24 saatlik muamelede sitotoksik etki sebebiyle düşük bölünme gerçekleştiği, hem 48 hem de 72 saatlik uygulamalarda ise ölümcül olduğu rapor edilmiştir.

Hakura ve ark. (2007) ise kinolin 3 florokinolin ve 5 florokinolinin erkek rat ve fare üzerinde yaptığı çalışmalarda 0.5 mmol/kg doz kullanmış 6 ila 11 gün süre ile

enjekte etmişlerdir ve 5-florokinolin ve kinolin bileşiklerinin MN frekansını artırdığı fakat 3 florokinolin bileşiğinin bir değişmeye sebep olmadığı bildirilmiştir.

Bizim çalışmamızın sonuçlarında ise 48 saatlik uygulamada 4 µg/ml dozda mikronukleus sayısında kontrole göre anlamlı bir artış olmuştur. 6 µg/ml, 8 µg/ml dozlarda ise 48 saatlik uygulamalarda sitotoksosite sebebiyle düşük hücre bölünmesi gerçekleşmiştir.

Weisburger ve ark. (1993) kızartılmış ve ızgara etlerin yüzeyinde bulunan bağırsak florası tarafından kinolin türevlerine dönüştürülen bileşiklerin kolon kanserinden sorumlu olabileceği gerekçesi ile genotoksik etkilerini araştırmışlardır. 7 hidrosikinolinin Ames *Salmonella typhimurium* TA98 testinde mutajenik olduğu fakat kolon kanseri indükleyicisi olmadığı rapor edilmiştir.

Weyand ve ark. (1993) kinolin ve 5 florokinolin maddesinin mutajenik aktivitesini belirlemek için *Salmonella typhimurium* TA100 ve rat hepatositlerinde programlanmamış DNA sentezi testlerinde denemişler ve 5. pozisyondaki flor atomunun kinolinin detoksifikasyonunu engellediği için genotoksik potansiyeli artırdığını açıklamışlardır. Bir ligandın metal iyonlarının bağlanma bölgelerinin farklı kombinasyonu materyallere farklı özellikler yüklemektedir.

Asakura ve ark. (1997) kinolini F344 ratların karaciğer hücrelerinde 200 mg/kg 24 saatlik tek doz uygulaması veya 25-200 mg/kg dozun 28 günlük tekrarının gastrik intubasyonundan 24 saat sonra incelenmiştir. Kinolinin 24 saatlik tek dozunun kromozom anomaliliklerini %22 artırdığını uygulamanın 28 günlük uygulaması ise hem kromozom anomalilikleri hem de kardeş kromatid değişimini önemli ölçüde artırdığını açıklamışlardır fakat 8-hidrosikinolinin fare karaciğer hücrelerinde genotoksik olmadığı rapor edilmiştir. Bizim çalışmamızda Cd(8Q)₂(SCN)₂ bileşiği kromozomal anomalilikleri ve anormal hücre yüzdesini 24 saat süreli uygulamada 4 µg/ml'lik, 48 saat süreli uygulamada 2 µg/ml'lik dozdan itibaren hem kontrol hem de çözücü kontrole göre artırmıştır. Bu uygulamalarda verilen dozlardan itibaren Cd(8Q)₂(SCN)₂ bileşiğinin genotoksik etkili olduğu görülmektedir.

Çalışma sırasında en fazla kromatit kırıklarına rastlanmıştır. Daha sonra ise sırasıyla fragmentler, kromozom kırıkları, disentrik kromozomlar ve kromatitlerde değişmeler gözlenmiştir. Çalışmada en az gözlenen anomalilik çeşidi ise endoreplikasyondur.

Kromatit kırıkları, DNA'da meydana gelen çift zincir kırıkları sonucunda oluşan ve tek bir kromatitte gözlenen kırıklardır (Natarajan, 2002). Kromozom kırıkları ise kromozomların her iki kolunda da gözlenen tamir edilmemiş çift zincir kırıklarıdır [Savage, 1993]. Fragmentlerin, kromozom ya da kromatitlerde meydana gelen kırılmalar ile birlikte uç delesyonları sonucunda oluştuğu bilinmektedir (Yılmaz ve ark., 2008).

Disentrik kromozomlar, iki kromozom kolunun kırılması ve kırılan yapışkan uçların yeniden birleşmesi ile oluşur. Bu oluşum non-homolog kromozom kolları arasındaki birleşmeyle veya homolog kromozomların iki kısa ya da iki uzun kolu arasındaki birleşmeyle gerçekleşmektedir (Therman, 1986). Kromatitlerde değişme, farklı homolog çiftlerine ait kromozomların birbirine temas etmesi ve bu temas noktasında bir kopmaya neden olmasıyla meydana gelebileceği gibi kromozomda bir kopma sonucu bir uca homolog olmayan kromozomlardan başka bir parçanın yapışması sebebiyle de oluşabilir. Kuadrivalent denilen haç görüntüsü kromatitlerde meydana gelen değişimin bir sonucudur (Kuru ve Ergene, 2011).

Endoreduplikasyonda replikasyon ve kromozom ayrılması, çekirdek bölünmesi olmadan gerçekleşir. Metafaz plağında ise genetik materyal iki kromozom ve dört kromatitten oluşmuş yapılar şeklinde görülür (Klug ve Cummings, 2003). Endoreduplikasyonun oluşmasında iğ ipliklerinin bozulması, DNA'da meydana gelen hasarlar veya mitoz bölünmenin anafaz aşamasında kromatid ayrılmasında önemli görev alan DNA topoizomerazlarda meydana gelebilecek bozukluklar da endoreduplikasyonun ortaya çıkmasına sebep olmaktadır (Cortes ve Pastor, 2003).

Kadmiyum atomunun DNA zincir kırıklarına ve kromozomal anomaliliklere sebep olduğu bilinmektedir. Bu etkisini alkilleyici ajanların veya UV ışığının sebep olduğu DNA hasarının onarım süreçlerinde DNA metilguanin transferaz enziminin inaktif hale getirerek gerçekleştirmektedir (Hartwig, 1994). Kadmiyumun DNA hasarını

artırdığını rapor eden birçok çalışma vardır (Coogan, 1992, Faverney, 2001). Schiff bazları ortama O ve N şeklinde donör atomları vermeye elverişlidir (Gölcü, 2005). 8Q'in bileşiği biyotransformasyonu esnasında benzer şekilde Cd donör atomu vermesi muhtemeldir.

Çalışmamızda ortaya çıkan sonuçlar kinolin bileşiği ile yapılan çalışmaların sonuçları ile benzerlik göstermektedir. Cd atomunun 8Q kinolin bileşiğinin detoksifikasyonunu engellemesi veya biyotransformasyon esnasında donör atomu gibi davranması toksisiteyi artırmış olabilir. Bu mekanizmanın anlaşılabilmesi için $Cd(8Q)_2(SCN)_2$ maddesi üzerinde biyotransformasyon çalışmalarının yapılması gerekmektedir.

Tiyosiyanatın genotoksik etkilerini benzer şekilde araştıran çalışmalar literatürde bulunmamaktadır. $Cd(8Q)_2(SCN)_2$ kompleksinin bu maddeyi içermesi sebebiyle genotoksitenin nasıl etkileneceği konusunda yorum yapmamız zorlaşmaktadır.

Yapılan bu çalışma sonucunda, $Cd(8Q)_2(SCN)_2$ insan periferik lenfositlerinde *in vitro* şartlarda 24 ve 48 saat süreli uygulamalarda 2, 4, 6, 8 µg/ml olarak kullanılan dozlarda sitotoksik ve genotoksik etkiler bulunmaktadır. Bu sebeple $Cd(8Q)_2(SCN)_2$ maddesi veya bu maddenin kimyasal yapısına benzeyen diğer bileşikler bu dozlar aralığında ilaç hammadesi olarak kullanılmamalıdır.

Schiff bazlarının biyolojik aktivitelerinin tüvelendiği amin veya keton ve içerdiği metal atomlarına göre farklılık göstermesinden dolayı literatürde bulunan veya yeni sentezlenen diğer Schiff bazı komplekslerin genotoksik etkilerinin *in vitro* veya *in vivo* çalışmalar ile izlenmesi gerekmektedir. Bu çalışma benzer şekilde sentezlenmiş veya sentezlenecek Schiff bazı bileşiklerin biyolojik aktivitelerinin değerlendirilmesinde önemli bir kaynak olacaktır.

KAYNAKLAR

ALBERTİNİ, R.J., ANDERSON, D., DOUGLAS, G.R., HAGMAR, L., HEMMINKİ, K., MERLO, F., NATARAJAN, A.T., NORPHA, H., SHUKER, D.E., TİCE, R., WATERS, M.D., AİTİO, A., "IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety", Mutation. Research, 463, (2), 72-111, 2000

ALLAN, J.R., GARDNER, A.R., MECLOY, B., SMİTH, W. E., Structural and Thermal Studies of the Chlorocomplexes of Cobalt, Nickel and Copper with 2,6-Diaminopyridine and an Assessment of Their Suitability as Antistatic Additives for Polyethylene. Thermochemica Acta, 208, 125-131, 1992

ASAKURA, S.; SAWADA, S.; SUGİHARA, T; DAİMON, H.; SAGAMİ, F., Quinoline-induced chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in rat liver, Environmental and Molecular Mutagenesis, 30, 459-467, 1997

ASHBY, J., MOHAMMED, R., LEFEVRE, P.A., BANDARA L., Quinoline: unscheduled DNA synthesis and mitogenesis data from the rat liver in vivo., Environmental and Molecular Mutagenesis, 14 (4), 221-8, 1989

BEAN, R.M., DAUBLE, D.D., THOMAS, B.L., HANF, JR., CHESS, E.K., Uptake and biotransformation of quinoline by rainbow trout, Aquatic Toxicology, 7, (4), 221-239, 1985

BEDİR, A., DNA Hasarı Analizinde μ -FADU ve COMET Yöntemlerinin Karşılaştırılması, Türk Klinik Biyokimya Dergisi, 2(3), 97-103, 2004

BHATİA S.C., BİNDLİSH J.M., SAİNİ R., JAİN, P.C., S. C. Bhatia, J. M. Bindlish, A. R. Saini, P. C. Jain, Crystal and Molecular Structure of Bis(N allylsalicylideneiminato)-nickel(II) and -Copper(II), Journal of the Chemical Society, Dalton Transactions, 1773, 1981

BİRKHOLZ, D.A., COUTTS, R.T. ve HRUDEY, S.E. Uptake and Biotransformation of 6,7-Dimethylquinoline and 6,8-Dimethylquinoline by Rainbow Trout (*Salmo Gairdneri*), Xenobiotica, 19 (7), 695-710, 1989

BÖKESÖY, T.A., EKİNCİ, A. C., Genel farmakoloji konuları ve ilaçlar, Editör Bökesoy T.A, Çakıcı İ, Melli M., Farmakoloji ders kitabı, Gazi Kitabevi, 5, 2000

BUCKHARI, I. H., Preparation, characterization and biological evaluation of Schiff base metal complexes of some drug substances, Ph.D. thesis, Bahauddin Zakariya University Multan/Department of Chemistry, 5-11, 2002

CAREY, A. C., SUNDBERG, R. J. Advanced organic chemistry, Part B reactions and synthesis, Springer, 31, 2000

COOGAN, T.P., BARE, R.M., WAALKES, M.P., Cadmium-induced DNA strand damage in cultured liver cells: Reduction in cadmium genotoxicity following zinc pretreatment, Toxicology and Applied Pharmacology, 113, (2), 227-233, 1992

CORTES, F., PASTOR, N., "Induction of endoreduplication by topoisomerase II catalytic inhibitors", Mutagenesis, 18(2), 105-112, 2003

DEMİREL, Z. , ZAMANİ, A. G., Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları, Genel Tıp Dergisi; 12(3), 123-127, 2002

DEMİRHAN, İ., Maraş otu kullanımının kromozom anomalilikleri üzerine etkisi, Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji anbilim dalı, 14-15, 2006

DHAWAN, A., BAJPAYYE, M., PARMER D., The Comet Assay: A Versatile Tool for Assessing DNA Damage , Ed. DHAWAN A., ANDERSON D., The Comet Assay in Toxicology, 3-30, 2009

DİLLON, C.T., LAY, A T, BONİN, A. M., CHOLEVA, M., LEGGE, G. J. F. Permeability, Cytotoxicity, and Genotoxicity of Cr(III) Complexes and Some Cr(V) Analogues in V79 Chinese Hamster Lung Cells, Chemical Research Toxicology, Chem. Res. Toxicol., 13 (8), 742-748, 2000

DÖKMECİ, İ., Farmakoloji temel kavramlar, Nobel tıp kitap evleri, 288, 799, 911-921, 941-959, 2000

EGAN, T.J., ROSS, D.C., ADAMS, P.A., Quinoline anti-malarial drugs inhibit spontaneous formation of β -haematin (malaria pigment), Febs letters, 352, (1), 54-57, 1994

EİSHA, A.A., MARCOS, R., CREUS, A., Genotoxicity studies on the antimicrobial drug sulfamethoxazole in cultured human lymphocytes, Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis, 564 (1), 51-56, 2004,

EL-HALABİ, N. M., AWADALLAH A., Synthesis and Crystal Structures of Some New Metal(II) Complexes with NNO Functionalized Ligands The Islamic University Journal (Series of Natural Studies and Engineering) 17/2, 1-10, 2009

ESEN A., Bazı Schiff bazlarının antimikrobiyal aktiviteleri Yüksek lisans tezi Ankara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, 1-4, 2006

EVANS, H.J., "Cytological Methods For Detecting Chemical Mutagens" Ed. Hollander, A., in. Chemical Mutagens: Principles and methods for their detection, Newyork, London, Pleunum Press, 4, 1-29, 1976

FAVERNEY, C.R., DEVAUX, A., LAFAURIE, M., GIRARD, J.P., BAILLY, B., RAHMAN R., Cadmium induces apoptosis and genotoxicity in rainbow trout hepatocytes through generation of reactive oxygen species, *Aquatic Toxicology*, 53, (1), 65-76, 2001

FENECH, M., The Cytokinesis-Block Micronucleus Technique and Its Application to Genotoxicity Studies in Human Populations, *Environmental Health Perspectives Supplements*, 101(3),101-107, 1993

GÖLCÜ, A., TÜMER, A., DEMİRELLİ, H., ALAN, R, Cd(II) and Cu(II) complexes of polydentate Schiff base ligands: synthesis, characterization, properties and biological activity, *Wheatley Inorganica Chimica Acta* 358, 1785–1797, 2005

HAKURA, A., KADOİ, M., SUZUKİ, T., SAEKİ, K., Clastogenicity of Quinoline Derivatives in the Liver Micronucleus Assay Using Rats and Mice, *Journal of health science*, 53, 4, 470-474, 2007

HAMOUD, M.A, ONG, T., PETERSEN, M., NATH, J., Effects of quinoline and 8-hydroxyquinoline on mouse bone marrow erythrocytes as measured by the micronucleus assay. *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 9(2), 111-8, 1989

HARTWIG, A., Role of DNA repair inhibition in lead- and cadmium-induced genotoxicity: a review, *Environmental Health Perspectives*, 102(3), 45–50,1994

HORNBACK, J. M., *Organic Chemistry*, Thomson Brooks/Cole, 765, 773-774, 2006

HOSSEİNİ, M., STIJİN, F.L. MERTENS, S.F.L.,1, GHORBANİ, M., ARSHADI M., Asymmetrical Schiff bases as inhibitors of mild steel corrosion in sulphuric acid media *Materials Chemistry and Physics* 78, 800–808, 2003

İSPİR E., TOROĞLU S., KAYRALDIZ A., Syntheses, characterization, antimicrobial and genotoxic activities of new Schiff bases and their complexes *Transition Metal Chemistry* 33,(8), 953-960, 2008

JAMPİLEK, J., MUSİOL, R vd., Ring-substituted 4-Hydroxy-1*H*-quinolin-2-ones: Preparation and Biological Activity, *Molecules*, 14(3), 1145-1159, 2009

JUNGREİS, E., THABET, S., Analytical Applications of Schiff Bases, in: H.A. Flaschka and A.J.Barnard (Eds.), *Chelates in Analytical Chemistry*, Marcell Dekker, New York. 2, 149-177, 1969

KARA, Y., AVAR B., KAYRALDIZ A.,GUZEL, B., KURTOĞLU, M., Synthesis and genotoxicity of Schiff base transition metal complexes, *Heteroatom Chemistry*, 22(2), 119-130, 2011

KARATAŞ, F., BAL, C., KARA, H., YILMAZ, İ., Çukurovalı ratlarda tiyosemikarbazon türevlerinin bazı kan parametrelerine etkileri, *Sağlık Bilimleri Dergisi (Journal of Health Sciences)* 18(2), 93-99, 2009

KAROL, S., SULUDERE, Z, Hücre çekirdeği ve kromozomlar Gazi Üniversitesi 173, 140, 1992

KAYAALP, O., Tıbbi farmakoloji, Hacettepe-Taş Kitabevi, 1327-1329, 2005

KIRKLAND, D, Chromosome aberration testing in genetic toxicology--past, present and future, Mutation Research 404, 173-185, 1998

KLUG, W.S., CUMMINGS, M. R., GOLDSTEIN, E. S., HERRON, J.C., O'CONNELL, M., SPENCER, C., Genetik kavramlar, Çeviri editörü; C. Öner, Palme yayıncılık, 251-275, 2003

KOÇAK, B., Sefalosporin grubu antibiyotiklerden Lorakarbef'in bazı aldehit grupları ile verdiği Schiff bazlarının ve bunların geçiş metal (Cu(II), Zn(II), Fe(III), Pt(II) ve Ru(III)) komplekslerinin sentezi, karakterizasyonu, elektroanalitik ve biyolojik özelliklerinin araştırılması, Yüksek lisans tezi, Kahramanmaraş Sütçü İmamoglu Üniversitesi, 5, 2008

KORKMAZ, B., Bazı 2-substitue Perimidin bileşiklerinin mutajenik aktivitelerinin Ames mutajenite testi ile belirlenmesi Yüksek Lisans tezi Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, 32-33, 2005

KURU, M., ERGENE, S., Genetik, Palme yayıncılık, 246-266, 2011

LATTS, A., SCHRECK, R.R, Sister Chromatid Exchange Analysis, The American Journal of Human Genetics, 32, 297-313, 1980

LEVAN, A., Chemically induced chromosome reactions in *Allium and Vicia faba*, Cold Spring Harbor Symp. Quantitative Biology, 16, 233-242, 1951

LIEN, E. J., Ribonucleotide Reductase Inhibitors as Anticancer and Antiviral Agents. Progress in Drug Research, 31, 1-26, 1987

LOUDON, G. M., Organic Chemistry The Benjamin Cummings Publishing Company Inc. California, 904-905, 1995

MARGOLI, B., KIM, B S., RISKO, K, The Ames Salmonella/microsome mutagenicity assay: Issues of inference and validation Journal of the American Statistical Association, (84), 407, 651-661, 1989

MUSIOL, R., JAMPILEK, J., BUCHTA, V., SILVA, L., NIEDBALA, H., POEDSZWA, B., PALKA, A., KATARYZNA, M.M., OLEKSYN, B., POLANSKI, J., Antifungal properties of new series of quinoline derivatives, Bioorganic & Medicinal Chemistry, 14, (10), 3592-3598, 2006

NATARAJAN, A.T., Chromosome aberrations: past, present and future, Mutation Research, 504, 3-16, 2002

NATARAJAN, A.T., KESTEREN, V., LEUWEN, A.C., Mutagenic activity of 20 coded compounds in chromosome aberrations/sister chromatid exchanges assay using Chinese hamster ovary (CHO) cells, in: F.J. de Serres, J. Ashby (Eds.), Evaluation of Short-Term Tests for Carcinogens, Elsevier, North Holland, 551-5, 1981

NELSON, D.L., COX M.M., Lehninger Biyokimyanın ilkeleri, Çeviri editörü Kılıç N., Palme yayıncılık, 460, 630, 649, 712-713, 836, 847, 2005

NOCENTİNİ, G. Ribonucleotide Reductase Inhibitors: New Strategies for Cancer Chemotherapy. Critical Reviews in Oncology/Hematology, 22, 89-126, 1996

OESTERHELT, D., and W. STOECKENIUS. Isolation of the cell membrane of Halobacterium halobium and its fractionation into red and purple membrane. In Methods Enzymology, 31, 667, 1974

ORTÍZ, R., MEDÍNA, H., CORTES, E., CERVANTES, E., RODRÍGUEZ, L., Trimethoprim-sulfamethoxazole increase micronuclei formation in peripheral blood from weanling well-nourished and malnourished rats, Environmental and molecular mutagenesis, 52(8), 673-680, 2011

OSOWOLE, A.; KOLAWOLE, G.; FAGADE, O., Synthesis, Physicochemical, and Biological Properties of Nickel(II), Copper(II), and Zinc(II) Complexes of an Unsymmetrical Tetradentate Schiff Base and Their Adducts Synthesis and Reactivity in Inorganic, Metal-Organic, and Nano-Metal Chemistry, 35(10), 829-836(8), 2005

ÖZTRÜK, N. S., Değişik Piridin Aldehitler ile Çesitli Anilinlerden Türeyen Schiff Bazlarının Sentezi ve Bazı Geçiş Metal Komplekslerinin Hazırlanması, İÜ. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, İstanbul, 1998

PATEL, P.N., PATEL, K., PATEL, D., PATEL, H.S., Synthesis and biological study of novel 5-((4-(6,7-dihydrothieno-[3,2-c]pyridin-5 (4H) ylsulfonyl) phenylamino) methyl)quinolin-8-ol and its metal complexes, Chinese Chemical Letters, 22 (11), 1297-1300, 2011

PATOLE, J., Schiff base conjugates of *p*-aminosalicylic acid as antimycobacterial agents Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters 16, 1514–1517, 2006

RAMAN, N., KULANDAİSAMY, A., JEYASUBRAMANIAN, K., Synthesis, spectral, redox and antimicrobial activities of Schiff base complexes derived from 1-phenyl-2,3-dimethyl-4-aminopyrazol-5-one and acetoacetanilide Metal-Organic Chemistry, 31, 1249, 2001

RAVARİ, F. B., DADGARİNEZHADA, A., SHEKHSOAEİ, I., Investigation on Two Salen Type Schiff base Compounds as Corrosion Inhibition of Copper in 0.5 M H₂SO₄, Gazi University Journal of Science , 22(3), 175-182, 2009

REIGN, G., Mc MAHON H., ISHIZAKI M., OHARA, T., SHIMANE, K., ESUMI, Y., GREEN, C., TYSON, C., NINOMIYA S.I. Cytochrome P450 species involved in the metabolism of quinoline, *Carcinogenesis*, 17, 9, 1989-1996, 1995

REN, S., WANG, R., KOMATSU, K., KRAUSE, P.B., ZYRIANOV, Y., McKENNA, C.E., CSIPKE, C., ZOLTAN, A., TOKES, Z.A., LIEN, E.J., Synthesis, Biological evaluation, and quantitative structure-activity relationship analysis of new Schiff bases of hydroxysemicarbazide as Potential Antitumor Agents, *J. Med. Chem.*, 45, 410-419, 2002

SALEH, N., KHABOUR, O.F., ESMADI, F.T., KOFABI, E.A., *In vivo* cytogenetic studies on rat's bone-marrow cells of structurally related Schiff base complexes *Drug and Chemical Toxicology*, 34, (1), 92-99, 2011

SAVAGE, J.R.K., "Update on target theory as applied to chromosomal aberrations", *Environmental Molecular. Mutagenesis*, 22, 198-207, 1993

SAX, K., SAX H.J., Radiomimetic beverages, drugs and mutagens, *Proc Natl Acad Sci U S A*, 55(6), 1431-1435, 1966

SCHULZ, V., Clinical pharmacokinetics of nitroprusside, cyanide, thiosulphate and thiocyanate, *J. Pharm. Med.*, 9(3), 239-51, 1984

SHAMSPUR, T., MASHHADIZADEH, M. H., SHEIKHSHOAIE, I., Flame atomic absorption spectrometric determination of silver ion after preconcentration on octadecyl silica membrane disk modified with bis[5-((4-nitrophenyl)azosalicylaldehyde)] as a new Schiff base ligand *J. Anal. At. Spectrom.*, 18, 1407-1410, 2003

SHI, L., GE, H.M., TAN, S.H., LI, H.Q., SONG, Y.C., ZHU, H.L., TAN, R.G., Synthesis and antimicrobial activities of Schiff bases derived from 5-chlorosalicylaldehyde, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 42/4, 558-564, 2007

SHOKRY, H., YUASA, M., SEKINE, I., ISSA R. M., ELBARADIE H.Y, GOMMA G.K, Corrosion inhibition of mild steel by schiff base compounds in various aqueous solutions, *Corrosion Science*, 40, (12), 2173-2186, 1998

SHUKLA, O.P., Microbial Transformation of Quinoline by a Pseudomonas sp. *Applied and environmental microbiology*, 51(6), 1332-1342, 1986

SINGH, L.P., BHATNAGAR, J.M. Copper(II) selective electrochemical sensor based on Schiff Base complexes, *Talanta*, 64(2), 313-319, 2004

SINHA, D., TIWARI, A.K., SINGH S., SHUKLA, G., MISHRA, P., CHANDRA, H., MISHRA, A.K. "Synthesis, characterization and biological activity of Schiff base analogues of indole-3-carboxaldehyde, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43, (1), 160-165, 2008

SOLİMAN, A., LİNERT, W., Investigation on new transition metal chelates of the 3-methoxy-salicylidene-2-aminothiophenol Schiff base. *Thermochim. Acta* 338, 65–67, 1999

SU, Q.B., HE, F., vd Biotransformation and pharmacokinetics of the novel anticancer drug, SYUIQ-5, in the rat, *Investigational New Drugs*, 26(2), 119-137, 2007

TAYLOR J.H., Sister chromatid exchanges in tritium-labeled chromosomes, *Genetics*, 43, 515–529, 1958

THERMAN E., TRUNCA C., KUHN E.M., SARTO G.E., Dicentric chromosomes and the inactivation of the centromere, *Human Genetics*, 72, 191-195, 1986

TİCE, R. R., AGUREL, E., Single Cell Gel/Comet Assay: Guidelines for In Vitro and In Vivo Genetic Toxicology Testing *Environmental and Molecular Mutagenesis* 35, 206, 221, 2000

TUCKER, J.D., PRESTON ,R. J., “Chromosome aberations, micronuclei, aneuploidy, sister chromatid exchange and cancer risk assesment”, *Mutation Research* 365 (1-3), 147-159, 1996

TUNÇEL, M., SERİN, S., Synthesis and characterization of new azo-linked Schiff bases and their cobalt(II), copper(II) and nickel(II) complexes, *Transition Metal Chemistry*, 31, 805–812, 2006

TURAN, N., 1,8 diamino-naftalinden elde edilen schiff bazının Co(II), Ni(II), Cu(II) komplekslerinin sentezi ve karakterizasyonu, Yüksek Lisans Tezi, Fırat Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Kimya anabilimdalı, 10, 2003

TÜMER, M., AKGÜN, E., TOROĞLU, S., KAYARLDIZ, A., DÖNBAK, L., Synthesis and characterization of Schiff base metal complexes: their antimicrobial, genotoxicity and electrochemical properties *Journal of Coordination Chemistry* , 61, 18, 2935-2949, 2008

TÜMER, M., Transition metal complexes of bidentate Schiff base ligands, *Transition Metal Chemistry*, 24, 525-532, 1999

TÜRKEZ, H. Bazı bor bileşiklerinin in vitro şartlarda periferal insan kanı üzerine genetik ve biyokimyasal etkileri Atatürk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi 52, 2007

VAİDYANATHAN, V. G., WEYLEYHERMULLER, NAİR., B. U., SUBRAMANIAN, V., *Journal of Inorganic Biochemistry*, 99, (11), 2248-2255, 2005

VENKATARAMAN, K. *Organic Pigments, Synthetic Dyes*; Academic Press, Ins.: New York, 5, 427–437, 1971

VIA L. D., GÌA O, GASPARATO V., FERLÌN, M. G., Discovery of a new anilino-3*H*-pyrrolo[3,2-*f*]quinoline derivative as potential anti-cancer agent, *European Journal of Medicinal Chemistry*, 43, (2), 429-434, 2008

VÌJAYALAKSHMÌ, R., KANTHÌMATHÌ, M., KANTHÌMATHÌ, M., SUBRAMANÌAN, V., NAÌR B.U., Interaction of DNA with [Cr(Schiff base)(H₂O)₂]ClO₄ *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects*, 1475, 12, 157-162, 2000

VURAL, N., *Toksikoloji Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*, 15, 135-140, 2005

WEÌSBURGER, J.H., RÌVENSON, A. vd, Genotoxicity and Carcinogenicity in Rats and Mice of 2-Amino-3, 6- dihydro-3-methyl-7*H*-imidazo [4, 5-*f*]quinolin-7-one: an Intestinal Bacterial an Intestinal Bacterial Metabolite of 2-Amino-3-methyl-3*H*-imidazo[4, 5-*f*]quinoline , *JNCI Journal of the national cancer institute*, 86 (1), 25-30, 1993

WEYAND, E.H., DEFAUW, J., MC QUEEN, C.A., MESCHTER, C.L., MEEGALLA, S.K., VOÌE, J. L., Bioassay of quinoline, 5-fluoroquinoline, carbazole, 9-methylcarbazole and 9-ethylcarbazole in newborn mice , *Food and Chemical Toxicology*, 31, (10), 707-715, 1993

WÌLSON, D.M, Larry H. Thompson Molecular mechanisms of sister-chromatid Exchange *Mutation Research* 616, 11–23, 2007

YILMAZ, İ., Synthesis, characterization and antimicrobial activity of the Schiff bases derived from 2,4-disubstituted thiazoles and 3-methoxysalicylaldehyde, and their cobalt(II), copper(II), nickel(II) and zinc(II) complexes, *Transition Metal Chemistry* 28, 399–404, 2003

YILMAZ, S., AKSOY, H., ÜNAL, F., ÇELİK, M., YÜZBAŞIOĞLU, D., “Genotoxic action of fungicide Conan 5FL on mammalian cells *in vivo* and *in vitro*”, *Russian Journal of Genetics*, 44 (3), 273-278, 2008

YILMAZ, S. Bazı gıda katkı maddelerinin genotoksik etkileri Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Doktora Tezi, 22, 2008

YOU, Z.L., ZHU, H.L., LÌ, W.S., Solvolthermal Syntheses and Crystal Structures of Three Linear Trinuclear Schiff Base Complexes of Zinc(II) and Cadmium(II) *Zeitschrift für anorganische und allgemeine Chemie*, 630(11), 1617–1622, 2004

ZEÌGER E., Genetic toxicity tests for predicting carcinogentiy , Edi. CHOY W.N., *Genetic toxicology and cancer risk assesment*, 29-45, 2001

ZHU, X., WANG C., DANG, Y., ZHOU H., WU Z., The schiff base n- salisiliden-O-S- dimethylthio fosphorylimineand its metal complexes, synthesis characterization and insecticidal activity studies, *Synthesis and Reactivity in Inorganic and Metal-Organic Chemistry*, 30(4), 625-636, (2000)

ÖZGEÇMİŞ

Hatice TUNCA, 01.09.1985 tarihinde Ankara'da doğdu. İlk, orta ve lise eğitimini Keçiören'de tamamladı. 2003 yılında Ankara Fethiye Kemal Mumcu Anadolu Lisesinden mezun oldu aynı yıl içerisinde Necatibey Eğitim Fakültesi Biyoloji Eğitimi bölümünü kazandı. 2008 yılında bu bölümden mezun oldu. 2010 yılında göreve başladığı Sakarya Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesinde halen araştırma görevlisi olarak çalışmaktadır.