



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



SODYUM HİPOKLORİT ETKİSİNE MARUZ KALAN
ÜREME ÇAĞINDAKİ KADINLARIN PERİFERAL KAN
LENFOSİT KÜLTÜRÜNDE KROMOZOM
ABERASYONLARININ ARAŞTIRILMASI

Gülbahar GÜZEL ERDAL

YÜKSEK LİSANS TEZİ

TIBBİ BİYOLOJİ ve GENETİK ANABİLİM DALI

DANIŞMAN
Prof. Dr. Mahmut BALKAN

DİYARBAKIR-2019



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



ONAY

Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Gülbahar GÜZEL ERDAL'ın hazırladığı “Sodyum Hipoklorit Etkisine Maruz Kalan Üreme Çağındaki Kadınların Periferik Kan Lenfosit Kültüründe Kromozom Aberasyonlarının Araştırılması” başlıklı tez Dicle Üniversitesi Lisansüstü Eğitim - Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca kapsam ve bilimsel kalite yönünden değerlendirilerek Yüksek Lisans Tezi olarak kabul edilmiştir.

Tarih: .../.../20..

Danışman Prof.Dr. Mahmut BALKAN

Jüri Üyeleri

İmza

Jüri Başkanı		_____
Üye		_____
Üye		_____
Üye		_____
Üye		_____

Bu tez Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu'nun .../.../20.. tarih ve sayılı kararıyla onaylanmıştır.

.../.../.....

Prof. Dr. Hakkı Murat BİLGİN
Dicle Üniversitesi
Sağlık Bilimleri Enstitüsü Müdürü



TÜRKİYE CUMHURİYETİ
DİCLE ÜNİVERSİTESİ
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ



BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmasıyla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığını ve tezimi Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kılavuzu standartlarına uygun bir şekilde hazırladığımı beyan ederim.

...../...../20...

Gülbahar GÜZEL ERDAL

İmza

TEŞEKKÜR

Çalışmamı tamamlamam için her zaman destek olan ve kendilerine ne zaman bir konu hakkında danışsam kıymetli zamanlarını ayırıp sabırla ve ilgiyle bana yardımcı olmaya çalışan değerli danışman hocam Prof. Dr. Mahmut BALKAN'a çok teşekkür ederim.

Bu çalışmanın gerçekleşmesinde en büyük katkısı olan, eğitim sürecim boyunca yoluma ışık tutan, tez konumu öneren ve çok önemseyen ilk hedefimin insanlığa hizmet olması gerektiğini bana aşılayan her zaman örnek adıgım ve alacağım Prof. Dr. Hilmi İSİ'yi saygı ve özlemle anarım.

Çalışmalarım esnasında bilgi ve birikimlerini benimle paylaşan verdikleri dersler ile aynı zamanda eğitimime katkı sunan, üzerimde büyük emekleri olan birbirinden değerli Öğr. Üyesi Dr. Diclehan ORAL, Doç. Dr. Selahattin Tekeş, Doç. Dr. Selda Şimşek, Dr. İlyas Yücel, Dr. Mahir BİNİCİ hocalarıma;

Biyoistatistik analiz çalışmalarında yardımlarıyla tezime katkı sunan Biyoistatistik Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Ömer SATICI'ya;

Tüm eğitim hayatım boyunca bana yol gösteren, sabırla bana her konuda yardımcı olan örnek aldığım Doç. Dr. Remziye GÜZEL'e;

Çalışmalarımda her türlü katkısı esirgemeyen çok değerli anabilim dalı çalışanlarımız Fatma AYATA, Hasan GÖYA, Asiye BAYRAK, Ferda TEKİN, Gül KILIÇ, Emel ESEN, Berivan ATEŞ, Serap BİNİCİ, Muhammed AKDEMİR ve Engin ATABAY'a;

Tüm hayatım boyunca desteklerini esirgemeyen kıymetli babam Osman GÜZEL, annem Şerife GÜZEL ve kardeşlerim Sadiye GÜZEL, Sema GÜZEL, Meltem SELVİTOPU ve Mesut GÜZEL'e;

Teşekkürlerimi bir borç bilirim.

Bu çalışmamı beni her zaman iyi yerlerde görmek isteyen değerli annem Şerife GÜZEL 'e ithaf ederim.

Özverisinden dolayı değerli eşim Tolga ERDAL'a sonsuz teşekkür ederim.

TIP.19.007 numaralı bu proje DÜBAP tarafından desteklenmektedir.

İÇİNDEKİLER

BEYAN.....	I
TEŞEKKÜR.....	II
İÇİNDEKİLER	III
KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ.....	VI
ŞEKİL, RESİM VE TABLOLAR LİSTESİ.....	VII
1.1. ÖZET.....	1
1.2. ABSTRACT	2
2. GİRİŞ VE AMAÇ	4
3. GENEL BİLGİLER.....	11
3.1. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler	11
3.2. Kromozom Morfolojisi	11
3.2.1. Kromatid	12
3.2.2. Kromonema.....	12
3.2.3.Sentromer	13
3.2.3.1. Metasentrik kromozomlar	13
3.2.3.2. Submetasentrik kromozomlar	13
3.2.3.3. Akrosentrik kromozomlar	13
3.2.3.4. Telosentrik kromozomlar	13
3.3. Kromozom Sayısı İle Türler Arasındaki İlişki	14
3.4. Kromozom Terminolojisi.....	15
3.5. İnsan Kromozom Gruplarının Genel Karakteristikleri.....	16
3.5.1. Grup A: Kromozom 1–3	16
3.5.2. Grup B: Kromozom 4–5.....	16
3.5.3. Grup C: Kromozom 6–12.....	16
3.5.4. Grup D: Kromozom 13–15	16
3.5.5. Grup E: Kromozom 16–18.....	16
3.5.6. Grup F: Kromozom 19–20	16
3.5.7. Grup G: Kromozom 21–22	17
3.6. Kromozom Anomalilerinin Sınıflandırılması	17

3.6.1. Sayısal kromozom anomalileri.....	17
3.6.1.1. Poliploidi.....	17
3.6.1.2. Anöploidi	18
3.6.2. Yapısal kromozom anomalileri	19
3.6.2.1. Delesyon.....	20
3.6.2.2. Duplikasyon	20
3.6.2.3. İnversiyon.....	20
3.6.2.4.1. Resiprokal translokasyon	21
3.6.2.4.2. Robertsonian translokasyon	21
3.6.2.4.3. İnversiyonal translokasyon.....	21
3.6.2.5. İzokromozom/ İzodisentrik kromozom.....	21
3.6.2.6. Halka kromozom.....	22
3.6.2.7. Marker kromozomlar	22
3.6.2.8. Yapışkanlık	22
3.6.2.9. Kırık	22
3.6.2.10. Gap (Aralık)	22
3.6.2.11. Pulvarizasyon	22
3.6.2.12. Haç kromozomu	23
3.6.2.13. Satellit assosiasyonu.....	23
3.6.2.14. İri satellitler	23
3.7. Toksik Maddelerin Biyolojik ve Moleküler Etkileri.....	23
3.7.1. Metafaz zehirlenmesi ve anöploidizasyon	25
3.7.2. Kromozomlarda kırılma ve eksilmeler.....	25
3.7.2.2. DNA onarımı.....	26
3.7.2.3. Mutasyonların insan sağlığı üzerindeki etkileri	27
3.7.2.3.1. Eşey hücrelerinde oluşan genetik düzensizlikler	27
3.7.2.3.2. Somatik hücrelerde oluşan genetik düzensizlikler.....	28
3.8. Folik Asit.....	28
3.8.1. Folik Asit'in etki mekanizması	30
3.8.2. Kobalamin (B12 Vitamini).....	32
3.8.3. Folik Asit ve B12 Vitamini Etki Mekanizması	32
4. MATERYAL VE METOD.....	34
4.1. MATERYAL.....	35

4.1.1.Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları.....	35
4.1.1.1. Sodyum Hipoklorit.....	35
4.1.1.2. Folik Asit.....	35
4.1.1.4. Diğer Kimyasal maddeler	36
4.1.1.5. Kullanılan solüsyonlar	37
4.1.1.6. Kültür ortamı	37
4.1.1.6.1. Periferik kan kültürü	37
4.1.1.7. Diğer gereçler.....	37
4.2. METOD.....	38
4.2.1. Araştırma popülasyonu	38
4.2.2. Kromozom elde etme yöntemi	39
4.2.3. Preperatların boyanması.....	40
4.2.4. Preperatların değerlendirilmesi	40
4.2.5.Mitotik İndeks (MI) ve Kromozom Anormalliklerinin (KA) Saptanması	41
4.2.6. Kromozom Yapı ve Sayı Anormalliklerinin Saptanması.....	41
4.3. Yöntem.....	41
4.3.1. İstatistiksel Analiz.....	42
4.3.2. Laboratuvar Uygulamaları	42
5. BULGULAR	45
5.1. Toplam Düzensizliklere Ait Bulgular	46
5.2. Yapısal Düzensizliklere Ait Bulgular	54
5.3. Sayısal Düzensizliklere Ait Bulgular	60
6. TARTIŞMA	71
7. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	75
8. KAYNAKLAR.....	77
9. ÖZGEÇMİŞ.....	82
10. ETİK KURUL RAPORU.....	83
11. İNTİHAL RAPORU.....	84
12. Gönüllülerin Bilgilendirme ve Olur (Rıza) Formu.....	89

KISALTMALAR VE SİMGELER LİSTESİ

NaOCl , NaClO : Sodyum Hipoklorit

ClO⁻ : Hipoklorit İyonu

DDT : Dikloro difenil trikloroethan

HOCl : Hipokloröz Asit

HCl : Hidroklorik asit

NaOH : Sodyum hidroksit

NaDCC : Sodyum dikloroizosiyanürat

SH : Sülfidril grubu

MPO : Miyeloperoksidaz

DNA : Deoksiribonükleik asit

RNA : Ribonükleik asit

A : Adenin

G : Guanin

T : Timin

C : Sitozin

MN : Mikronukleus

X-Y : Cinsiyet kromozomları

kb : kilobyte

CO : Karbonmonoksit

UV : Ultraviyole

PABA : p-aminobenzoik asit

FDA : Amerika Gıda ve İlaç İdaresi

NADPH : Nikotinamid Adenin Dinükleotid Fosfat

DHF : Dihidrofolat

THF : Tetrahidrofolat

dUMP : Deoksiüridilat

dTMP : Timidin monofosfat

NTD : Nöral tüp defekti

SAM : S-adenosil metiyonin

MTHFR : Metilendetrahidrofolat redüktaz

ŞEKİL, RESİM VE TABLOLAR LİSTESİ

Şekil 1. İmmun Sistemde Miyeloperoksidaz Aktivitesi	8
Şekil 2. Folik Asit Formülü	29
Şekil 3. Folik Asitin Etki Mekanizması	30
Şekil 4. Folik Asit ve B12 Vitamini Etki Mekanizması	33
Şekil 5. Medeni duruma göre yaş ortalamaları grafiği	46
Şekil 6. Düzensizlik Gösteren Hücre Sayısı Gruplararası Frekans Grafiği	48
Şekil 7. Medeni Duruma Göre Gruplararası Düzensizlik Gösteren Hücre Sayısı Grafiği	48
Şekil 8. Düzensizlik Gösteren Hücre Sayısı Ölçümlerin Frekans Grafiği	49
Şekil 9. Toplam Düzensizlik İçeren Hücre Ölçümlerinin Önce-Sonra Değerleri	50
Şekil 10. Toplam Düzensizlik İçeren Üç Grubun Karşılaştırılması Grafiği	51
Şekil 11. Kromozom Aberasyonlarının Toplamının Gruplar Arası Dağılımı	52
Şekil 12. Düşük Durumuna Göre Ortalama Toplam Düzensizlikler Grafiği	54
Şekil 13. Yapısal Düzensizlik İçeren Hücre Sayısının % Dağılımı Grafiği	55
Şekil 14. Yapısal Düzensizliklerin Toplam Sayısı	56
Şekil 15. Yapısal Düzensizlik Yüzdeleri Grafiği	57
Şekil 16. Yapısal Düzensizlik İçeren Hücre Ölçümlerinin Kullanma-Bırakma Dönemlerinde Dağılışı Grafiği	58
Şekil 17. Çamaşır Suyu Kullanma-Bırakma Dönemi Kromatid Kırık Değerleri Grafiği	59
Şekil 18. Çamaşır Suyu Kullanma-Bırakma Dönemi İzokromatid Kırık Değerleri Grafiği	60
Şekil 19. Sayısal Düzensizlik Sıklığı	61
Şekil 20. Sayısal Düzensizliklerin Gruplararası Dağılımı Grafiği	62
Şekil 21. Çamaşır suyuna maruz kalınan sürenin toplam düzensizliklere etkisi	64
Şekil 22. Kullanılan çamaşır suyu miktarının toplam düzensizliklere etkisi	65

Tablo 1. NaOCI bileşenleri	35
Tablo 2. İncelenen Metafaz Kayıt Tablosu Taslağı Örneği	44
Tablo 3. Grup ve Medeni Duruma Göre Kişi Sayısı Tanımlayıcı İstatistikleri	45
Tablo 4. Gruplar ve Medeni Durum Kategorik Değişkenlerine Göre Yaş Değişkeni	45
Tablo 5. Medeni Duruma Göre Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	47
Tablo 6. Gruplar Arası Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı	47
Tablo 7. Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı Tanımlayıcı İstatistikleri	49
Tablo 8. Düzensizlik Gösteren Hücre Sayılarının Önce-Sonra Değerleri İstatistiği	50
Tablo 9. Toplam Düzensizlik İçeren Üç Grubun Tanımlayıcı İstatistikleri	51
Tablo 10. Toplam Düzensizliklerin Sayısına İlişkin Tanımlayıcı İstatistikler	52
Tablo 11. Kişilerin Ön Tanısına Göre Toplam Düzensizlik Tablosu	53
Tablo 12. Kişilerin Düşük Sayısına Göre Toplam Düzensizliklerin Dağılımı Tanımlayıcı İstatistikleri	53
Tablo 13. Ortalama Toplam Yapısal Düzensizlikler	54
Tablo 14. Yapısal Düzensizlik Tiplerinin Yüzde Olarak Gösterilmesi	56
Tablo 15. Çamaşır Suyu Kullanma Ve Bırakma Dönemlerinde Toplam Yapısal Düzensizlik Yüzdeleri Tablosu	57
Tablo 16. Tekrarlı Grupta Kromatit Kırık Önce ve Sonra Değerleri	58
Tablo 17. Çamaşır Suyu Kullanma-Bırakma Dönemi İzokromatid Kırık Sayısının İstatistiksel Değerleri Tablosu	59
Tablo 18. Sayısal Düzensizliklerin Gruplararası Dağılımı İstatistikleri	61
Tablo 19. Deney ve Kontrol Grubunda Maruz Kalınan Süre ve Kullanılan Çamaşır Suyu Miktarı İstatistikleri	62
Tablo 20. Çamaşır Suyuna Maruz Kalınan Süre ve Kullanılan Miktarın Toplam Düzensizlikler ile Korelasyonu	63

Resim 1. Normal Kadın Karyotipi	66
Resim 2. Kromatid Kırık ve Çoklu Kırık	66
Resim 3. Kromatid Gap, Çoklu Kırık	67
Resim 4. Delesyon,Kromatid Kırık, Kromatid Gap	67
Resim 5. İzokromozom	68
Resim 6. Sekonder Boğum	68
Resim 7. İzokromatid Kırık	69
Resim 8. Satellit Assosiasyonu	69
Resim 9. Poliploid Hücre	70
Resim 10. Çoklu Kırık Gösteren Hücre	70



Sodyum Hipoklorit Etkisine Maruz Kalan Üreme Çağındaki Kadınların Periferik Kan Lenfosit Kültüründe Kromozom Aberasyonlarının Araştırılması

Öğrencinin Adı ve Soyadı: Gülbahar GÜZEL ERDAL

Danışmanı: Prof.Dr. Mahmut BALKAN

Anabilim Dalı: Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı

1.1. ÖZET

Amaç: Bu çalışmamızın amacı; sodyum hipoklorit etkisine maruz kalan üreme çağındaki kadınların in vitro insan peripheral lenfositleri üzerindeki genotoksik etkilerinin araştırılmasıdır.

Gereç ve Yöntem: Toplam 155 sağlıklı bireyden alınan periferik kan kültürü ile in vitro koşullarda çalışıldı. Kromozomların elde edilmesi için tüm kan tekniği olarak bilinen lenfosit doku kültürü yöntemi uygulandı. Oluşturulan deney, kontrol ve tekrarlı gruplar sitogenetik olarak incelenip değerlendirildi. Kromozom aberasyonları yapısal ve sayısal düzensizlik olarak iki başlık altında incelendi. Yapısal ve sayısal düzensizlikler başlığı altında toplam incelediğimiz 13 değişken bulunmaktadır. Değişkenlerimiz metafaz sayısı, kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık, izokromatid kırık, delesyon, duplikasyon, fragment, endomitoz, endereoduplikasyon, disentrik, assosyasyon ve diğer düzensizliklerdir.

Bulgular: Verilerimizle düzensiz hücre sayıları toplamını değerlendirdiğimizde NaOCI' ye maruz kalan bireylerin düzensiz hücre sayılarında anlamlı artış olduğu belirlenmiştir ($p=0,000$). NaOCI' ye maruz kalan bireylerin yapısal ve sayısal düzensizlikleri incelendiğinde NaOCI' ye maruziyet ile beraber yapısal ve sayısal düzensizliklerin anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir ($p=0,000$). En sık görülen yapısal düzensizlik olan kromatid kırık sayısının da maruziyetle arttığı görülmüştür ($p=0,000$).

Sonuç: NaOCI'ye uzun süre maruz kalmanın kromozomlar üzerinde negatif etki ederek kromozom aberasyonlarını tetiklediğini düşünmekteyiz. Literatür

incelendiğinde ülkemizde bu konu ile ilgili çalışmanın yapılmamış olması bakımından önem arz etmektedir.

Anahtar Sözcükler: NaOCl, genotoksik etki, kromozomal aberasyon, sitogenetik analiz, yapısal anomaliler

Research of Chromosome Aberrations in Peripheral Blood Lymphocyte Culture of Women with Reproductive Health Exposure to Sodium Hypochlorite

Student's Surname and Name: Gülbahar GÜZEL ERDAL

Adviser of Thesis: Prof. Dr. Mahmut BALKAN

Department: Department of Medical Biology and Genetics

1.2. ABSTRACT

Aim: The aim of this study is to investigate the genotoxic effects of human peripheral lymphocytes in vitro in places of reproductive age at the time of exposure to the effect of sodium hypochlorite.

Material and Methods: Peripheral blood cultures from 155 healthy individuals were studied in vitro. In order to obtain chromosomes, lymphocyte tissue culture method known as whole blood technique was applied. Experimental, control and repetitive groups were examined and evaluated cytogenetically. Chromosome aberrations were examined under two headings as structural and numerical irregularities. There are a total of 13 variables under the title of structural and numerical irregularities. Our variables are metaphase number, chromatid gap, isochromatid gap, chromatid fracture, isochromatide fracture, deletion, duplication, fragment, endomitosis, endereoduplication, disentricity, association and other irregularities.

Results: When we evaluated the total number of irregular cells with our data, it was found that increase in the irregular cell numbers of individuals exposed to NaOCl was a significant OCl ($p = 0,000$). When the structural and numerical abberations of the individuals exposed to NaOCl were examined, it was observed that the structural and numerical irregularities increased significantly with the exposure to NaOCl ($p =$

0.000). The number of chromatid fractures, the most common structural disorder, was also increased with exposure ($p = 0.000$).

Conclusion: We think that prolonged exposure to NaOCI can negatively affect chromosomes, triggering chromosome aberrations. When the literature is examined, it is important that no study on this subject has been performed in our country.

Key Words: NaOCI, genotoxic effect, chromosomal aberration, cytogenetic analysis, structural anomalies



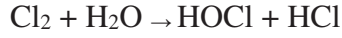
2. GİRİŞ VE AMAÇ

Periyodik tabloda atom numarası 17 olan klor, doğada yaygın bir element olmasına rağmen, serbest olarak oluşmaz. Genellikle sodyum, potasyum, magnezyum ve kalsiyum ile birlikte bulunur. 1774 yılında İsveçli eczacı olan Carl Wilhem Scheele tarafından keşfedilmiş olup, 1809 yılında element olduğu düşünülmüş ve İngiliz kimyacı olan Sir Humprey Davy yeşilimsi sarı renginden dolayı Yunanca yeşilimsi sarı anlamına gelen choloros kelimesinden esinlenerek klor olarak isimlendirilmiştir. Beyazlatıcı olarak ilk kez 1978’de, deodorant ve dezenfektan olarak ise ilk kez 1827’de kullanılmıştır. 1847’de Viyana’da lohusalık ateşini kontrol altına almak için Semmelweis tarafından kullanılmıştır. Koch, 1881’de, bakterilerin saf kültürlerinin hipokloridler ile öldürülebileceğini göstermiştir. Suların klor ile dezenfekte edilmesi 1894’te gerçekleştirilmiştir. 1915’te Dankin’in % 0.45-0.50 sodyum hipoklorid solüsyonunu infekte olmuş açık yaraların dezenfeksiyonu için önermesiyle 1. Dünya Savaşı sırasında yaygın bir şekilde kullanılmaya başlanmıştır. İlk haliyle klorlanmış kireç ve borik asitli sodyum karbonat karışımı olan Dankin solüsyonu daha sonra borik asidin tahriş edici özelliğinden dolayı borik asit yerine sodyum bikarbonat ile hazırlanmıştır (1).

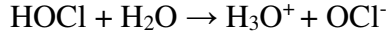
Seyreltik bir çözelti çok kararlı hipoklorit iyonlarına sahiptir, güçlü bir kimyasal oksidandır. Klorlama, dünya çapında içme ve kullanma suyunun dezenfekte edilmesinde yaygın olarak kullanılan bir yöntemdir. İçme suyunun dezenfekte edilmesinde 0,2-1 mg / L konsantrasyonlarında klor kullanılır. Klor ile ağartılmış pasta unu, 1,3-1,9 g / kg aralığında klor içerir. Ağartılmamış un, az miktarda klor (400-500 mg / kg) içerebilir (2).

Olağan ev tipi çamaşır suyu içindeki aktif bileşen sodyum hipoklorittir (kütlege yaklaşık %5) ve soğuk sodyum hidroksit çözeltisi ile klor gazının tepkimesinden elde edilir. Klor aynı zamanda suyu arıtmak ve yüzme havuzlarını dezenfekte etmek için kullanılır. ClO^- iyonlarının bakterilerin içindeki yaşamı devam ettiren bileşikleri yükseltgeyerek bakterileri öldürdüğü düşünülmektedir. Büyük miktarda klor, DDT gibi böcek öldürücü maddelerin üretiminde kullanılır. Bununla birlikte bu yolla çevreye zarar vermeleri açısından, bu bileşiklerin çoğunun kullanımı büyük ölçüde ABD’de sınırlandırılmıştır (3).

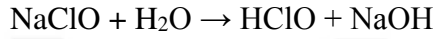
Klor su ile hipokloröz asit ve hidroklorik asit oluşturacak şekilde reaksiyona girer.



Hipokloröz asit (HCOI) suda iyonlarına ayrışır.



Sodyum hipoklorit suda hipokloröz asit ve sodyum hidroksit oluşturacak şekilde reaksiyona girer.



Klorun etkinliği pH ile ters orantılıdır. Etkinlik asidik pH'larda hipokloröz asidin hipoklorit iyon konsantrasyonundan fazla olmasından dolayı artar. Konsantrasyon ve sıcaklık klor bileşiklerinin etkinliğini artırır. Alkali deterjanların ve organik madde varlığı ise klorun etkinliğini azaltır (4).

Klorun dezenfektan etkisinin pH'daki artışla azalmasının nedeni hipokloröz asitin pH 6'nın altında çözünmezken bu değerin üzerinde çözünmeye başlaması ve pH 9'un üzerinde ortamda hipoklorid iyonunun üstün duruma geçmesindendir (5). Hipokloröz asitin bakterisidal etkisi hipoklorid iyonundan çok daha fazladır. Az miktarda hipokloröz asit ve çok miktarda hipoklorid iyonu içeren hem sodyum hem kalsiyum hipokloridin alkali solüsyonları bakterisidal etkilidir (6). Bu sonuç, hipoklorid iyonunun da dezenfeksiyona katkısı olan bir faktör olabileceğini göstermektedir. HOCl, bakteri hücreleri, eritrositler, lenfositler, fibroblastlar, endotelial ve epitelyal hücreler dahil çeşitli hücre tiplerini öldürür (7-10). Sodyum hipoklorit geniş bir antimikrobiyal aktiviteye sahiptir. Genellikle, virüsler ve bitkisel bakteriler, hipokloritlere endospor oluşturan bakteriler, mantarlar ve protozoalardan daha duyarlıdır (11). Yapılan bir çalışmada sodyum hipoklorit (NaOCl) ve sodyum dikloroizosiyanüratın (NaDCC) antimikrobiyal ve sitotoksik etkileri değerlendirilmiş ve in vitro olarak karşılaştırılmıştır. Minimal inhibitör konsantrasyon ve minimal NaOCl ve NaDCC konsantrasyonu, Streptococcus sobrinus, Streptococcus salivarius, Enterococcus faecalis ve Streptococcus mutantlar için test edilmiştir. Sitotoksik etki,

insan fibroblast doku kültürü kullanılarak değerlendirilmiştir. Sağ-kalım oranı bir protein tespit yöntemi ile değerlendirilmiştir. Sonuçlar, test edilen bakteriler için NaOCl ve NaDCC'nin minimal inhibitör konsantrasyon ve minimal bakterisit konsantrasyonları değerlerinin benzer olduğunu göstermiştir. % 0.02'den daha yüksek konsantrasyonlarda NaDCC ve % 0.01'den yüksek konsantrasyonlarda NaOCl, fibroblastlar için öldürücü olmuştur. Sonuç olarak, her iki ajanın da bakterileri öldürmede çok etkili olduğunu ve doku kültüründeki fibroblastlara karşı sitotoksitesinin benzer olduğunu göstermiştir (12).

Sodyum hipoklorit (NaOCl), gerek organik doku çözücü özelliği, gerekse geniş spektrumlu antibakteriyel etkinliği ve dentin duvarlarına diffüzyon yeteneğine sahip olması, düşük yüzey gerilimi, ekonomik olması ve kolay bulunabilmesi gibi nedenlerle günümüzde en çok tercih edilen irrigasyon solüsyonudur. Bununla birlikte; kokusunun hoş olmaması, aletlerin korozyonuna ve periapikal dokularda sitotoksositeye neden olması gibi dezavantajları sebebiyle, bu materyale alternatif olabilecek daha az sitotoksik ve geniş antimikrobiyal etkinliğe sahip değişik yıkama solüsyonları için araştırmalar devam etmektedir (13-15).

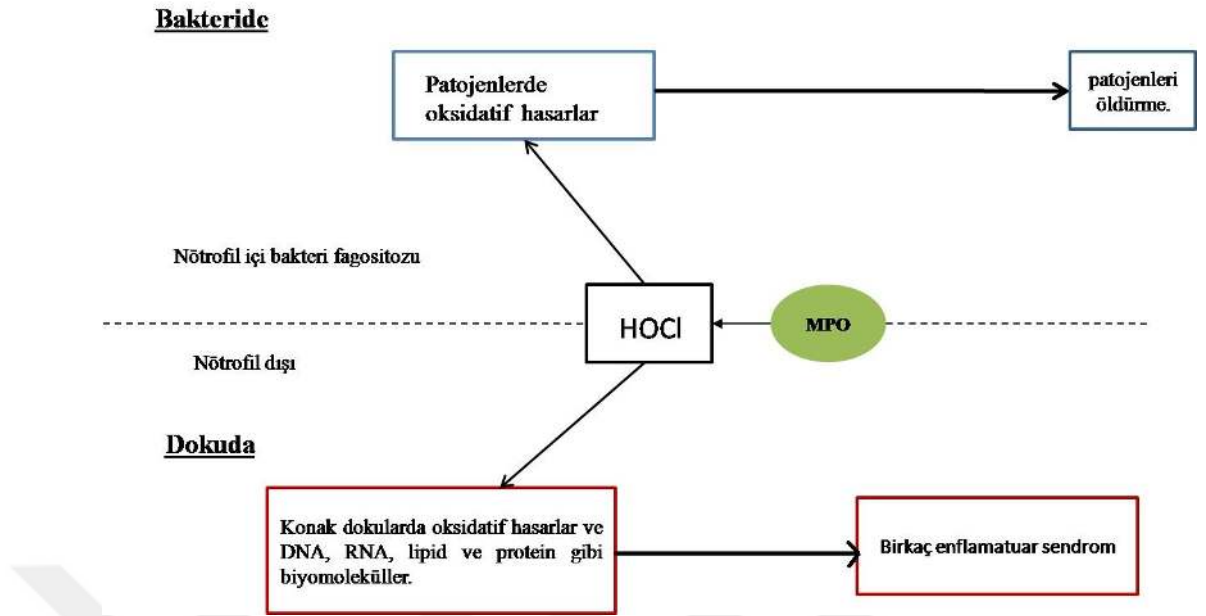
Spano ve arkadaşları tarafından yapılan bir araştırmada, 4 farklı konsantrasyondaki sodyum hipokloritin sıgır pulpası üzerindeki doku çözücü etkisi karşılaştırılmış ve sonuç olarak, NaOCl'nin tüm konsantrasyonlarının yüzey gerilimi ve pH seviyesini azalttığı, sadece yüksek konsantrasyonlarının dokuları çözmede etkili olduğu gösterilmiştir (16).

Bununla birlikte; sodyum hipokloritin yüksek konsantrasyonlarının periapikal dokulara toksik etki gösterdiği, biyouyumluluğu iyi olan düşük konsantrasyonlarının ise antibakteriyel etkinliği ve doku çözme yeteneğinin önemli ölçüde azaldığı bildirilmektedir. Bu nedenle, sodyum hipokloritin dikkatli kullanılması, özellikle geniş çaplı apekse sahip diflerin kök kanallarından periapikal dokulara taşırılmamasına özen gösterilmesi gerektiği bildirilmiştir. Ayrıca; foramen apikaleden çıktığında sağlıklı periapikal dokular üzerinde de çözücü etki gösterebildiği, kötü koku ve endodontik aletleri korozyona uğratma gibi dezavantajlarının da olduğunu belirtilmiştir (17-19).

Birçok çalışmada, çeşitli kök kanalı sulayıcılarının sitotoksitesini karşılaştırılmış, ancak diğer biyouyumluluk faktörleri hakkında az sayıda çalışma bildirilmiştir. Bir çalışma, periton boşluğuna enjekte edildiğinde Dankin'in enflamatuar etkilerini değerlendirirken, başka bir çalışma, sodyum hipokloritin genotoksitesini değerlendirmiş ve kök kanal sulayıcıların genotoksitesinin yokluğuna varmıştır. Bununla birlikte, ISO standartlarına göre, dental materyallerin genotoksitesi in vivo testlerden önce değerlendirilmelidir. Buna ek olarak, bazı çalışmalarda sodyum hipoklorit ve hipokloröz asidin genotoksik potansiyel gösterebileceği bildirilmiştir (20-24).

Klorür insan vücudunda hücre içi ve hücre dışı sıvılarda temel anyon olduğu için biyolojik bir öneme sahiptir. Klor hücre içinde SH grupları içeren yaşamsal enzimlerin geri dönüşümsüz oksidasyonuna yol açar. Hipokloridler, sitoplazmik bileşiklerle birleşerek toksik N-kloro bileşikleri oluşturur ve oluşan ürün hücre metabolizmasını bozarak hücrenin ölümüne neden olur (3,4).

Hipokloröz anyonlar insan vücudunda da bulunur, kanın beyaz hücreleri (nötrofiller ve monositler) tarafından oluşturur ve iltihaplanma sırasında güçlü bir antimikrobiyal madde olarak işlev görürler. Vücut bir mikroorganizma ile karşılaştığında bağışıklık sistemi devreye girer. Memeli nötrofillerinde bulunan miyeloperoksidaz enzimi, hidrojen peroksit tarafından klorid iyonlarının oksidasyonu yoluyla hipoklorik asit üretimini katalizler. Bu reaksiyon sonucu bakteriler için toksik etki yaratan hipokloröz asit oluşur ve bakterilerin fagositoz sürecine girmeleri sağlanır. Güçlü sitotoksik etkisinden dolayı hipoklorik asit α 1-antiproteinaz'ı inaktive etmekte ve enflamatuar yanıtla ilişkili nötrofil aracılı doku hasarına neden olmaktadır. HCl, bir oksidan olmanın yanı sıra hidrojen peroksit ve süperoksit anyonuyla reaksiyona girerek toksisitenin başlamasına büyük olasılıkla katkı sağlayan diğer yüksek reaktif oksitleyici moleküller (serbest oksijen ve hidroksil radikali) oluşmasına neden olur. Ek olarak, hipoklorit, bazıları kendi toksisitelerine sahip olan organoklorür türleri oluşturan amino asitler, tiyolik bileşikler, nükleotitler ve lipoproteinler gibi bazı hücrel bileşenleri ile reaksiyona girebilir (25-27).



Şekil 1. İmmün Sistemde Miyeloperoksidaz Aktivitesi

Miyeloperoksidaz (MPO), patojenlerin öldürülmesine katkıda bulunan hipokloröz asit (HOCl) üreterek immün savunma sisteminde kritik bir rol oynar. Bununla birlikte, MPO, konak dokularda oksidatif hasara neden olur (28).

Hawkins ve Davies de yaptıkları çalışmada; Uyarılmış monositler ve nötrofillerin, enzim miyeloperoksidaz ve hidrojen peroksidin salınması yoluyla hipokloröz asit (HOCl) ürettiğini rapor etmişlerdir. HOCl, anahtar bir bakterisit ajandır, ancak konak dokusuna da zarar verebilir. Kronik inflamasyon ve bazı kanserler arasında güçlü bir bağlantı olduğundan, DNA, RNA ve polinükleotitlere HOCl hasarı araştırılmıştır. HOCl'in bu moleküllerle reaksiyonu, başlangıçtaki başlıca ürünler olan çoklu semistabl kloraminler (RNHCl/ RR'NCl) üretmekte ve eklenen HOCl'nin % 50-95'ini oluşturmaktadır. Bu kloraminler, nükleozitten türetilmiş, nitrojen merkezli radikaller vermek üzere termal ve metal-iyon katalizli işlemlerle bozundurulmuş ve sonra EPR spin yakalaması ile karakterize edilmiştir. Polinükleotidlerle radikal oluşumu eğilimi, sitidin> adenosin> guanosin> üridin> timidin'dir. Bozulma oranları ve oluşan radikallerin verimleri, oluşturuldukları nükleobazın doğasına bağlıdır, halkalı heterosiklik amin gruplarından oluşan kloraminler, ekzosiklik aminler (RNH₂ grupları) üzerinde oluşturulanlardan daha az

stabildir. Çalışmada, HOCl'in plazmid DNA ile doğrudan reaksiyonu, kloramin aracılı reaksiyonlar yoluyla tek ve çift iplikli kırılmalara yol açmıştır. Önceden oluşturulmuş nükleosid kloraminler de plazmid bölünmesini tetiklemiş, ancak bu, radikal oluşumun hızlı olduğu kararsız timidin ve üridinden türetilmiş kloraminler ile önemli ölçüde meydana gelmiştir. Genel olarak veriler, DNA'daki klorlanmış 2'deoksisitidin ve 2'deoksiadenozin tercihli oluşumunu rasyonalize etmiş ve HOCl ve önceden oluşturulmuş kloraminler tarafından indüklenen DNA hasarının diziye özgü alanlarda oluştuğunu ileri sürmüştür (29).

Gül ve arkadaşlarının yaptığı çalışmada, sodyumhipokloritin insan lenfosit hücrelerinde in vitro ortamda sitotoksik ve genotoksik etkileri sitokinez-blok mikronukleus testi ve karyotip analiz yöntemi kullanılarak araştırılmıştır. Farklı konsantrasyonlardaki NaOCl'in (0.030, 0.065, 0.100, 0.25, 0.5, 1, 2, 4 µg/mL) tüm örneklerinde kromozomal aberasyon frekansında kayda değer artış pozitif kontrol olarak mitomisin C (0.3 µg/mL) ve negatif kontrol testlerine 24 ve 48 saatte işlem yapılarak gözlemlenmiştir. NaOCl, doza bağlı bir şekilde mikronukleus sıklığını önemli ölçüde artırmıştır. Sonuçlar, NaOCl konsantrasyonu ve kromozomal aberasyon, mikronukleus sıklığı, nekrotik hücreler, apoptotik hücreler ve çift çekirdekli hücreler arasında anlamlı bir korelasyon olduğunu göstermiştir (30).

Zavodnik ve arkadaşları yaptıkları çalışmada, memeli hücrelerinde hipokloröz asidin (HOCl) toksisitesine dair daha fazla kanıt sunmuşlardır. Çin hamsteri B14 hücre hatları kullanılarak, bu hücreler 1 saat boyunca 100-200 µM HOCl'e maruz kaldıktan sonra hücre canlılığında önemli bir azalma gösterilmiştir. Canlılık kaybına, Comet tahlili ve hücresel tiyollerin oksidasyonu ile gösterildiği gibi DNA hasarında hafif bir artış eşlik etmiştir. B14 hücrelerinin, eritrosit zarlarının ve insan serum albüminin HOCl'ye maruz bırakılması, geniş bir protein karbonil birikimine yol açmıştır. Dolayısıyla, HOCl'nin sitotoksitesi, hem protein hasarına (karbonil oluşumu ve protein tiyol gruplarının oksidasyonu) ve DNA hasarına yol açabildiği vurgulanmıştır (31).

Missotten ve arkadaşları yaptıkları araştırmada, konjonktival melanoma tedavisinde sodyum hipokloritin (NaOCl) sitotoksitesini diğer potansiyel sitotoksik

solüsyonlarla karşılaştırmayı amaçlamışlardır. 96 oyuklu substrat melanoma hücreleri ile kaplanmış ve 3, 5 veya 15 dakika boyunca % 0.5 lik sodyum hipoklorit, sodyum bikarbonat (% 1.4 ve % 8.4), % 99 luk etanol ya da sodyum klorit ile muamele edilmiştir. Hücre hatları, 3 dakika boyunca sodyum hipoklorit ile muamele edildikten sonra hayatta kalan hücreler gözlenmemiştir. % 99'luk etanol benzer bir etkiye sahip bulunmuştur. Canlı hücrelerin % 70'inde bir azalma, % 1.4 veya % 8.4 sodyum bikarbonat kullanılarak elde edilmiştir. Su, canlı hücrelerin miktarını % 40 oranında azaltmıştır. Sodyum hipoklorit, in-vitro olarak melanositik hücreler için sitotoksiktir. Kullanımı, tümör hücrelerinin lokal ekimini azaltabilir ve genişlemiş bir oküler tümörün çıkarılmasından sonra metastazı azaltabilir. Sodyum hipoklorit in vivo değerlendirmesinde daha fazla gereklidir sonucuna varılmıştır (32).

Genel olarak, in vitro analizlerin sonuçları, hipokloritin reaktif oksijen türleri üretme kabiliyeti ile tutarlıdır. Reaktif oksijen türleri, oksidatif stres ile başa çıkmak için hücrenin yeteneğine bağlı olarak dolaylı bir mekanizma yoluyla sporadik olarak DNA hasarını indükleme kabiliyetine sahiptir (33,34). Ancak 2001 yılından sonra, folik asit ve B12 vitamininin birlikte kullanımının genomik stabilitede önemli bir rol oynadığı, folat ve B12 vitamin konsantrasyonundaki küçük değişikliklerin DNA kopmaları ve kromozom kırılmasının onarımını sağladığı üzerine çalışmalar yapılmıştır (35).

Bu çalışmadaki amacımız, sodyum hipoklorit etkisine maruz kalan üreme çağındaki kadınların sitogenetik analiz ile mitotik indeks, kromozom kırıkları, kromozom yapı ve sayı anomali değerlerini kullanarak sodyum hipokloritin sitotoksik etkisinin bulunup bulunmadığını ortaya çıkarmaktır. Sodyum hipoklorit (çamaşır suyu) kullanan ve bırakıp hekim tarafından kendilerine 3 ay süresince folik asit ve B12 vitamin takviyesi önerilen bireyler arasından seçilen bazı deneklerde ise çamaşır suyu kullanmayı bırakmanın sitotoksiste üzerinde olumlu etkisi olup olmadığı araştırılmaya çalışılmıştır.

3. GENEL BİLGİLER

3.1. Kromozomlar Hakkında Genel Bilgiler

Her canlı materyal olarak tanımlanan bir maddeye sahiptir. Bazı virüsler hariç, bu materyal DNA nükleik asidinden oluşmuştur. DNA, gen adı verilen bölümleri bulunduran ve temelde doğrusal olan bir yapıya sahiptir. Genlerin ürünleri, hücrelerin metabolik aktivitelerini yönetir. Bir organizmanın DNA'sı gen dizileriyle birlikte kromozomlar olarak isimlendirilen yapılar halinde düzenlenmiştir.

Hücrenin interfaz evresinde nükleusta ince iplikler halinde bulunan kromatin materyalinden hücre bölünmesi sırasında bu ipliklerin kısalıp kalınlaşmasıyla oluşan ve böylece daha iyi görünür vaziyete geçen, her canlı için belirli şekil, yapı ve sayıda olan, canlılarda karakterlerin oluşmasında rol oynayan genleri nesilden nesile taşıyan, özel boyalarla kuvvetli bir şekilde boyanan, nükleik asit ve proteinlerden meydana gelmiş hücredeki yapılara kromozom adı verilir. İlk defa WALDEYER tarafından 1888 yılında boyayla kuvvetli bir şekilde boyanan bu yapılar için kromozom terimi kullanılmıştır. Kromozom boyanan cisim anlamına gelmektedir (36). Kromozomlar, genetik bilginin aktarılmasında araç olarak hizmet görür. İnsan kromozomları linear yapıdadır. Kromozomlar, sadece mayoz II bölünmesini tamamlamış olgun gametlerde "kromatid" olarak adlandırılan tek bir DNA molekülünün sentezin sonrasında birbirinin aynı genetik yapıda iki kardeş kromatidten oluşur. Kromozom hücre bölünmesi aşamasında görünür hale gelen ipliksi yapıdır. Bir kromozomun işlevsel olabilmesi için sentromer, telomer ve replikasyon orijin bölgesinin varlığı gereklidir. Sentromer bölgesi, sentez onrası iki kardeş kromatidin birbirine bağlandığı ve hücre bölünmesi sırasında her bir kromatidin kutuplara hareketini sağlayan bölgedir. Telomer bölgesi tekrarlanmış TTAGGG dizileriyle molekülün doğal uçlarını oluşturan ve kromozomları stabilize eden bölgedir. Replikasyon orijin bölgelerinde ise DNA sentezi yapılır.

3.2. Kromozom Morfolojisi

İnsan vücudunda yaklaşık 60 trilyon hücre vardır. Her bir hücre yaklaşık 10 µm çapındaki küçük çekirdeği içinde 2 metreye yakın, türe özgü kromozom sayısına bölünmüş ve organize olmuş genomik DNA içerir. Bu yapı "kromatin" olarak

adlandırılır (37). Bölünmeyen, interfaz halindeki hücrelerde kromozomlar belli değildir. Bununla beraber mitoz ve mayoz bölünme esnasında kromatin ipleri yoğunlaşır ve görünür bir şekil kazanır, böylece kromozomları oluştururlar. Kromozomlar en iyi incelendiği evre kısa boya ve en fazla kalınlığa sahip oldukları metafaz evresidir. Çünkü kromozomlar bu devrede en kısa boya ve en fazla kalınlığa erişmiştir. Dolayısıyla bir canlının kromozomlarını incelenecek olursa mitoz bölünme geçiren hücreleri uygun fazda ön muamele maddeleri ile muamele edip, kromozomların hücre içinde dağılmasının sağlanması gerekir. Sonra bu materyalden boyama metotlarıyla preparatlar yapılır. Bu tip preparatlarla kromozom sayısı incelenip kromozom sayısı saptanabilir. Bir ferden kromozomlarının sayısına, şekline, büyüklüğüne o ferden karyotipi denir. Yani karyotip dendiği zaman o ferden kromozomal özellikleri akla gelir. Farklı karyotipleri karşılaştırmak için kromozomların çizilmiş şematik şekline idiogram adı verilmektedir.

Kromozomların yapısının iyi anlaşılması için kromozomun çeşitli kısımlarını iyi anlatmak amacıyla sitolojide birtakım tanımlar türetilmiştir.

3.2.1. Kromatid

Metafaz evresinde her bir kromozom tamamen birbirinin aynısı olan iki iplikten oluşur. Bu iki ipliğin her birine kromatid adı verilir. Kromozomlarda kardeş kromatidleri bir arada tutan yer sentromer bölgesidir. Bir kromozomun kardeş kromatidleri anafaz evresinde karşı kutuplara gitmek için birbirinden ayrılır. Anafaz kromozomlarının bir iplikten oluşma sebebi budur. Her kromatidde bir DNA molekülü vardır.

3.2.2. Kromonema

Bölünme geçirecek hücre bölüne fazına girdiği zaman kromatin materyali ince ipçikler halinde (profazda) belirmeye başlar. Bunlara kromonem denir. Kromonemalar kromatid yoğunlaşmasının erken evresini yansıtır. İşte bu yapının spiraller yapıp kısalıp kalınlaşmasıyla kromatid ve dolayısıyla kromozomlar oluşur (38).

3.2.3. Sentromer

Bütün sitogenetik çalışmalar blenen hücrelerden elde edilen yoğunlaşmış metafaz kromozomları ile yapılır. Bölünme esnasında, her bir metafaz kromozomu iki kardeş kromatid'den ibarettir. Bu iki kardeş kromatid sadece sentromer adı verilen kısımlarda birbirine tutunmuş ayrı yapılar halindedir. Sentromerler hücre bölünmesi sırasında iğ ipliklerinin tutunduğu ve bu sayede kardeş kromatidlerin farklı kutuplara çekilmesinde görev yapan kısımlardır. Her kromozom için sentromerin pozisyonu sabittir. Sentromerin kromozom üzerinde bulunduğu yere göre kromozomlar dört alt gruba ayrılır.

3.2.3.1. Metasentrik kromozomlar

Bunlarda sentromer merkeze yakındır ve kromozomun her iki kolu hemen hemen birbirine eşittir.

3.2.3.2. Submetasentrik kromozomlar

Sentromer kromozomun merkezinden uzaktadır ve kolların uzunlukları birbirinden farklıdır.

3.2.3.3. Akrosentrik kromozomlar

Sentromer kromozomun ucuna yakındır.

3.2.3.4. Telosentrik kromozomlar

Bunlarda sentromer bir kolun ucundadır. Kromozomun tek kolu vardır. Bu tipe insanlarda rastlanmaz fakat diğer türlerde yaygın olarak bulunur.

Metafaz kromozomlarının sayı büyüklük ve şekilleri türler arasında farklılık gösterir ve o türün karyotipi olarak adlandırılır. İnsanlarda 46 kromozom (23 çift) bulunur. Bu kromozomlarda karyotipte 1'den 22'ye kadar numaralandırılmış olan homolog kromozomlar (anne ve babadan gelen eş kromozomlar) otozom kromozomlar olarak, 23.çift ise seks kromozomları olarak adlandırılır. Seks kromozomları dişilerde homolog olup XX, erkekte ise homolog olmayıp XY kromozomu olarak adlandırılır.

İnsanlarda 1, 3, 16,19 ve 20. kromozomlar metasentrik 13, 14, 15, 21, 22. kromozomlar ise akrosentriktir. Bunların dışında kalan kromozomlar ise submetasentriktir. Akrosentrik kromozomların kısa kollarının uç kısımları genellikle nukleolus organizasyonu ile aktif olarak ilişkili olduğundan bu kısımlarda yoğunlaşma daha azdır. Satellit olarak adlandırılan bu bölge, kromozomun diğer kısımlarından sap kısmıyla ayrılır.

Belirli boyalar bir kromozomun belirli bölgelerini diğer kısımlarına nazaran daha seçici olarak ve daha koyu olarak boyarlar. Koyu boyanmış bölgeler heterokromatin olarak adlandırılır. Kromatinin yoğunlaştığı (DNA + protein) heterokromatin bölgeler, çoğunlukla sentromerde ve sentromer adı verilen kromozomun uç kısımlarında görülür. Açık boyanan az yoğunlaşmış bölgeler ise ökromatin adını alır. Heterokromatin bölgeler hücrenin hayatı boyunca yoğunlaşmış olarak kaldıkları için bu kısımlar inaktif gen bölgeleri olarak kabul edilir. Yapılan çalışmalar heterokromatin bölgede bulunan DNA'nın büyük bir kısmının yüksek düzeyde tekrarlayan DNA olduğunu bu nedenle transkribe olmadığını veya çok nadir transkribe olduğunu ortaya koymuştur (39).

3.3. Kromozom Sayısı İle Türler Arasındaki İlişki

Her canlı türü, türe özel şekil ve sayıda kromozoma sahiptir. Farklı türlerin kromozom sayıları eşit olabilir, fakat bu durumda da şekil ve yapıları arasında fark vardır. Somatik hücrede her kromozom kendi homoloğu ile birlikte bulunur. Dolayısıyla türler çift sayıda kromozoma sahiptir. Homolog kromozom ise, şekil ve yapı bakımından birbirinin aynısı, biri anadan diğeri babadan gelen kromozomlardır. Homolog kromozomların karşılıklı lokusunda aynı karakter üzerinde farklı yönde etki eden genler bulunursa bunlara allel genler yahut allel gen çifti (Aa) denir. Aynı istikamette etki eden genler bulunursa bunlara da identik gen çifti (AA veya aa) adı verilir. Kromozom sayısı kendiliğinden yahut dış etkenlerle değişirse bu durumda somatik hücrelerde tek sayıda kromozom bulunabilir. Zaten böyle hücrelerde kromozom sayısı yönünden normal değildir. Ya euploid veya aneuploid'dir.

Eşeyli üreyen canlılarda gametlerin ihtiva ettiği kromozomlara birtakım veya bir genom adı verilir ve onların sayısı “n” ile gösterilir. Somatik hücreler ise iki misli kromozom içerdiğinden bunların kromozom sayısı da “2n” ile ifade edilir (40).

3.4. Kromozom Terminolojisi

Chicago toplantısında standardizasyona tabi tutulan kromozomlar için ortak terminoloji kabul edilmiştir. Bunun amacı kromozom anomalileri için ortak bir dilin kullanılmasıdır. Bu ortak dil ifadesi formül haline getirilmiştir. Böylece anlatılmak istenen bilgi bu formüller yoluyla açıklanmaktadır. Formüllerde toplam kromozom sayısı, cinsiyet kromozomları ve onların yapısı sonra da eğer var ise kromozom anomalisi belirtilir.

Örneğin normal bir erkek 46, XY normal bir kadın ise 46, XX şeklinde gösterilmektedir.

- Chicago'da kabul edilen bu formüller aşağıda gösterilmiştir.
- **A-G:** Kromozom grupları
- **1-22:** Otozomal kromozom numaraları
- **X-Y:** Cinsiyet kromozomları
- **Diagonal (/):** Mozaik durumlarda ayrı hücre gruplarını gösterir.
- 46,XX/45,X
- **(+) ve (-):** Eğer otozomal kromozom sayısı bu işaretlerden sonra yazılmışsa, adı geçen kromozomun fazla ya da eksik olduğunu göstermektedir. Eğer bu işaretler bir kromozom kolundan sonra yazılmışsa ilgili kromozom kolunun fazlalık ya da eksikliğini anlatır.
- **Soru işareti (?):** Bir kromozom ya da kromozoma ait yapının kuşkulu olduğunu gösterir.

3.5. İnsan Kromozom Gruplarının Genel Karakteristikleri

3.5.1. Grup A: Kromozom 1–3

Bunlar insan karyotipinin en büyük kromozomlarıdır. Kromozom 1 en büyük, kromozom 3 ise grubun en küçüğü olup, bu iki kromozom metasentriktir. Kromozom 2 ise submetasentriktir.

3.5.2. Grup B: Kromozom 4–5

A grubundan sonraki submetasentrik olan diğer iki büyük kromozomdur. Bu gruptaki kromozomların boyutları birbirine çok yakın olmasına rağmen kromozom 4, kromozom 5'den biraz büyüktür.

3.5.3. Grup C: Kromozom 6–12

Orta büyüklükteki submetasentrik kromozomlardır. Büyüklüklerine bakarak bu grup kromozomları birbirinden ayırmak oldukça zordur. X kromozomu bu grup kromozomlardandır.

3.5.4. Grup D: Kromozom 13–15

Orta büyüklükteki akrosentrik kromozomlardır. Büyüklükleri ve şekilleri birbirine çok yakındır ve gözle ayırt edilmeleri zordur. Bu grup kromozomlar incelenirken satellit yapıları görülebilir.

3.5.5. Grup E: Kromozom 16–18

16. Kromozom, grubun en kolay ayırtedilir kromozomu olup küçük metasentriğe yakındır. Kromozom 17 ve 18 submetasentrik kromozomlardır ve birbirlerinden ayırt edilmeleri güçtür.

3.5.6. Grup F: Kromozom 19–20

En küçük metasentrik kromozomlardır. Normal boyama ile mikroskop altında ayırt edilmeleri mümkün değildir.

3.5.7. Grup G: Kromozom 21–22

En küçük akrosentrik kromozomlardır. Birbirinden ayırt edilmeleri çok güçtür. Y kromozomu bu gruba dâhildir. 21. ve 22. kromozom boyanma şeklinin farklı olması ile ayrılır.

3.6. Kromozom Anomalilerinin Sınıflandırılması

Kromozom aberasyonları sayısal ya da yapısal değişiklik göstermekle beraber bir veya daha fazla kromozomu (otozom ya da cinsiyet kromozomu) içerebilir. Klinik öneme sahip kromozom anomalilerinin en yaygın tipi bir kromozomun kaybı veya artışı ile ortaya çıkan “anöploidi” dir. Anöploidi, daima fiziksel ve/veya zihinsel sorunlar ile seyrederek. Bir veya birden fazla kromozomun işe karıştığı yapısal kromozom anomalileride oldukça yaygındır. Yapısal düzensizliklerin genom içeriğini değiştirip değiştirmemesine bağlı olarak fenotipik etki ortaya çıkar ya da çıkmaz. Ancak kromozom anomalileri dengeli bile olsa bir sonraki kuşakta anomalili çocuk doğma riskini artırır.

3.6.1. Sayısal kromozom anomalileri

Sayısal kromozom anomalisi diploid kromozom sayısındaki ($2n$: 46) artma veya eksilme durumudur. İnsan somatik hücrelerinde 22 çift otozom (1-22 numaralı kromozomlar), bir çift cinsiyet kromozomu (X,Y) olmak üzere 46 kromozom bulunur ve diploid olarak isimlendirilir.

Gametler ise haploid sayıda yani 23 kromozom içerirler. Haploid kromozom takımının katları öploidi, kromozom sayısındaki değişiklik ise anöploidi olarak ifade edilir.

3.6.1.1. Poliploidi

Poliploidi, temel kromozom takımının (n : 23) fazladan bulunması olayıdır. Triploidi ve tetraploidi poliploidinin insanda görülen örnekleridir. Triploidi, hücrede temel kromozom sayısının 3 katı ($3n$), tetraploidi ise hücrede temel kromozom sayısının 4 katı ($4n$) kadar kromozom bulunması durumudur. Poliploidiler letal olmakla birlikte, nadiren hem triploidi hem de tetraploidi canlı doğumlarda rastlanabilir. Triploidi, tanımlanmış gebeliklerin % 1-3’ünde, erken gebelik

kendiliğinden düşüklerin % 20'sinde görülür. Triploid bir fetüs canlı doğsa bile yaşayamaz.

Triploidiler, bir yumurtanın iki sperm (dispermi) tarafından döllemesi, diploid bir spermin haploid bir yumurtayı döllemesi veya haploid bir spermin diploid bir yumurtayı döllemesi ile oluşur. Triploidide fenotipik bulgular ekstra kromozom takımının parental kaynağına bağlı olarak değişebilir; ekstra kromozom takımının maternal kökenli olduğu triploidiler erken gebelik döneminde spontan abortus ile son bulurken, ekstra takımı paternal kökenli olan triploidilerde küçük bir fetüsü olan dejeneratif bir plesanta gözlenir (partial hydatidiform mole).

Bir diğer oluşum mekanizması ise normal diploid zigotun ilk mitoz bölünmeleri sırasında, polar cisimciğin hücre içine girerek haploid setinin nukleusa katılmasıdır ve mozaik triploidiler oluşur. 92, XXXX veya 92, XXYY yapısındaki tetraploidiler zigotun ilk bölünmesinde sitoplazmik bölünmenin gerçekleşmemesi ile oluşur ve bu olgular genellikle mozaik yapıdadırlar.

3.6.1.2. Anöplöidi

Kromozom anomalilerinin en büyük grubunu anöplöidler oluştururlar. Anöplöidi, diploid yapıdan bir ya da birkaç kromozomun artması veya eksilmesi durumudur.

Homolog bir kromozomun fazlalığı “trizomi”, tek bir kromozomun kaybı ise “monozomi” olarak ifade edilir. Trizomi ve monozomiler nondisjunction yani kromozomların hücre bölünmesi sırasında ayrılamaması durumudur.

Trizomi 21 hariç otozomal trizomiler yaşamla bağdaşmaz. Canlı doğumlarda görülen diğer otozomal trizomiler, trizomi 18 veya trizomi 13'dür. Trizomi 13, 18 ve 21 en az sayıda aktif gen taşırlar. Otozomal monozomiler yaşamla bağdaşmaz iken X kromozomunun monozomisi Turner sendromu yaşamla bağdaşan tek örnektir. Anöplöidi, mitoz veya mayoz bölünme esnasında bir kromozomun her iki kopyasının aynı yavru hücreye gitmesine yol açan ayrılamama (non-disjunction) sonucu ortaya çıkar. Ayrılamama en sık olarak maternal germ hücrelerindeki ilk mayoz bölünmede gerçekleşir. Mayoz I'deki ayrılamama sonucu bir kromozomun her iki homologue

Anafaz I'de aynı kutba doğru hareket ederve sonuçta yavru hücrelerden biri o kromozoma ait iki kopya taşıırken diğer yavru hücrede o kromozomdan hiç bulunmaz. Mayoz II'deki ayrılamamada ise homolog kromozomlardan birinin iki kardeş kromatidi aynı kutba hareket eder ve yavru hücrelerden biri o kromozomun iki kopyasını taşıırken diğer yavru hücrede o kromozomdan hiç bulunmaz. Bu nedenle Mayoz I ve Mayoz II'de gerçekleşen ayrılamamanın genomik sonuçları farklıdır. Ayrılamama Mayoz I'de oluşursa 24 kromozoma sahip olan gamet ilgili kromozomun anne ve baba kökenli homologlarını taşıırken, Mayoz II'de oluşan ayrılamamada ekstra kromozoma sahip olan gamette homolog kromozomun her ikisi de aynı ebeveyn kökenlidir. Mitotik ayrılamama hatalarında ise anöploid ve normal hücre dizileri birlikte görülür ve bu durum “mozaisizm” olarak adlandırılır.

3.6.2. Yapısal kromozom anomalileri

Yapısal kromozom düzensizlikleri, kromozom kırıkları ve kırılan bölgelerin kaybolması veya farklı bir konumda birleşmesi ile ortaya çıkar. Yapısal kromozom anomalileri canlı yeni doğanlarda anöploidilerden daha ender görülür. Sayısal kromozom anomalilerinde olduğu gibi yapısal kromozom anomalileride bireyin tüm hücrelerinde görülebileceği gibi mozaik formda da bulunabilir. Dengeli veya dengesiz olabilen bu yeniden düzenlemeler mitoz veya mayoz bölünmeler ile değişime uğramadan yavru hücrelere aktarılır ve stabildir.

3.6.2.1. Delesyon

Delesyon, kromozomdan küçük bir parçanın koparak azalması durumudur. Delesyonun sonucu olarak, genetik materyalin iki kopyası tarafından yerine getirilen fonksiyonlar tek bir kopya tarafından yerine getirilememesi (haploinsufficiency) durumu ortaya çıkar. Delesyonun klinik etkisi, delesyona uğrayan segmentin büyüklüğü, bu bölgedeki genlerin sayısı ve fonksiyonu ile ilişkilidir. Otomozomal monozomilerde olduğu gibi büyük otomozomal delesyonlar da yaşamla bağdaşmaz. Sitogenetik olarak gözlenebilen otozomal delesyonların insidansı 1/7000 canlı doğumdur. Ancak moleküler sitogenetik tekniklerle tanınabilen submikroskopik delesyonlarla oran artmaktadır. Delesyonlar kromozomun uç nölgesinde gerçekleşirse terminal, kromozom kolunda gerçekleşirse ara (intertitial) delesyon olarak adlandırılır.

Delesyonlar temelde kromozom kırığı ile ortaya çıkar ve oluşan asentrik fragment kaybolur.

3.6.2.2. Duplikasyon

Duplikasyon, bir kromozom segmentinin, kendisinin trizomisine yol açacak şekilde artmasıdır. Duplikasyonların klinik etkisi delesyonlara oranla daha azdır. Ancak gametlerde meydana gelen duplikasyonlar, duplikasyona yol açan kromozom kırıkları genleri parçalayabileceği için daha ağır fenotipik anomalilere yol açabilir. 5 Mb'dan daha büyük delesyon ve duplikasyonlar klasik kromozom analizlerinde tanınabilir ancak submikroskopik delesyon ve duplikasyonlar moleküler sitogenetik teknikler yardımıyla gösterilebilir ve “mikrodelesyon/duplikasyon” olarak tanımlanır. A-CGH ve SNP-array gibi sitogenomik arraylar ile kb düzeyindeki değişimler de tanımlanabilmektedir ve normal bireylerin genomları analiz edildiğinde, çoğunluğu < 500 kb büyüklükteki birçok kopya sayısı değişimi saptanmaktadır.

3.6.2.3. İnversiyon

İnversiyon bir kromozomda iki kırık oluşması ve kırıklar arasındaki segmentin 180° dönerek kırık noktalarıyla yeniden birleşmesi sonucu oluşur.

İnversiyona uğrayan segment sentromer içermiyorsa “parasentrik”, sentromer içeriyorsa “perisentrik” inversiyon olarak adlandırılır. Bant yapıları kadar kromozom kollarının oranı da değiştiğinden perisentrik inversiyonlar sitogenetik olarak daha kolay tanınırlar.

İnversiyonlar dengeli yeniden düzenlemeler oldukları için genellikle taşıyıcılarda fenotopik bulguya yol açmazlar ancak gelecek kuşaklara aktarımda genetik dengesizliğe yol açabilirler. Mayoz I'de normal kromozom ile ters düşmüş kromozom segmenti arasında homolog kromozom eşleşmesi olabilmesi için bir ilmek oluşumuna ihtiyaç vardır. Bu ilmek içinde rekombinasyon olduğu zaman, rekombinasyon olayının gerçekleştiği bölgeye bağlı olarak dengeli kromozom kuruluşuna sahip (normal veya inversiyon taşıyan) gametler ile dengesiz gametler oluşur. İnversiyon parasentrik olduğunda, dengesiz rekombinant kromozomlar asentrik veya disentrik olur ve yaşamla bağdaşmazlar. Bu nedenle parasentrik inversiyon taşıyıcılarının anormal karyotipli canlı doğmuş çocuk sahibi olma ihtimalleri pratik olarak çok düşüktür. Öte

yandan perisentrik inversiyonlar kromozom segmentinin delesyon/duplikasyonuna sahip dengesiz gametlerin oluşumuna yol açabilir. Kaybolan ya da duplike olan segmentler inversiyonun distalinde kalan segmentlerdir. Ancak, her bir perisentrik inversiyon kaybolan ve duplike olan segmentin büyüklüğü ve içeriğine bağlı olarak kendine özgü bir risk içerir.

3.6.2.4. Translokasyon

Translokasyon, kromozomlar arasında kromozom segmentlerinin değişimidir.

3.6.2.4.1. Resiprokal translokasyon

Bu translokasyonlar, genellikle homolog olmayan kromozomlarda gerçekleşen kırılmalar veya rekombinasyon ile oluşur ve kırılan ya da rekombine olan segmentler karşılıklı yer değiştirir. Karşılıklı segment değişiminde genellikle yalnızca iki kromozom işe karışır ve toplam kromozom sayısı değişmez.

3.6.2.4.2. Robertsonian translokasyon

Akrosentrik kromozomların kısa kollarını kaybederek sentromerik ya da perisentromerik bölgelerinden birleşmesi sonucu oluşur.

3.6.2.4.3. İnsersiyonal translokasyon

Bir kromozomdan kopan bir segmentin başka bir kromozomun içine girmesiyle oluşur. Bu olay, ya sentromere göre olan pozisyon değişmeden gerçekleşir ya da kopan segment ters dönerek kromozom içine girer.

3.6.2.5. İzokromozom/ İzodisentrik kromozom

Sentromerin enlemesine bölünmesi sonucu oluşan düzensiz kromozomdur (41).

3.6.2.6. Halka kromozom

Kromozomun iki ucunun birleşerek yüzük görünümünü alması durumudur. Sentromer içerenlere sentrik ring denir ve genellikle bir asentrik fragmantle yan yana bulunurlar. Sentromer içermeyenlere ise asentrik ring denir (42).

3.6.2.7. Marker kromozomlar

Klasik bantlama yöntemi ile tanımlanamayan, genellikle küçük kromozomlardır. Bu kromozomlar normal kromozom kuruluşuna ilave olarak bulunduklarından “supernumary kromozomlar” veya “ekstra yapısal kromozomlar” olarak da tanımlanırlar (43).

3.6.2.8. Yapışkanlık

Kromozomların topaklanma şeklinde yığın haline gelmesidir.

3.6.2.9. Kırık

Kromozomun rastgele bir bölgesinde kromozom ekseninden sapan ve bir kromatid enini aşan boyanmamış bölgelere denir. Kırık olarak değerlendirilen düzensizlik kromozomun bir kromatidinde görülür ise kromatid kırığı olarak adlandırılır. Kırık olarak belirtilen düzensizlik kromozomun her iki kromatidinde ve eş kesimlerinde görülür ise izokromatid kırık olarak adlandırılır.

3.6.2.10. Gap (Aralık)

Kromozom ekseninden sapmış ve kromatidin enini geçmeyen, boya almayan bir bölgenin kromozomun herhangi bir yerinde bulunmasıdır. Eğer gap kromozomun bir kromatidinde görülür ise kromatid gap, kromozomun her iki kromatidinde görülür ise izokromatid gap, sentromer bölgesinde görülür ise sentromerik gap olarak adlandırılır.

3.6.2.11. Pulvarizasyon

Metafaz planığında kromozomların parçalanarak, tanınmaz hale gelmesidir.

3.6.2.12. Haç kromozomu

Submetasentrik kromozomların, kollarının yan yana gelerek haç şeklini oluşturmasıdır.

3.6.2.13. Satelit assosiasyonu

Yapısı yonca yaprağını andıran, büyük ve küçük akrosentrik kromozomların metafaz plaklarında kısa kollarındaki satellitlerini birbirine çevirmiş bir şekilde bir araya gelerek rozet şeklini almalarıdır.

3.6.2.14. İri satellitler

D ve G grubunda bulunan kromozomların kısa kollarındaki satellitlerin normalden daha büyük görülmesidir (42).

3.7. Toksik Maddelerin Biyolojik ve Moleküler Etkileri

Toksoloji, değişik kimyasal maddelerin canlı organizmalar üzerindeki zararlı etkilerini araştıran bilim dalıdır.

Toksik maddeler, insanların maruz kalma biçimine göre birkaç sınıfa ayrılırlar: İlaçlar, besin katkı maddeleri, pestisitler, endüstriyel kimyasal maddeler, çevre kirleticileri, doğal toksinler ve evlerde kullanılan zehirli maddeler. Toksik maddelerin yapısına bağlı olarak etkilenme biçimleri çeşitlilik gösterir. Örneğin gaz ve duman solunum yolundan, sıvılar ise deri temasından kaynaklanan problemler doğurur. Toksik maddelerin izlediği yollar emilim, dağılım, metabolizma ve atılım olmak üzere dört fazda incelenebilir. Yabancı bileşikler üç farklı bölgeden emilirler: Deri, akciğer ve gastrointestinal sistem. Bunlardan gastrointestinal sistem, çoğu yabancı maddenin ağız yolu ile alınması sebebiyle toksolojide önemli yer tutar. Havadan alınan yabancı madde sayısı göz önünde bulundurulduğunda, akciğerlerde emilim bölgesi olarak önemlidir. Derinin büyük bir yüzey hücrelerden meydana gelmiş bir dış tabaka ve zayıf bir kan dolaşımı vardır; ayrıca epidermisin dış hücreleri keratin maddesiyle doludur. Deriyle emilim, yağda çözünen bileşiklerle sınırlıdır. Toksik maddeler emilip kan dolaşımına geçtikten sonra, ortalama vücut ağırlığının %58'ini oluşturan sıvı bölümlere geçerler. Kandan sıvı bölümlere geçiş genellikle kapillerde konsantrasyon

gradiyentine bağı olarak pasif difüzyonla olur. Toksik maddelerin vücutta dağılımı, kandaki dağılım ve dokulardaki dağılım olmak üzere iki şekilde ele alınabilir. Plazmada bulunan birçok protein, normal fizyolojik olaylarda rol alan maddeleri bağlayabildikleri gibi, birçok yabancı bileşiği de bağlayabilirler. Toksik maddeler çoğunlukla spesifik dokularda depolanırlar. Bazı bileşikler belirli dokularda yüksek konsantrasyonlarda toplanıp toksik etkinin o organda ortaya çıkmasına yol açarlar.

CO, hemoglobine yüksek bir afinite ile bağlanarak karboksihemoglobin oluşturur ve böylece zehirlenme belirtilerine neden olur. Buna karşılık diğer toksik maddeler organ dışında başka bir yerde zehirlenme belirtilerine yol açar. Örneğin kurşun, kemiklerde depolanmasına karşın zehirlenme belirtilerini yumuşak dokularda gösterir. Toksik maddelerin vücuttan atılımı, biyolojik etkenlerinin önemli bir belirleyicisidir; hızlı eliminasyon, oluşan toksisitenin ve biyolojik etkinin azalması anlamına gelir. Birçok bileşik için en önemli atılım yolu böbrekler aracılığıyla, idrarla olanıdır. Diğer yollar, safraya olan salgılama, uçucu ve gaz halindeki bileşiklerin akciğerlerden salınan havayla atılımı, gastrointestinal sisteme, süte, tere ve diğer sıvılara olan salgılamaları kapsar (44).

Kanserojen olarak etki gösteren birçok bileşiğin DNA'ya zarar verdiği bilinmektedir. Zarar gören DNA'ya sahip hücreler bölündüğü zaman mutant hücreler üretirler. Bazı mutant hücreler düzensiz bir şekilde çoğalan tümör hücreleridir ve diğer bölgelere giderek oralarda çoğalabilme yeteneğindedirler (metastaz). Bazı kimyasal maddeler DNA alt birimlerine bağlanarak özel bileşikler oluşturabilirler. Bu oluşan bileşikler DNA onarım mekanizmaları sayesinde uzaklaştırılabilirler. Fakat bazen bu bileşikler kalıcı bir şekilde bağlanabilir ve hücre bölündüğü zaman yanlış translasyona uğrayarak mutant hücrelerin oluşumuna yol açabilirler (45).

Toksik maddelerin genetic materyal ile etkileşimi üç farklı şekilde olabilir;

- Anöplidizasyon: Bir tam kromozom fazlalığı veya kaybının olmasıdır.
- Klastogenez: Bir kromozom parçasının kaybı, ilavesi veya yer değiştirmesidir.
- Mutagenез: Az sayıda baz çifti kaybı, ilavesi veya değişimi ile olur.

DNA molekülündeki genetik şifre, triplet şeklinde düzenlemiş üç baz çiftini kapsar. DNA yapısında bulunan pürin bazları Adenin (A), Guanin (G), pirimidin bazları ise Timin (T) ve Sitozin'den (C) ibarettir. DNA molekülündeki bilgi, kendisi gibi başka bir molekülü oluşturabilir (replikasyon), RNA'ya dönüşebilir (transkripsiyon) ve aynı zamanda proteine çevirebilir (translasyon). Üç bazın oluşturduğu her bir şifre, belirli bir genin sorumlu olduğu proteindeki bir amino aside tekabül eder. Çift sarmal yapıda olan DNA molekülü hücre bölünmesi esnasında replikasyona uğrar. Bu işlem, ya yavru hücrelere geçme üzere mitozda veya bir sonraki nesillere geçmek üzere eşey hücrelerinde meydana gelen mayoz esnasında olmaktadır.

Çift sarmal DNA zinciri açılır ve her bir zincir, sentezlenecek yeni zincir için kalıp görevi görür. Bu şekilde sentez, bilginin doğru aktarımını garanti altına alır. Daha önce açıklandığı gibi DNA'daki değişiklikler sadece mutasyonla sonuçlanmaz. Olası değişiklikler aşağıda daha detaylı olarak verilmiştir.

3.7.1. Metafaz zehirlenmesi ve anöploidizasyon

Bu tip mutasyonda mitoz ve mayoz esnasında meydana gelen düzensizlikler yol açar. Mitoz ve mayoz süreci ile etkileşme kromozom sayısında bir değişiklik (anöploidizasyon) sonuçlanabilir. Bu süreçte kromozomların eşit olarak yavru hücrelere geçmesi için; sentriollerin pozisyon alması, metafazda kromozomların tekrar doğru bir şekilde yerleşmeleri ve iğ iplikçiklerinin oluşumu gereklidir. Bu süreçte herhangi bir müdahale metafaz zehirlenmesine yol açabilir. Kolşisin maddesinin iğ iplikçiklerinin parçalanmasına ve dolayısıyla mitoz olayını bloke ederek poliploidiye (normal kromozom sayısının katları şeklindeki artış) ve eşit olmayan kromozom paylaşımına yol açtığı iyi bilinmektedir. Bu olay insanlarda DOWN sendromu (Mongolizm, 46 yerine 47 kromozom bulunması) ciddi etkiler yaratabilir.

3.7.2. Kromozomlarda kırılma ve eksilmeler

Klastojen olarak adlandırılan bazı bileşikler (baz çifti transformasyonlarına yol açabilen bileşikler de bunlar arasındadır) kromozom kırılmalarına yol açarlar. Bunların genel olarak, alkilleme özelliğine sahip ajanlar oldukları bilinmektedir. Kromozomlardaki yapısal değişiklikler kromatid kollarında meydana gelen kırılmaları

içerir. Kırılma sayısına ve parçaların tekrar birleşme özelliğine bağlı olarak, sabit ve sabit olmayan yapısal değişiklikler meydana gelir. Bir sonraki nesil hücrelere aktarılmayan yapısal kromozom değişiklikleri, kromotid ve kromozom kollarındaki boşluklar (gap), kromotid kırılmaları, kromotid değiş tokuşu, asentrik fragmentler, halka (ring) ve disentrik kapsamaktadır. Bir sonraki nesile aktarılan sabit değişiklikler ise; ters dönme (inversiyon), bir kromozom parçasının başka bir kromozoma taşınması (translokasyon) ve kopmalardır (delesyon).

3.7.2.2. DNA onarımı

UV ışığına veya bazı kimyasal maddelere maruz kalan hücre veya organizmaların DNA'larında bazı kimyasal değişiklikler meydana gelebilir. UV, baz çiftlerinin 'dimer'leşmesi ile sonuçlanır. Bu olay replikasyon olayını bloke ederek hücrenin ölümüne yol açabilir. DNA'ya verilen zararlar başa çıkmak için organizmalar evrimle bazı hücresel mekanizmalar geliştirmişlerdir. Hücreler, saptadıkları hasarlı bölgeleri 'kesip atarak onarma' (excision repair) yeteneğine sahiptirler. Bu DNA'daki hasarlı kısımların enzimatik olarak kesilip uzaklaştırılması ve karşı zincir kalıp olarak kullanılarak yeni DNA sentezinin gerçekleştirilmesi şeklinde olmaktadır. Guanin bazının metillenmesi durumunda metil transferaz enzimi metil grubunu bir adımda uzaklaştırarak onarımı gerçekleştirir. Diğer bir mekanizma ise pürin ve deoksiriboz şekerleri arasındaki bağı kıran bir DNA glikozilaz müdahalesi ile olur. Böylece, bu onarım mekanizması, nükleotit koparma veya baz koparma şeklinde cereyan edebilir. Her ne yolla gerçekleşirse gerçekleşsin, bu işlemler DNA üzerinde bir boşluk bırakır ki bu, üç aşamada onarılabilir. İlk önce, hasarlı DNA zinciri bir endonükleaz enzimi tarafından kırılır ve üç ile dört arasında değişen sayıda nükleotit uzaklaştırılır. Daha sonra, bu uzaklaştırılan nükleotitlerin yerine DNA polimeraz enziminin yenileri konur. En son işlemde, zincir bir DNA ligaz enzimi tarafından kapatılır. Bunlar dışında bilinen daha birçok çeşitli onarım mekanizması mevcut olabilir.

Onarım, hücre bölünmesinden önce hatasız olarak gerçekleşmişse, verilen hasar kalıtsal bir mutasyona yol açmış olmayacaktır. Ama eğer onarım hücre bölünmesinden önce gerçekleşmemiş ise, hasar gören kısımlar yukarıda açıklanan herhangi bir yolla mutasyona sebep olabilir. DNA onarım mekanizmasındaki bir eksiklik xeroderma pigmentosumlu hastalarda görülür. Bu hastalar ultraviyole ışınları etkisiyle oluşan

timin ikilisini DNA'dan uzaklaştıramazlar. Bu yüzden bu hastalarda oldukça fazla oranlarda deri kanseri vakası görülür.

3.7.2.3. Mutasyonların insan sağlığı üzerindeki etkileri

İnsanların mutajenlere maruz kalma ile ilgili endişelerinin iki temel sebebi vardır.

Bunlardan birincisi, insan eşey hücrelerindeki (yumurta, sperm ve bunların köken aldığı hücreler) mutasyon oranında bir artışın, gelecek kuşaklarda genetik hastalık insidanslarında artışa yol açabileceği, ikincisi ise, somatik hücrelerdeki hücrelerin mutasyonların çeşitli hastalıklara (düzensizliklere), en önemlisi kansere, neden olabileceğidir.

3.7.2.3.1. Eşey hücrelerinde oluşan genetik düzensizlikler

Eşey hücrelerinde meydana gelen gen mutasyonları, kromozom bozuklukları ve anöploidi, insanda genetik hastalıklara yol açar. Gen mutasyonlarının önemi, basit Mendel kurallarıyla aktarılan birçok hastalıktan anlaşılabilir. Yeni doğan bebeklerde % 2-4 kadarının ciddi bir genetik hastalığı bulunduğu, ayrıca halkın % 10'nun doğuştan edinilmiş anomaliler taşıdığı bulunmuştur (bunların çoğu hayatın ileriki dönemlerinde kendini gösterir). Kromozom bantlama yöntemi ve çeşitli sitogenetik yöntemlerle, kromozom yapısında yer alan ve görünür bir etkisi olmayan değişiklikler (varyasyonlar) ortaya çıkarılabilir. Bununla beraber, diğer kromozom bozuklukları ciddi ve ölümcül anomalilere sebep olabilir. Anöploidi, örneğin 21. kromozomdaki bir fazlalığın sebep olduğu Down sendromu gibi hastalıklar, aynı zamanda ölümcül olabilir. Benzer şekilde, Turner sendromunda normal XX ve XY kromozomları yerine tek bir X kromozomu bulunur. Klinefelter sendromu ise erkeklerde iki veya daha fazla X kromozomunun bulunması (XXY gibi) durumunda ortaya çıkar.

ABD 1983 Ulusal Bilim Akademisi verilerine göre, yeni doğan bebeklerin % 0,3 ile % 0,4 kadarı kromozom anomalileri ile ilgili sendromlar taşımaktadır. Sitogenetik anomalilerin, kayda geçen tüm hamileliklerin % 5 kadarını etkilediği ve birçoğunun embriyonik ve perinatal ölümle sonuçlandığı belirlenmiştir.

Tespit edilen anomaliler arasında, anöploidi en yaygın olanıdır ve bunu poliploidi izlemektedir. Birçok genetik hastalık (örneğin, sistik fibrozis ve fenil ketonuri), resesif

mutasyonların oluşmasıyla ortaya çıkmakla birlikte, bu mutasyonlar yeni olmayıp önceki nesillerden katılırlar.

Hiç kuşkusuz, dominant genetik hastalıkların ortaya çıkmasında yeni mutasyonlar daha çok rol oynarlar; çünkü tam aktarımla sonuçlanan dominant mutasyonlar, oluştuktan sonraki ilk nesilde kendini gösterir. Eğer dominant hastalık çok ağır ise, bireyde azalan dayanaklıktan dolayı, generasyondan generasyona geçişi olanak dışıdır. Dominant mutasyonların oluşumu, gelecekte insan yaşamı için resesif mutasyonların oluşumundan daha büyük bir tehlike arz eder; çünkü resesif olanlar ilk nesilde değil, sonraki nesillerde kendini gösterir. Bununla beraber, X kromozomu üzerindeki resesif mutasyonlar erkeklerde (XY) erkenden kendini göstermeye yatkın olup dominant mutasyonlara benzer.

3.7.2.3.2. Somatik hücrelerde oluşan genetik düzensizlikler

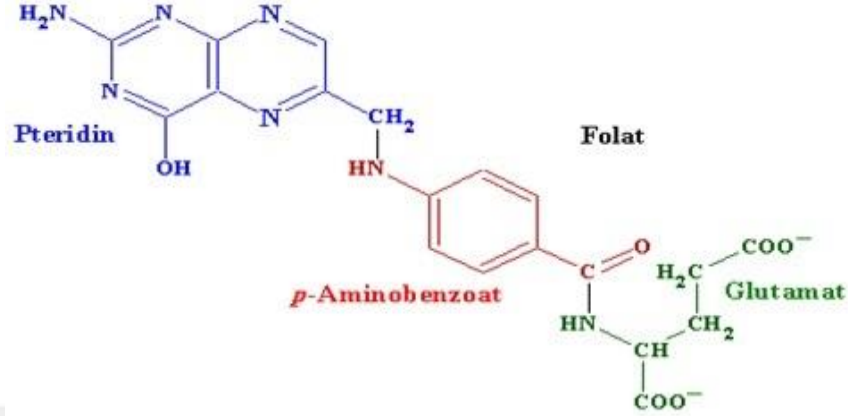
Somatik hücrelerdeki mutasyonlar ile kansere sebep olan olaylar arasındaki ilişki uzun süreden beri bilinmektedir. Kanserojen maddelerin birçoğu mutajen, mutajen maddelerin birçoğu da karsinojendir. Ayrıca, belirli hayvan varyeteleri ve organlarının karsinogeneze dayanıklılığı, karsinojen maddeleri aktif formlara metabolize etme kapasitelerine ya da DNA'da meydana gelen hasarı onarma özelliklerine bağlı olabilir. Tümörler, tipik olarak bireysel, transforme olmuş hücrelerden klonlar halinde oluşur ve birçok kanser, kromozomal yapı değişiklikleri sonucunda ortaya çıkar. Buna ilave olarak, kromozom sayı anomalileri ve DNA onarım eksiklikleri kanser riskini artırır (46).

3.8. Folik Asit

1931 yılında Lucy Wills tarafından gebelerde anemiyi önleyici besin maddesi olarak kullanılan folik asit suda çözülebilen bir B grubu vitaminidir. Pterin halkasına bağlı p-aminobenzoik asit (PABA) ve bunlara ilave bir veya daha fazla glutamat kalıntısından oluşan folik asit stabil haldeki bir B grubu vitaminidir. Pteroilmonoglutamik asit olarak da bilinir.

Çeşitli bitkiler ve bakteriler tarafından sentezlenirken, insan vücudu folatı endojen olarak sentezleyemez. Çünkü PABA'yı sentezleyemez ve ilk glutamata da ekleyemez. Bu yüzden diyetlerinde folata gereksinim duyarlar. Folat hücre çoğalması ve hücrel

canlılığın devamında gereklidir. Folik asit eksikliğinde hücreler yeterli şekilde bölünemezler.



Şekil 2. Folik Asit Formülü

Folik asitin gıdalarda doğal olarak bulunan ve insanlarda metabolik olarak aktif olan formu ise "folat" veya "folasin" olarak adlandırılmaktadır. Batı diyetinde en sık eksik bulunan besinlerden biridir ve eksikliğin dünya çapında bir sorun olduğuna dair kanıtlar vardır. Folik asit yeşil yapraklı sebzelerde, baklagillerde, bezelye ve mercimek, karaciğer, pancar, brüksel lahanası, kümes hayvanları, besleyici maya, ton balığı, buğday tohumu, mantar, portakal, kuşkonmaz, brokoli, ıspanak, muz, çilek ve kavunlarda bulunur. 1998'de, ABD Gıda ve İlaç İdaresi (FDA), gıda üreticilerinin, alımları artırmak ve nöral tüp defektlerini (NTD) önlemeye yardımcı olmak için ekmek ve tahıl ürünlerine folik asit eklemelerini istedi. (<https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/vitamin+Bc>) Folat, DNA sentezinden genetik regülasyonuna kadar pek çok biyolojik süreç için gerekli olan nükleik asitlerin, aminoasitlerin ve metil donörlerin sentezi için gerekmektedir.

Folik asit, vitaminin aktif formu değildir. Folatın aktif formu olan tetrahidrofolata dönüşümü için indirgenmesi gereklidir. NADPH gerektiren bir enzim olan Dihidrofolat redüktaz enziminin rol aldığı iki indirgenme reaksiyonu sonucu aktif form olan tetrahidrofolata dönüşüm sağlanır.



Şekil 3. Folik Asitin Etki Mekanizması

trahidrofolat (THF)' a indirgenir. Serin aminoasitinin metil transferaz ile THF' ye aktarılır. Bunun sonucu 5,10-

5,10-metilen-THF; MTHFR (5,10-metilen THF redüktaz) ile 5-metil THF" ye
bilir.

- 10-formil-THF"ye dönüşüp pürin sentezine katılabilir.
- 5,10-metilen-THF; timidilat sentazın katalize ettiği reaksiyonla metil grubunu ' ye aktararak dTMP sentezini sağlar ve DNA sentezine katılabilir.

2 vitamininin koenzim olduğu ve metionin sentaz (MS) enziminin katalizlediği onla 5-metil THF, metil grubunu homosisteine aktararak metionini oluşturur. e tekrar tetrahidrofolat formuna geri dönmüş olur.

Bu reaksiyon 5-metil THF⁺ tan tetrahidrofolat oluşturan tek reaksiyondur. Bu reaksiyon olmadan tetrahidrofolatlar 5-metil THF basamağında kalır (47).

Folik asit, vücuttaki proteini metabolize etmek için B12 vitamini ve C vitamini ile birlikte çalışır. Kırmızı ve beyaz kan hücrelerinin oluşumu için önemlidir. Hücrelerin doğru şekilde farklılaşması, büyümesi için ve fetüsün gelişimi için gereklidir. Ayrıca DNA ve RNA'nın nükleik asidini oluşturmak için kullanılır. İştahı artırır ve sindirim için mide asidi üretimini uyarır ve sağlıklı bir karaciğer sağlamaya yardımcı olur. Folik asit eksikliği, içinde kırmızı kan hücrelerinin üretiminin azaldığı anemiye neden olabilir. Bu, dokulara ulaşabilen oksijen ve besin miktarlarını azaltır. Belirtiler yorgunluk, sindirim asitlerinin salgılanması, konfüzyon ve unutkanlığı içerebilir. Hamilelik sırasında, folik asit eksikliği preeklampsiye, erken doğum ve doğum sonrası kanamanın artmasına neden olabilir.

Ritim bozukluğu ve kalp hastalığı riski yüksek olan insanlar, folik asit takviyesi alarak çok fayda görebilirler. Amino asit olan homosisteinin kan seviyesinin yükselmesi, bu hastalıkların bazıları için risk faktörü olarak tanımlanmıştır. Yüksek homosistein seviyelerinin, osteoporoz ile ilgili sorunlara katkıda bulunduğu da bulunmuştur. Folik asit, B6 ve B12 vitaminleri ile birlikte homosisteinin parçalanmasına yardımcı olur ve yüksek düzeylerle ilişkili sorunların tersine çevrilmesine yardımcı olabilir. Gebe kadınların hem kendileri hem de çocukları için folik aside olan ihtiyaç artmıştır. Fetusun uygun şekilde büyümesi ve gelişmesi için folik asit gereklidir. Folik asidin yeterli miktarda alımı, özellikle nöral tüp defektleri olmak üzere birçok doğum kusur tipinin önlenmesi için hayati öneme sahiptir. Embriyonun nöral tüpü beyin, omurilik ve kafatasının içinde gelişir. Bu tüp gebeliğin ilk birkaç ayında tamamlanmamışsa ciddi ve sıklıkla ölümcül bir kusur olan spina bifida veya anensefali ile sonuçlanır.

Gebeliğin ilk dört ayında hamile kalmadan bir yıldan bir aya kadar geçen folik asit, NTD riskini % 50-70 oranında azaltabilir. Aynı zamanda, yarık dudak ve yarık damak ağzını önlemeye yardımcı olur.

Araştırmalar, folik asidin, Pap smear ile tanı konan ve servikste anormal hücrelere sahip olan servikal displaziye başarıyla tedavi etmek için kullanılabileceğini

göstermektedir. Bu durum rahim ağzı kanserinin olası bir öncüsü olarak kabul edilir ve anormal Pap smear tanısı alır. Üç ya da daha fazla ay boyunca günlük 1000 mcg folik asit tüketimi, Pap smearlerin tekrarlanması üzerine servikal hücrelerin iyileşmesine neden olmuştur.

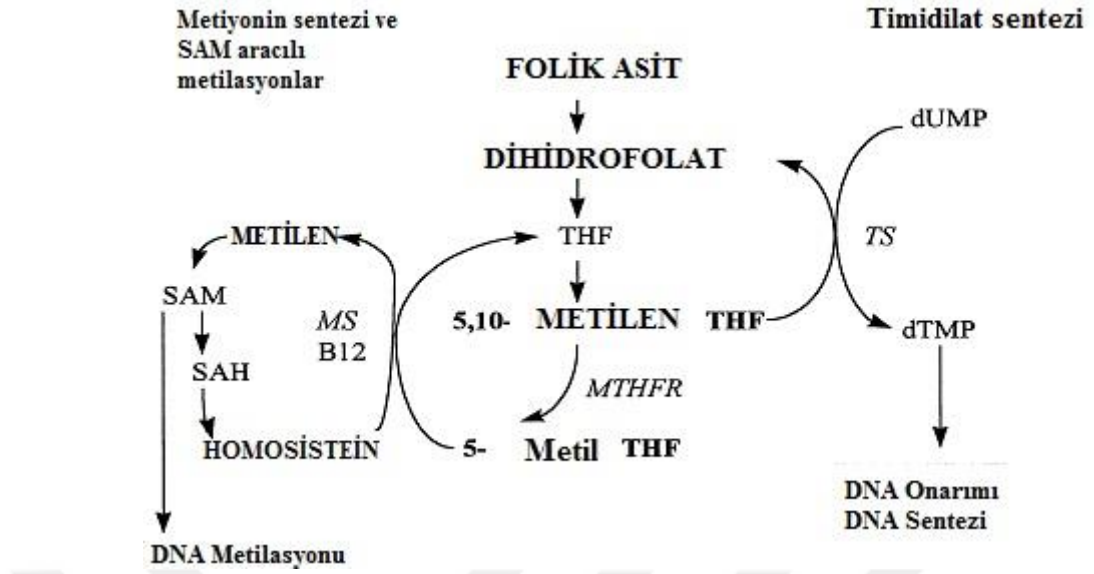
Çalışmalar, folik asit takviyelerinin uzun süreli kullanımının akciğer ve kolon kanserini önlemeye yardımcı olabileceğini göstermektedir. Araştırmacılar ayrıca düşük folik asit seviyesine sahip alkol bağımlılarında kolon kanseri gelişme ihtimalinin oldukça arttığını keşfetmiştir (2019 <https://medical-dictionary.thefreedictionary.com/vitamin+Bc>).

3.8.2. Kobalamin (B12 Vitamini)

Kobalt içeriğinden dolayı parlak kırmızı kristal yapıda olan B12 vitamini, ilk olarak 1948 yılında izole edildi ve pernisiyöz anemiye durduran vitamin olarak tanımlanmıştır. B12 vitamini, DNA sentezi, eritrosit üretimi ve miyelin kılıf sentezi gibi birçok olayda folik asitle birlikte çalışmaktadır. Miyelin kılıfı sinir hücrelerinin dışını sarar ve sinir hücreleri boyunca sinyal iletimini hızlandırır.

3.8.3. Folik Asit ve B12 vitamini etki mekanizması

Folik asit ve B12 Vitamini DNA metabolizmasında önemli rol oynar. DUMP'den dTMP'nin sentezi için folik asit gereklidir. Folik asit eksikliği koşulları altında, dUMP birikir ve bunun sonucunda urasil, timin yerine DNA'ya dahil edilir. Urasil'in DNA'ya aşırı şekilde dahil edilmesinin sadece nokta mutasyonuna yol açmaz, aynı zamanda tek ve çift zincir DNA kopmalarına, kromozom kırılmasına ve mikronükleus oluşumunda neden olur.



Şekil 4. Folik Asit ve B12 Vitamini Etki Mekanizması

Folik asit ve B12 Vitamini ayrıca, gen ekspresyonunu ve DNA konformasyonunu belirleyen DNA'da metilasyonu için gerekli ortak metil donörü olan metiyonin ve S-adenosil metiyonin (SAM) sentezi için de gereklidir. B12 Vitamini ve metiyonin konsantrasyonu düşük olduğunda, SAM sentezi azalır, DNA'nın metilasyonu azalır, metilendetrahidrofolat redüktazın (MTHFR) SAM'ı inhibisyonu en aza indirgenir, böylece 5,10-metilentrakidrofolatın geri dönüşümsüz dönüşümü sağlanır (47).

Folik asit eksikliği urasilin DNA'ya dahil olmasına, DNA'nın hipometilasyonuna, verimsiz DNA onarımına neden olabilir ve kromozom malsegregasyonunu ve kırılmasını artırabilir. Folik asit ve Vitamin B12'deki eksiklikler, her ikisi de kanser için önemli risk faktörleri olan, DNA hasar oranının artması ve değiştirilmiş DNA metilasyonu; ve kardiyovasküler hastalık için önemli bir risk faktörü olan homosistein statüsünde artışa yol açar. Bugüne kadar elde edilen birikmiş kanıtlar folat ve Vitamin B12'nin genomik stabilitede önemli bir rol oynadığını göstermektedir.

Prospektif çalışmalardan elde edilen mevcut kanıtlar, insan yapımı kanserojenlere maruz kalmadan bağımsız olarak, düşük kromozomal hasar oranlarında azalmış bir kanser riski olduğunu ortaya koymaktadır. Bu nedenle, yeterli folat ve B12 Vitamini

alımından kaynaklanan genomik stabilitenin artmasının, kanser riskini azaltabileceği düşünölmektedir (35).



4. MATERİYAL VE METOD

Bu çalışmada 20-49 yaş arası üreme çağında olup yoğun çamaşır suyu kullanan bayan bireylerden alınan periferik kanlar değerlendirilmiştir. Bireylerin son altı ay içerisinde ilaç almadığı, sigara kullanmadığı ve radyosona maruz kalmadığı dikkate alınarak lenfosit kültürü kan örnekleri alınmıştır. Bireyler kromozomal yönden hiçbir kusura sahip olmayıp sağlıklı bireylerdir.

4.1. MATERİYAL

4.1.1. Kullanılan kimyasal maddeler ve deney ekipmanları

4.1.1.1. Sodyum hipoklorit

Sodyum hipoklorit, NaOCl formülüne sahip olan bir tuzdur. Günlük hayatta beyazlatıcı çamaşır sularında kullanılmaktadır. Çevreye büyük ölçüde zarar veren bu madde oda koşullarında klor ile sodyum hidroksitin tepkimeye sokulmasıyla üretilmektedir. Genellikle aktif klor oranı %15- %16'lık sulu çözelti şeklinde ticari amaçlı olarak satılmaktadır. İçerisinde aktif maddeler ve sodyum hipokloritin kokusunu bastırmak için parfümde arındırmaktadır. Halk arasında sıvı klor; ağartıcı, hipo, çamaşır suyu, javel suyu temizlik maddesi olarak bilinir ve kullanılır.

Tablo 1. NaOCl bileşenleri

Kimyasal Adı	Sodyum hipoklorit
Kimyasal Formülü	NaOCl
Erime Noktası	-12 – -10 °C (%15 - %16 konsantrasyonda)
Kaynama Noktası	111 °C (%15 - %16 konsantrasyonda)
pH	> 12
Yoğunluk	1,11 g/cm ³
Renk	Yeşilimsi sarı sıvı

4.1.1.2. Folik asit

Folik asit, folasin, folat ve B9 vitamini gibi farklı formlar olarak da bilinen B vitaminlerinden biridir. Bu vitamin ağız veya enjeksiyon yoluyla vücuda alınabilir.

Yetişkinlerin, gıdalarından veya besin takviyelerinden günlük alması önerilen folik asit miktarı 400 mikrogramdır.

Folik asit eksikliğini gidermek için gıdalara ek takviye olarak alınır. B vitaminlerinin işleyişi birbiriyle ilişkili olduğundan, genellikle tek B vitamin takviyesi yerine uygun B-vitamini dozunun alınması önerilir. Folat için tavsiye edilen doz miktarı yetişkinler için günde 400 mcg, gebe kadınlar için günlük 600 mcg ve emziren kadınlar için 500 mcg' dir. Günde 1.000-2.000 mcg' ye kadar olan tıbbi dozajlar verilebilir. Bir kapsül, 200 mg için 400 mcg folik asit içermektedir.

4.1.1.3. Diğer kimyasal maddeler

A-F10 (HAM)Nutrient Mixture (Biological Industries 752348)(With L-Glutamine)

B-Fetal Bovine Serum (Gibco 41G957P)

C-PHA-M Pytohemagglutinin M

D-Colcemide Solution(Biological Industries 816646)

E-Acetic Acid (Glacial) (Riedel-de Haen)

F-Methanol(Riedel-de Haen)

H-Xylol (Merck)

 -Giemsa Stain (Sigma)

J-Heparin (Mustafa Nevzat)

K-Etil Alkol (Sigma)

L-Penicilllin-Streptomycine Solution (Biological Industries 722867)

M-Ethanol Absolut(Riedel-de Haen)

N- zotonik (Eczacıbaşı)

O-Trypsin-EDTA Solution C (Biological Industries 814619)

P-Sodium Phosphate diabasic anyhyrous ($\text{Na}_2\text{HPO}_4, \text{H}_2\text{O}$)

Q-Potassium Phospate monobasic (KH_2PO_4)

R-L-Glutamin Solution (Biological Industries 746245)

S-KCI

T-Distile Su

4.1.1.4. Kullanılan solüsyonlar

A-Kolşisin (colchicine) Solüsyonu: 40 mg colchicine+100 ml triple distile su

B-Hipotonik Solüsyonu: 0,075 M KCL (1000 ml Distile Su+5.6 gr KCl)

C-Tespit Solüsyonu (Fiksatif): 3 kısım methanol+1 kısım acetic acid glacial

D-Penicilline Solüsyonu:1.000.000 U Penicilline–G Potassium+10 ml steril distile su

E-Streptomycine Solüsyonu:1 gr streptomycine sülfate+10 ml sterl triple distile su

F-Fitohemaglutinine Solüsyonu: 5mg Pytohemagglutinine M.Bacto(Difco)+5ml steril distile su

G-Serum Solüsyonu: TC.Fetal Calf Serum dessicated +30 ml sterile distile su

H-Söransan Tamponu:

a-11.88 g Na_2HPO_4 +1000ml distile su

b-9.08 g KH_2PO_4 +1000 ml distile su

a ve b solüsyonları karıştırılarak pH=6.8 'e ayarlandı.

I-Giemsa Boya Tamponu (Düz Boyama İçin)

5ml Giemsa Stain Stock Solution+95 ml Distile Su

4.1.1.5. Kültür ortamı

4.1.1.5.1. Periferik kan kültürü

Periferik kan kültürü için uygun solüsyonlar miktarları ile aşağıdaki gibidir.

- 1.Besi Ortamı (F10 (HAM)Nutrient Mixture
- 2.Fetal calf serum
- 3.PHA (phytohemagglutinin)
- 4.Penicillin solüsyonu
- 5.Streptomisine solüsyonu

4.1.1.6. Diğer gereçler

- 1-Zaman ayarlı santrifüj
- 2-Etöv
- 3-Kuru Hava Sterilizasyonu
- 4-Distile Su Cihazı

- 5-Mikrofotografi Aygıtı
- 6-Elektronik duyarlı terazi
- 7-Mikroskop
- 8-Değişik çaptaki enjektörler ve pipetler
- 9-Değişik Ebatlarda Steril Plastik Santrifüj Tüpleri
- 10-Dikey Şaleler
- 11-Mezürler
- 12-Lam ve Lameller
- 13-pH Metre
- 14-Vortex
- 15-Mikropipetler
- 16-Plastik Eldiven
- 17-Laboratuvar saati
- 19-Buzdolabı

4.2. METOD

4.2.1. Araştırma popülasyonu

Çalışmamızda yaşları 25-49 arasında değişen sodyum hipoklorit etkisine maruz kalan üreme çağındaki 155 kadın bireyi (104 birey yoğun sodyum hipoklorite maruz kalan deney grubu, 51 birey sodyum hipoklorit kullanmayan kontrol grubu, 15 birey ise yoğun sodyum hipoklorite mazruz kalan 104 birey arasından seçilen tekrarlı deney grubu) kapsamaktadır. Yoğun kullanan 15 birey 3 ay boyunca sodyum hipoklorit kullanmayı bırakmaya ikna edildi. Bu 15 birey düşük veya rutin kontrol ön tanısıyla kadın doğum kliniğine başvuran ve hekim tarafından folik asit ve B12 vitamin takviyesi önerilen kadınlar arasından seçildi. Tekrarlı deney grubunu oluşturan bireylerden sodyum hipoklorit kullanımında ve bıraktıktan sonra toplam iki kez örnek alındı. Toplam 155 sağlıklı bireyden alınan periferik kan kültürü ile in vitro koşullarda çalışıldı. Oluşturulan deney, kontrol ve tekrarlı gruplar sitogenetik olarak incelenip değerlendirildi.

İlk olarak, Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik bölümü, genetik tanı laboratuvarında, çalışma kapsamındaki her olgunun aile bilgilerini içeren

pedigriler oluşturuldu. Pedigri analizinde bireylerin yaş, cinsiyet, akraba evliliği, düşük, adet düzensizliği, sigara, alkol ve ilaç kullanımı, virütik endikasyon grupları gibi kriterler ele alındı. Ayrıca çalışma gurubuna dahil edilen olguların kronik olarak radyasyona maruz kalıp kalmadıkları hakkında da anemnez formu dolduruldu. Radyasyona maruz kalanlar çalışmaya dahil edilmedi.

4.2.2. Kromozom elde etme yöntemi

Bu çalışmada kromozomların elde edilmesi için makrokültür tekniğinin modifiye edilmiş şekli olan ve mikrokültür ya da tüm kan tekniği olarak bilinen lenfosit doku kültürü yöntemi uygulandı. Çalışmanın uygulama aşamaları sırasıyla aşağıdaki gibidir.

1. Hücrelerin canlılıklarını sürdürebilmeleri için esasını aminoasitler, vitaminler ve minerallerin oluşturduğu heterolog insan serumu ya da dana serumu içeren kültür ortamlarında tutulmaları gerekmektedir. Bu amaçla steril ortamda, besi ortamı 80 ml (F10(HAM) Nutrient Mixture), 15 ml Fetal calf serum, 0,1ml Penicilin solüsyonu, 0,1ml Streptomisine solüsyonu içerecek şekilde stok kültür ortamı hazırlandı. Her bir kültür tüpüne steril ortamda 5 ml olacak şekilde aktarıldı.

2. Heparinlenmiş steril enjektör ile hastadan alınan venöz kandan kültür tüplerine 5 damla kan eklendi.

3. Kromozomlar mitozun metafaz evresinde en iyi şekilde görülürler. İnsan lenfositlerinin kendiliğinden mitoz bölünmeye girme oranı % 1'dir. Fitohemaglutinin sayesinde hücreler mitoz bölünme için teşvik edilerek aynı anda çok sayıda mitoz bölünme geçiren hücreler elde edilir. Bu amaçla her bir kültür tüpüne 2 damla fitohemaglutinin eklendikten sonra tüpün ağzı alevden geçirilerek kapatıldı. Lenfositlerin fitohemaglutinin ile temasından 24 saat sonra ikinci mitoz bölünmeye girdikleri bilinmektedir. Bu nedenle 72 saatlik inkübasyon için 37 °C'de etüve bırakıldı.

4. Kültürü yapılan hücreleri metafaz safhasında durdurmak için inkübasyonun 70.45 saatinde kültüre 2 damla (0.1 ml) colcemid eklererek etüve bırakıldı.

5. 72. saatte etüvden çıkarılan kültür vortekslendikten sonra 1400 rpm’de 10 dakika santrifüj edildi.

6. Supernatant atıldıktan sonra pelet, vorteksle karıştırılarak üzerine 10 ml hipotonik solusyon eklendi ve 10 dakika etüvde bekletildi.

7. Tüpler 1200 rpm’ de 10 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldıktan sonra pelet vorteks yardımıyla karıştırılarak üzerine pastör pipetiyle 10 ml fiksatif eklendi.

8. Fiksatif ile yıkama işlemi 3 defa tekrarlandı.

9. Son santrifüj işleminden sonra tüplerde yaklaşık 0.5 cc pelet bırakılmıştır.

10. Dip meteryal pipetle iyice karıştırıldı. Alkolde bekletilip temizlenmiş lamlara 45 derecelik açıyla yaklaşık 30 cm yükseklikten 2-3 damla damlatılarak yayıldı.

11. Kurumaya bırakılan preperatlar 3 gün etüvde 37°C’de bekletilerek yaşlandırılmıştır.

4.2.3. Preperatların boyanması

Boyama yöntemi olarak Giemsa düz boyama yöntemi kullanılmıştır. Düz boya için 95 ml distile suya 5ml giemsa löşing eklenerek boya tamponu hazırlanmış ve 5 dakika boya tamponunda bekletilen preperatlar distile sudan geçirilerek kurumaya bırakılmıştır.

4.2.4. Preperatların değerlendirilmesi

Değerlendirme işlemi önceden hazırlanan değerlendirme formuna gerekli bilgiler kaydedildikten sonra mikroskop altında incelenerek yapılmıştır. İlk olarak (10X) büyütme objektif ile başlanarak olumlu metefazlar tespit edildi. Daha sonra immersiyon objektifi (100X) ile inceleme yapıldı ve metefazlar hazır durumdaki forma işlenmiştir. Elde ettiğimiz metafazlardaki mitotik indeks ve kromozomlardaki kırıklar değerlendirilmiştir.

4.2.5. Mitotik indeks (MI) ve kromozom anormalliklerinin (KA) saptanması

Mitotik İndeksin (MI) Saptanması Sodyum hipoklorite maruz kalmanın mitoz bölünme üzerindeki etkilerini saptamak amacı ile her kişiye ait preparatlardan metafaz evresinde olan 1000 hücre incelenmiş ve kaydedilmiştir. Her bir kişinin incelenen 1000 hücresi içinde metafaz evresindeki hücrelerin oranı yüzde cinsinden hesaplanarak mitotik indeks saptanmıştır.

4.2.6. Kromozom yapı ve sayı anormalliklerinin saptanması

Deney ve kontrol grubundaki her birey için kromozomları iyi dağılmış 40 metafaz plağından yapısal ve sayısal anomalilikleri saptanarak kromozom aberasyonları belirlenmiştir. 6800 metafaz plağı içinde gözlemlediğimiz kromozom yapı ve sayı anormallikleri Uluslararası İnsan Sitogenetik Adlandırma Sistemine (ISCN= International System for Human Cytogenetic Nomenclature) uygun olarak değerlendirilmiş ve adlandırılmıştır (Paz-yMino ve ark., 2002). İncelenen her 40 hücrede saptanmış olan kromozom anormalliklerinden toplam kromozom anormalliği, yapısal kromozom anormalliği ve kromozom aberasyonu içeren anormal hücre başına düşen toplam kromozom anormalliği saptanarak istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

4.3. Yöntem

Araştırmada sodyum hipokloritin kromozomlar üzerindeki etkilerini incelemek amacı ile üreme çağında olan yaşları 25-49 arasında değişen sodyum hipoklorit etkisine maruz kalan 155 kadın bireyden kontrol grubu ile beraber toplam 170 örnekten alınan venöz kan kültüre edilerek kromozomlar elde edilmiş olup analizleri yapılmıştır.

Çalışmada 3 farklı grup ile çalışılmıştır.

1.GRUP (Deney Grubu): Yoğun sodyum hipoklorite maruz kalan 104 kadın birey

2.GRUP (Kontrol Grubu): Kontrol grubu sodyum hipoklorit kullanmayan 51 kadın birey

3.GRUP (Tekrarlı Grup): 1. grup içerisinde olan düşük ve rutin kontrol ön tanısıyla kadın doğum kliniğine başvuran hekim tarafından kendilerine folik asit ve B12 kullanılması önerilen yoğun olarak NaOCI' ye maruz kalan 15 kadın birey 3 ay boyunca NaOCI kullanmayı bırakmaya ikna edilmiştir. Kullanma ve bırakma dönemlerinde kromozomları incelenmiştir. Bu grup ilk gruba dahil olmakla beraber bırakma döneminde de incelenerek kendi içinde de değerlendirilmiştir.

4.3.1. İstatistiksel analiz

Kromozom aberasyonları yapısal ve sayısal düzensizlik olarak iki başlık altında incelenmiştir. Yapısal ve sayısal düzensizlikler başlığı altında toplam incelediğimiz 13 değişken bulunmaktadır. Değişkenlerimiz metafaz sayısı, kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık, izokromatid kırık, delesyon, duplikasyon, fragment, endomitoz, endereoduplikasyon, disentrik, assosyasyon ve diğer düzensizliklerdir.

Deney (Yoğun olarak çamaşır suyu kullanan 104 denek) ve kontrol grubu (Çamaşır suyu kullanmayan 51 denek) olmak üzere 2 grubumuz bulunmaktadır. Deney grubundaki 15 hastanın ayrıca tekrarlı ölçümleri (kullanım ve bırakma sonrası dönemde) alınmıştır. Tanımlayıcı istatistikler verildi. Normal dağılmayan değişkenler için Non parametrik testler kullanıldı. İkişerli grup karşılaştırmalarında Mann-Whitney U ve Student's t testleri kullanıldı. Tekrarlı gruplarda ise eşler arası karşılaştırmalar için Wilcoxon testi kullanıldı. Çoklu grup karşılaştırmalarında Kruskal Wallis testi kullanılırken, sürekli değişkenler için ve kategorik faktörler için ise GLM Univariate testi kullanıldı. Tekrarlı ölçümleri ek bir grup olarak kabul edip test ettiğimizde de Kruskal Wallis ANOVA testi kullanıldı. Kruskal Wallis sonucu farklı bulunduğunda da ikişerli grup ortalamaları Mann Whitney U ile test edildi. Karşılaştırmalarda önemlilik düzeyi için $\alpha=0,05$ kullanıldı. Maruz kalınan süre ve kullanılan miktarın toplam düzensizliklere etkisini belirlemek için Pearson r korelasyon katsayı kullanılmıştır ve regresyon denklemi hesaplanmıştır.

4.3.2. Laboratuvar uygulamaları

Preparatların boyama yöntemi olarak Giemsa düz boya metodu kullanıldı. 5 dakikalık sürelerle hazırlanan Giemsa düz boya ile boyanan preparatlar distile sudan geçirilerek kurumaya bırakıldı ve ışık mikroskobu ile incelenerek daha önceden

hazırlanan tabloya işlendi. Toplam tüp sayısı kontrol tüpleri ile 170 adettir. Her bir Deney ve kontrol grubundaki her birey için incelenen metafaz sayısı 40 adettir. 155 birey için incelenen toplam metafaz sayısı 6800 (170x40) adettir. Kromozomlar sayısal ve yapısal olarak incelenmiş olup ve metafazlarda incelenen bulgular tek tek kayıt edilerek oluşturulan tabloya işlenmiştir.



Tablo 2. İncelenen Metafaz Kayıt Tablosu Taslağı Örneği

İSİM: _____ DENEK NO: _____														
Metafaz no	ŞARYO NUMARASI	İncelenen metafaz	Kromatid gap	İzokromatid gap	Kromatid kırık	İzokromatid kırık	Delesyon	Duplikasyon	Fragment	Endomitoz	Enderoduplikasyon	Assosiyon	Disentrik kromozom	Diğer düzensizlik
1														
2														
3														
4														
5														
6														
7														
8														
9														
10														
11														
12														
13														
14														
15														
16														
17														
18														
19														
20														
21														
22														
23														
24														
25														
26														
27														
28														
29														
30														
31														
32														
33														
34														
35														
36														
37														
38														
39														
40														
TOPLAM														
Toplam metafaz														
Normal metafaz														
Düzensizlik içeren metafaz sayısı														
Mitotik indeks														

5. BULGULAR

Çalışmamızdaki çamaşır suyu kullanan denek grubu ile çamaşır suyu kullanmayan kontrol grubu ve bu kişilerin medeni durumuna göre sayıları Tablo 2 de belirtilmiştir.

Tablo 3. Grup ve Medeni Duruma Göre Kişi Sayısı Tanımlayıcı İstatistikleri

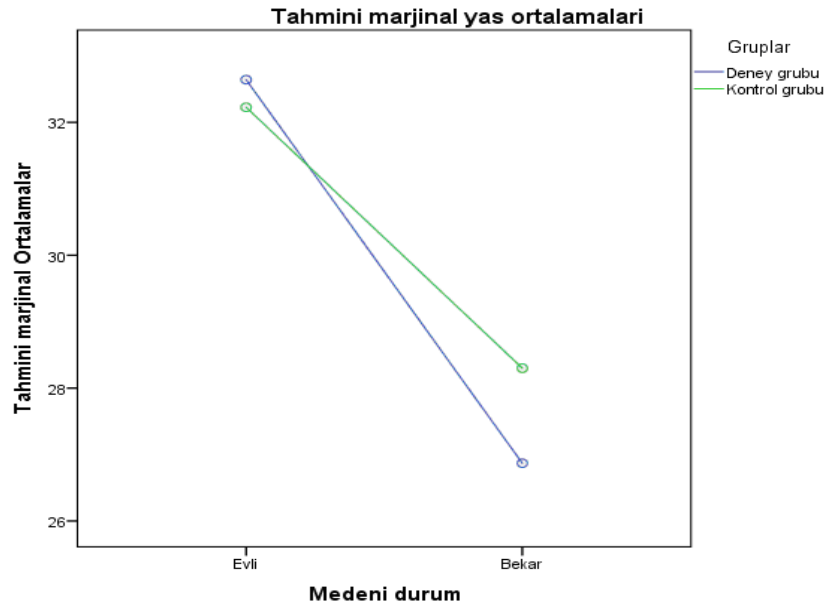
Grup ve medeni duruma göre kişi sayısı			
		Testin Değeri	N
Gruplar	1	Deney grubu	104
	2	Kontrol grubu	51
Medeni durum	1	Evli	112
	2	Bekâr	43

Tablo 3 irdelendiğinde, incelediğimiz kişilerin ortalama yaşı 30,009 olup; güven aralığı (CI = % 95) 28,8 ile 31,2 yaş aralığında değişmektedir.

Tablo 4. Gruplar ve Medeni Durum Kategorik Değişkenlerine Göre Yaş Değişkeni

						GLM
						Bulguları
Gruplar	Medeni durum	Ortalama Yaş	Standart Hata	95% Güven Aralığı		
				Alt Sınır	Üst Sınır	
Deney Grubu	Evli	32,642	,727	31,206	34,078	F=15,910
	Bekar	26,870	1,364	24,174	29,565	P=0,001
						fark vardır
Kontrol Grubu	Evli	32,226	1,175	29,904	34,548	F=6,229
	Bekar	28,300	1,463	25,409	31,191	P=0,01

Tablo 4 incelendiğinde deney grubundaki evli kişilerin ortalama yaş aralığı $32,64 \pm ,727$ iken bekar kişilerin ortalama yaş aralığı $26,870 \pm 1,36$ ’ dır. Kontrol grubunda ise evli kişilerin ortalama yaş aralığı $32,23 \pm 1,17$ iken bekar kişilerin yaş aralığı $28,3 \pm 1,46$ ’ dır. Deney grubundaki evli kişiler ile kontrol grubu içerisinde evli kişilerin yaş ortalaması birbirine yakındır. Deney grubundaki bekar kişiler ile kontrol grubu içerisinde bekar kişilerin yaş ortalaması birbirine yakındır.



Şekil 5. Medeni duruma göre yaş ortalamaları grafiği

Gruplar ve medeni durum kategorik değişkenlerine göre yaş değişkeni değerlendirildiğinde ortalama tahmini yaş, deney grubundaki evliler ile kontrol grubundaki evliler arasında ve deney grubundaki bekarlar ile kontrol grubundaki bekarlar arasında birbirine yakın olduğu görülmektedir.

5.1. Toplam Düzensizliklere Ait Bulgular

Kromozom analiz testinde deneysel test birimi hücredir. Sodyum hipokloritin sitotoksik etkisini değerlendirebilmek için anormal hücre oranları hesaplanmıştır. Çalışmada toplam 6800 metafaz incelenmiş olup, 943 tanesinde düzensizlik kaydedilmiştir. Toplam düzensizlik içeren hücre yüzdesi % 13,86' dır. Kontrol grubunda incelenen 2040 metafazdan 45 tanesinde düzensizlik kaydedilmiştir. Kontrol grubu düzensizlik yüzdesi % 0,66 olarak bulunmuştur.

Tekrarlı grupta çamaşır suyu kullanım sırasında düzensizlik içeren hücre sayısı 231 olup, çamaşır suyu kullanmayı bıraktıktan sonra % 77,5 azalma ile 52'ye düşmüştür. Hücre sayısı deneysel birim olarak kullanıp toplam düzensiz hücre frekansını değerlendirdiğimizde verilerde istatistiksel olarak anlamlı fark gözlenmiştir. Çamaşır suyu kullanmanın düzensiz hücre oluşumu üzerinde etkili olduğu saptanmıştır.

Tablo 5. Medeni Duruma Göre Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı

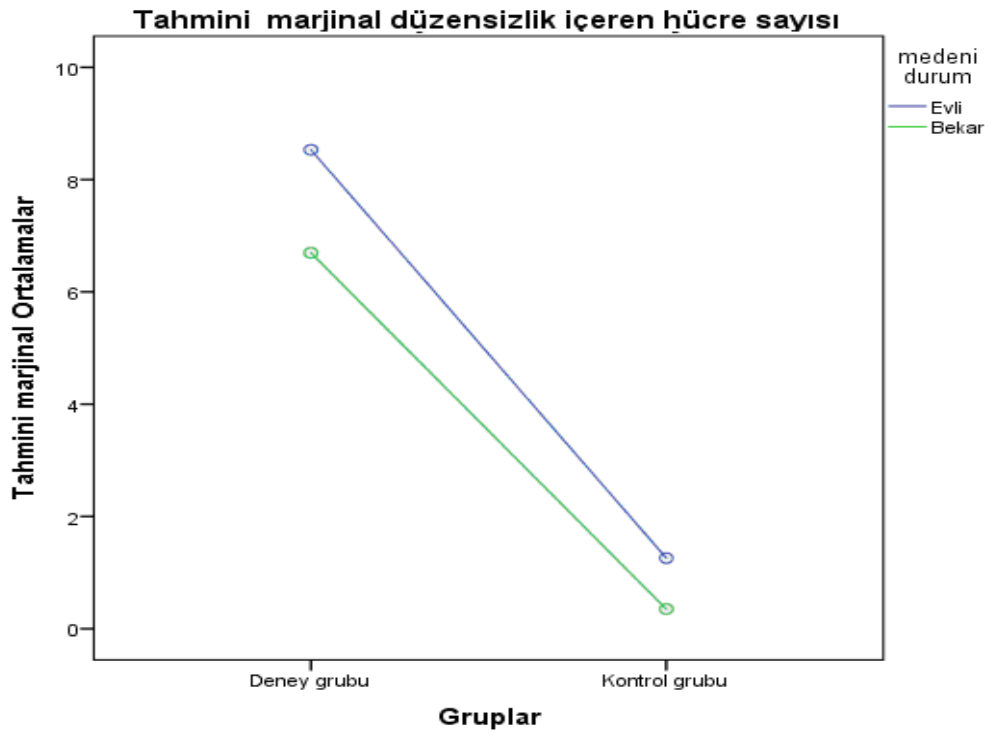
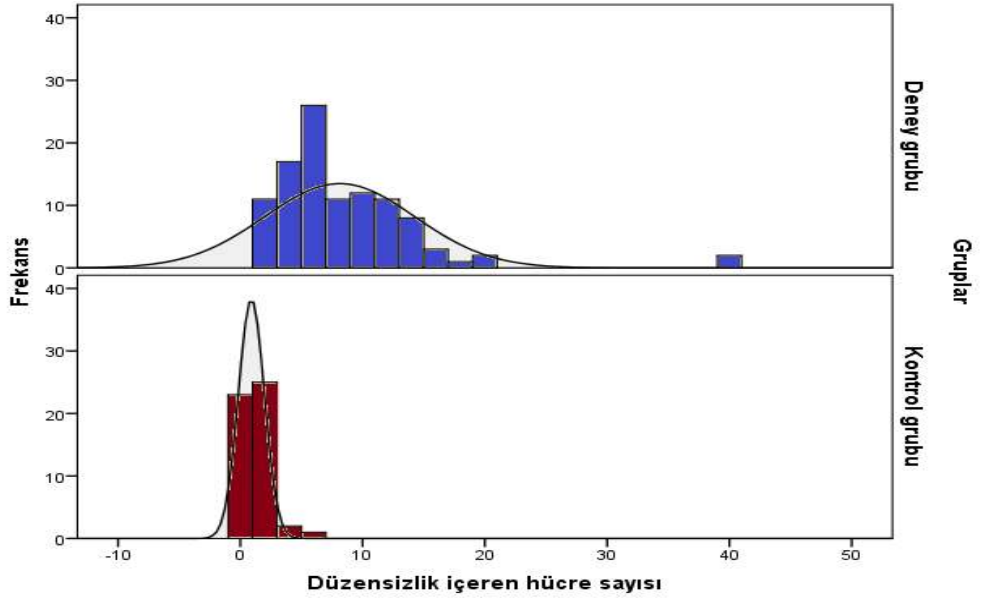
	Medeni Durum	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	p	t
Düzensizlik içeren hücre sayısı	Evli	112	6,52	6,617	,625	,002	3,205
	Bekar	43	3,74	3,916	,597		

Tablo 5 istatistiksel olarak irdelendiğinde, düzensizlik gösteren hücre sayısı değerleri tahmini ortalama evli bireyler için $6,52 \pm 6,61$ iken, bekar bireyler için tahmini ortalama $,90 \pm 1,063$ ’ tür. $P < 0.05$ olduğundan düzensizlik gösteren hücre sayısı ölçüm değerleri kişilerin medeni durumuna göre anlamlı derecede fark gözlenmektedir. ($p=0,002$)

Tablo 6. Gruplar Arası Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı

	Gruplar	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	p	t
Düzensizlik içeren hücre sayısı	Deney	104	8,13	6,154	,603	0,000	11,620
	Kontrol	51	,90	1,063	,149		

Tablo 6 istatistiksel olarak irdelendiğinde, düzensizlik gösteren hücre sayısı değerleri tahmini ortalama deney grubu için $6,15 \pm 0,60$ iken, kontrol grubu için tahmini ortalama $,90 \pm 1,063$ ’ tür. $P < 0.05$ olup çamaşır suyu kullanan grup ile kullanmayan grup arasında düzensizlik gösteren hücre sayısında anlamlı fark vardır. ($p=0,000$)

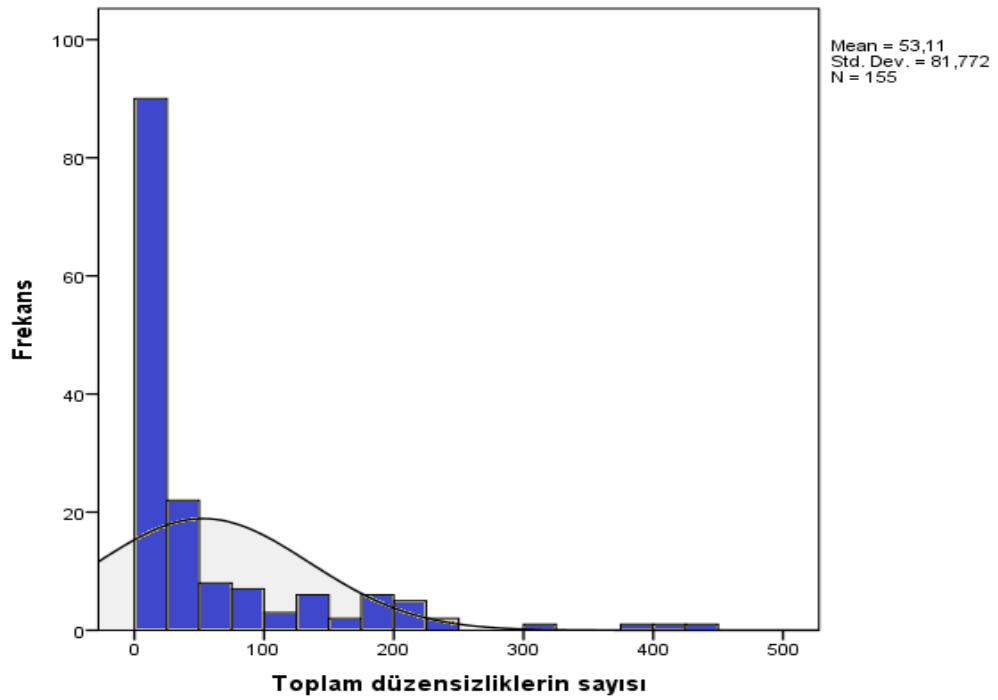


Tablo 7. Düzensizlik İçeren Hücre Sayısı Tanımlayıcı İstatistikleri

N	Ortalama	Medyan	Mod	Yüzde Değerleri			p
155	53,11	19	0	25 th	50 th (Median)	75 th	0,000
				3	19	72	Fark vardır

Mann-Whitney U Z=-3,988

Tablo 7 incelendiğinde verilerin % 25' inin düzensizlik gösteren hücre sayısı değerleri 3 sınırlarında iken, verilerin % 50'sinin değeri 19 ve verilerin % 75' nin değeri de 72 düzensizlik gösteren hücre sayısı düzeylerine yakın dağılmaktadır. Düzensizlik gösteren hücre sayısı ortaması ise 53,11'dir.

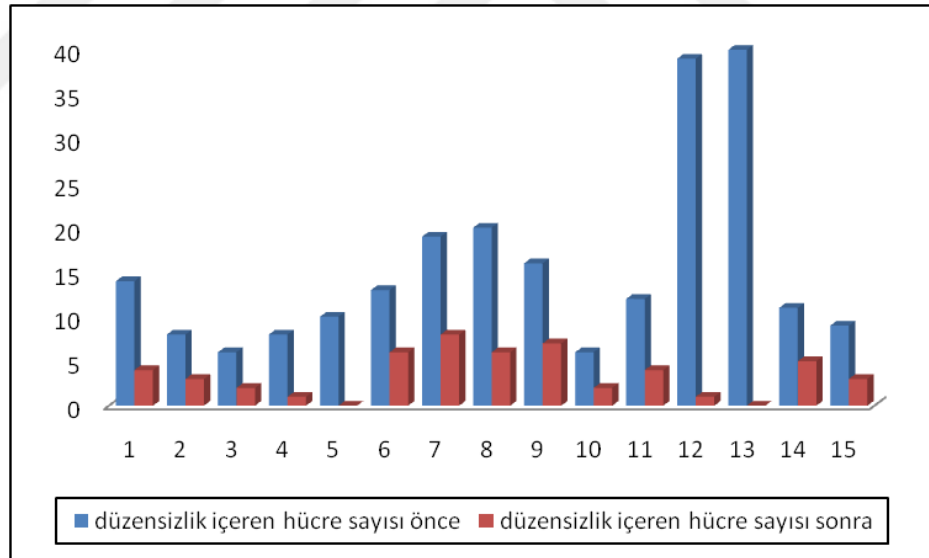


Şekil 8. Düzensizlik Gösteren Hücre Sayısı Ölçümlerin Frekans Grafiği

Tablo 8. Düzensizlik Gösteren Hücre Sayılarının Önce ve Sonra Değerleri İstatistiği

	Gruplar	N	Ortalama	Standart Sapma	p
Düzensizlik içeren hücre sayısı	Önce	15	0,26	0,12	
	Sonra	15	0,08	0,06	0,001

Tablo 8 incelendiğinde tekrarlı grupta bulunan 15 kişinin çamaşır suyu kullanımı sırasında (önce) ve 3 aylık bırakma sonrasında (sonra) düzensizlik içeren hücre sayıları ölçülmüştür. Olgulardan elde edilen veriler genel toplam düzensizlik içeren hücre ölçümlerinin önce-sonra değerleri açısından istatistikî olarak irdelendiğinde; önceki değerlerin tahmini ortalaması $0,26 \pm 0,12$ sonraki değerlerin tahmini ortalaması, $0,08 \pm 0,06$ ’ dır. $P < 0.05$ olduğundan toplam düzensizlik içeren hücre ölçümlerinin önce-sonra değerleri arasında fark varlığı gözlenmiştir ($p=0,001$). Çamaşır suyu kullanımı bıraktıktan sonra folik asit ve B12 vitamin takviyesi ile beraber hücre onarımının arttığı ve düzensiz hücre oluşumunun azaldığı saptanmıştır.

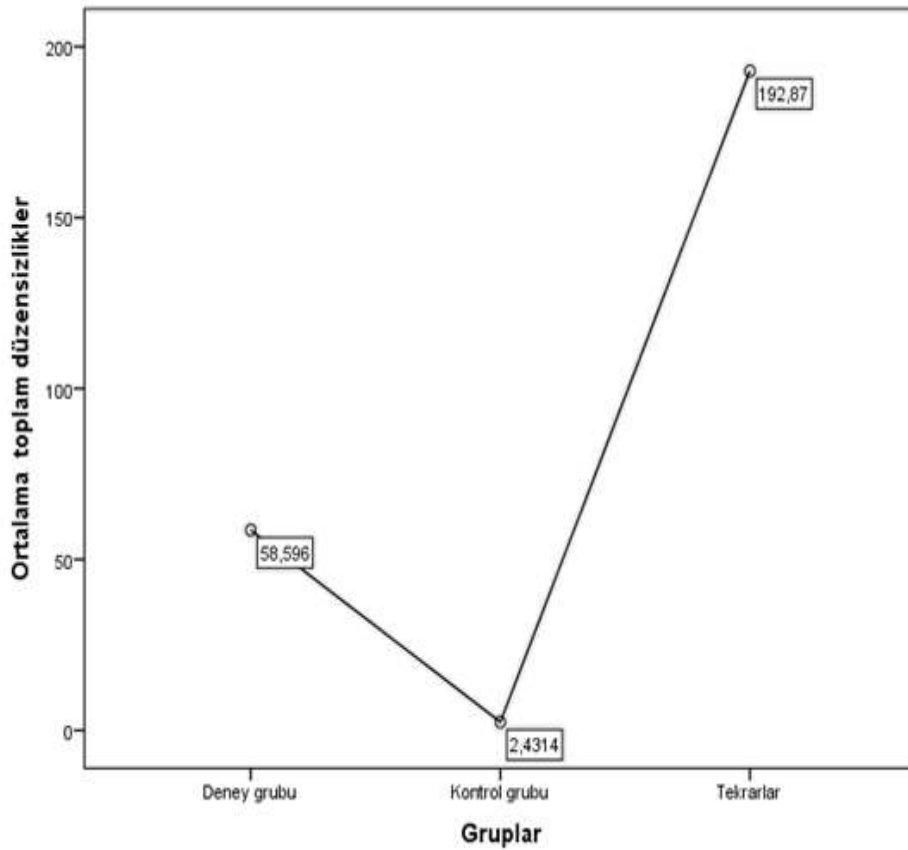


Şekil 9. Toplam Düzensizlik İçeren Hücre Ölçümlerinin Önce-Sonra Değerleri

Tablo 9. Toplam Düzensizlik İçeren Üç Grubun Tanımlayıcı İstatistikleri

	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	95% Güven Aralığı		Minimum	Maximum	p
					Alt Sınır	Üst Sınır			
Deney grubu	89	58,60	67,324	7,136	44,41	72,78	0	309	0,001 fark vardır.
Kontrol grubu	51	2,43	3,202	,448	1,53	3,33	0	15	
Tekrarlar	15	192,87	120,633	31,147	126,06	259,67	80	436	
Toplam	155	53,11	81,772	6,568	40,13	66,08	0	436	

Tablo 9 incelendiğinde $p < 0,05$ olduğundan her üç grupta bir-birinden farklı bulundu ($p=0.001$). Kontrol grubunun sodyum hipoklorit etkisine maruz kalmadığından dolayı anormal hücre oluşumu diğer gruplara oranla daha az rastlanılmıştır.



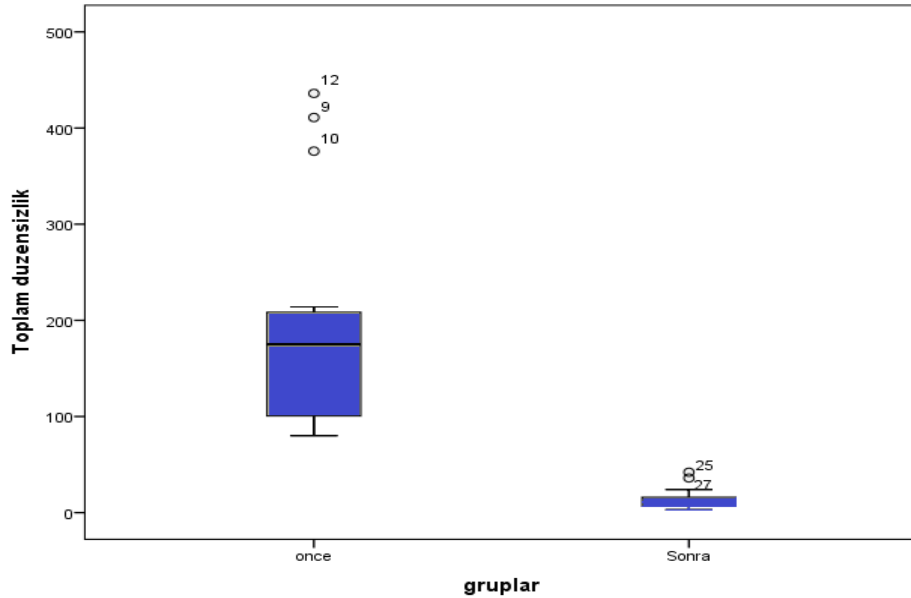
Şekil 10. Toplam Düzensizlik İçeren Üç Grubun Karşılaştırılması Grafiği

Tablo 10. Toplam Düzensizliklerin Sayısına İlişkin Tanımlayıcı İstatistikler

Toplam düzensizliklerin sayısı								
	N	Mean	Standart Sapma	Minimum	Maximum	Yüzdelere		
						25th	50th (Median)	75th
Önce	15	192,87	120,633	80	436	95,00	175,00	214,00
Sonra	15	14,27	11,535	3	42	5,00	11,00	16,00

Tablo 10 incelendiğinde çamaşır suyu kullanan bireylerin toplam düzensizlik dağılımı (yapısal ve sayısal düzensizliklerin toplamı) yaygınlığı incelendiğinde verilerin % 25' inin değeri 100 toplam düzensizlik sınırlarında iken, verilerin % 50'sinin değeri 180 toplam düzensizlik sayısına ve verilerin % 75' nin değeri de 200 toplam düzensizlik düzeylerine yakın dağılmaktadır.

Çamaşır suyu kullanımını 3 aylık bıraktıktan sonra bireylerin kromozom aberasyonlarının dağılışının küçülerek dar bir aralıkta dağıldığı gözlenmektedir. Kullanımı bırakmanın kromozom aberasyonlarının azalmasına olumlu etki ettiği kanısına vardık.



Şekil 11. Kromozom Aberasyonlarının Toplamının Gruplar Arası Dağılımı

Tablo 11. Kişilerin Ön Tanısına Göre Toplam Düzensizlik Tablosu

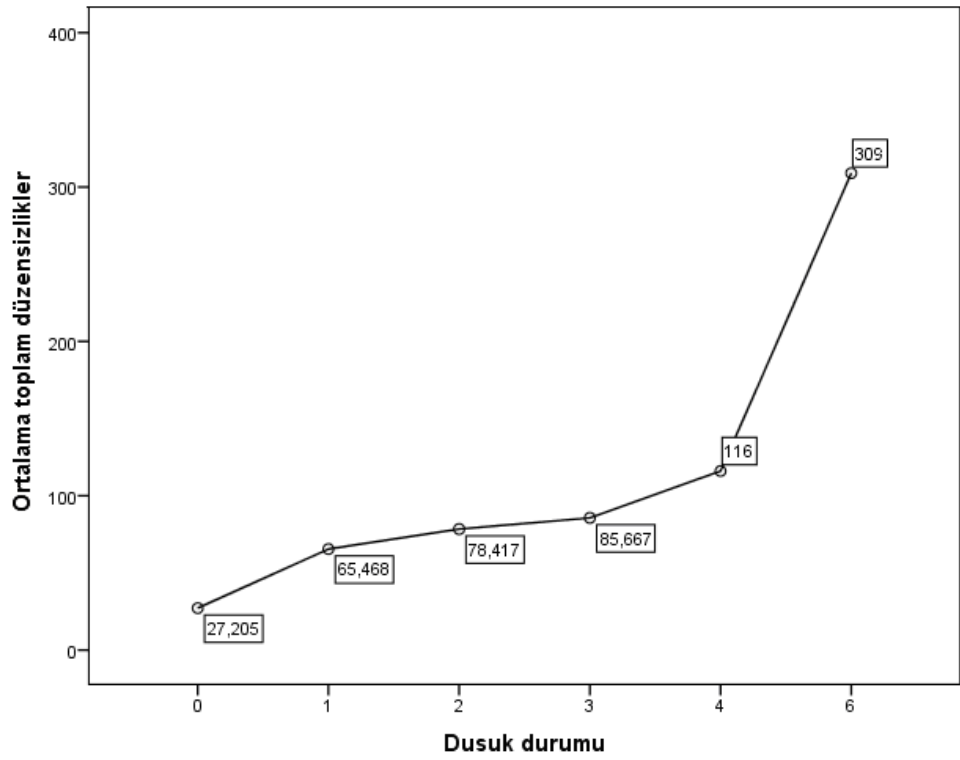
	Ön Tani	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata
Toplam	Dusuk	73	69,55	89,287	10,450
düzensizlikler	Rutin Kontrol	83	38,48	71,877	7,937

Tablo 11 incelendiğinde düşük ön tanısıyla kliniğe başvuran 73 bireyin toplam düzensizlik ortalaması $69,55 \pm 89,28$ olup, rutin kontrol için gelen 83 bireyin ortalaması $38,48 \pm 71,87$ ’dir.

Tablo 12. Kişilerin Düşük Sayısına Göre Toplam Düzensizliklerin Dağılımı Tanımlayıcı İstatistikleri

		95 % Güven						
		Aralığı						
Düşük Sayısı	N	Ortalama Değer	Standart Sapma	Standart Hata	Alt Sınır	Üst Sınır	Minimum	Maximum
0	73	27,21	49,548	5,799	15,65	38,77	0	246
1	47	65,47	106,324	15,509	34,25	96,69	0	436
2	24	78,42	70,855	14,463	48,50	108,34	4	222
3	6	85,67	75,455	30,804	6,48	164,85	15	187
4	4	116,00	99,716	49,858	-42,67	274,67	10	243
6	1	309,00	.	.	.	.	309	309
Toplam	155	53,11	81,772	6,568	40,13	66,08	0	436

Deneklerin düşük durumuna göre ortalama toplam düzensizlik oranı test edildiğinde fark olduğu gözlenmiştir ($p=0,001$). Düşük sayısı arttıkça ortalama toplam düzensizlik sayısında anlamlı bir artış saptanmıştır.



Şekil 12. Düşük Durumuna Göre Ortalama Toplam Düzensizlikler Grafiği

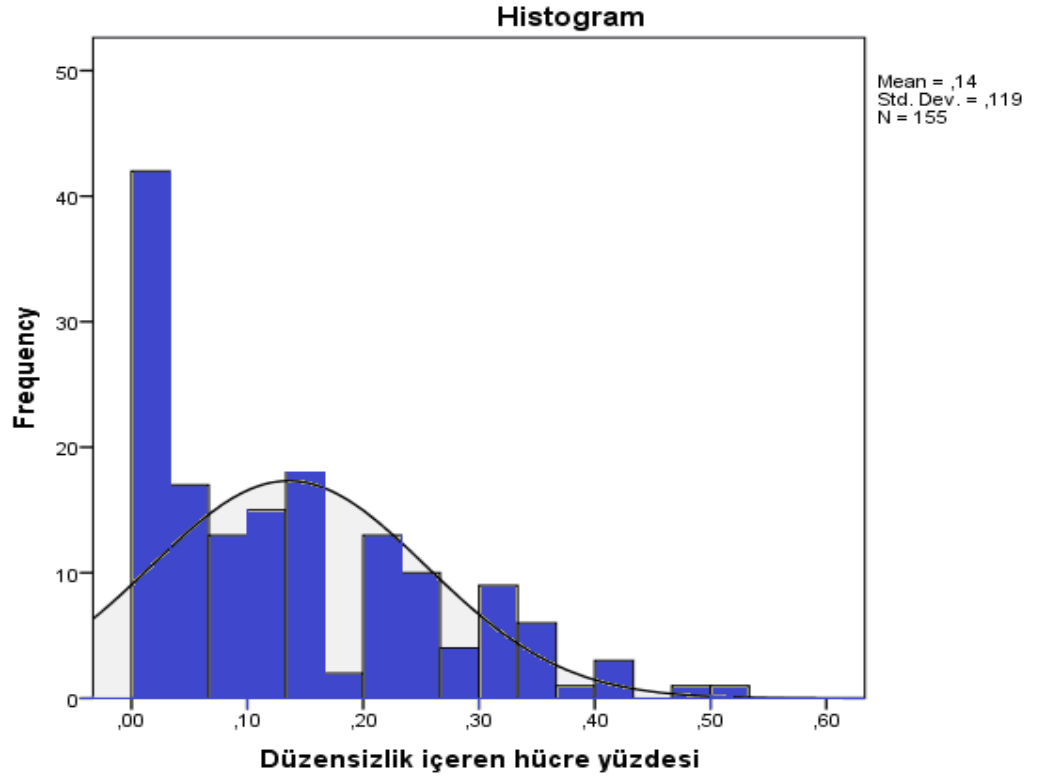
5.2. Yapısal Düzensizliklere Ait Bulgular

156 deneye ait incelenen 6800 metafazdan 943 tanesinde yapısal düzensizlik saptanmıştır. Deney grubunda yapısal düzensizlik oranı % 13,86 iken, kontrol grubunda % 1,34 ve tekrarlı grupta ise % 5,83' tür.

Tablo 13. Ortalama Toplam Yapısal Düzensizlikler

	Gruplar	N	Ortalama	Standart Sapma	Standart Hata	p	Z
Toplam yapısal düzensizlik	Deney	104	76,48	87,894	8,619	0,000	-3,988
	Kontrol	51	2,43	3,202	,448		

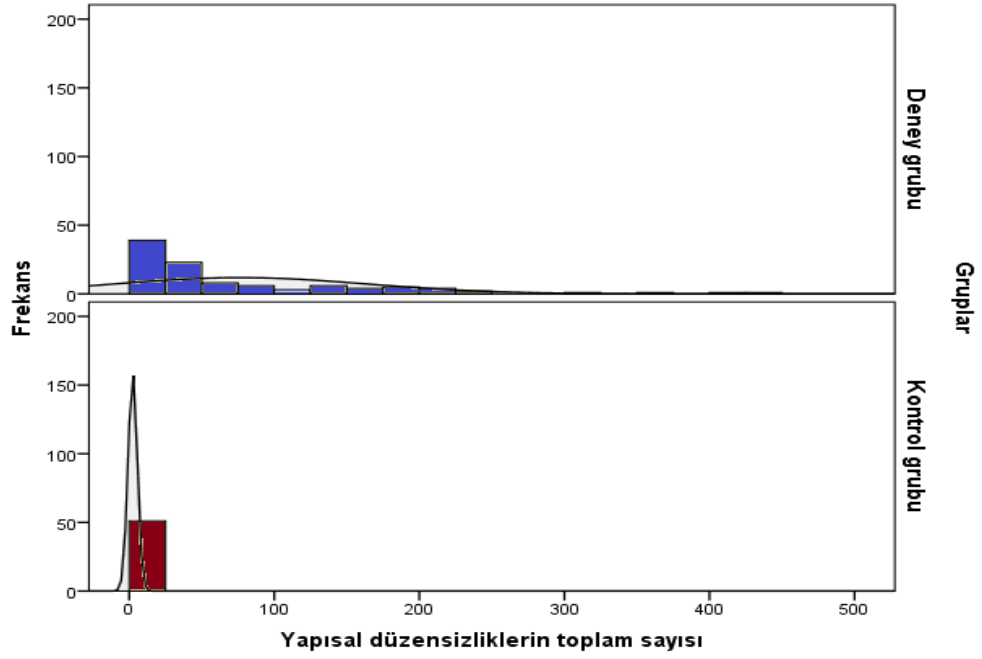
Tablo 13 incelendiğinde toplam yapısal düzensizlik değerleri tahmini ortalama deney grubu için $76,48 \pm 87,89$ iken, kontrol grubu için tahmini ortalama $2,43 \pm 3,20$ 'dir. Çamaşır suyu kullanan kişilerin yapısal düzensizlikleri ile çamaşır suyu kullanmayanların yapısal düzensizliklerinde anlamlı derecede fark vardır ($p=0,001$).



Şekil 13. Yapısal Düzensizlik İçeren Hücre Sayısının % Dağılımı Grafiği

Yapısal düzensizlik içeren hücre ölçümlerinin dağılışı çizildi. Verilerin % 50' sinin ölçümü $X_{(Ortalama)}=0,10$ dur. Yapısal düzensizlik içeren hücrelerin MOD ölçümü $X=0,17$ dir.

A, B, C kromozom grupları yapısal düzensizliğin en sık rastlandığı gruplardır. Bu gruplardaki kromozom boyutunun büyüklüğü düzensizliğin net olarak saptanmasını sağlamıştır. Ayrıca kromozomların uzun kollarında kısa kollarına oranla daha fazla düzensizlik saptanmıştır.



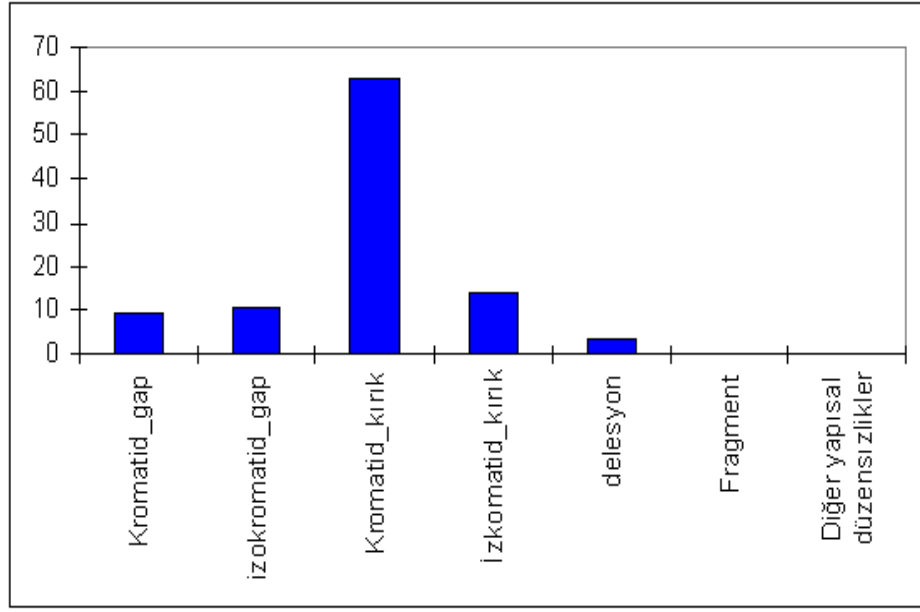
Şekil 14. Yapısal Düzensizliklerin Toplam Sayısı

Gruplara göre, yapısal düzensizlik oranlarının histogramları çizildiğinde, deney grubunda verilerin sola çarpık dağıldığı gözlenmektedir. Pik noktasının (MOD'un), ortalamanın sağında kaldığı gözlenmektedir. Değerlerin tahmini ortalaması deney grubu için $76,48 \pm 87,89$ iken kontrol grubu için tahmini ortalaması $2,43 \pm 3,2$ tür. $P < 0,05$ olduğundan toplam düzensizlik sayısı ölçüm değerleri deney ve kontrol grubu arasında fark varlığı gözlenmiştir ($p=0,000$).

Tablo 14. Yapısal Düzensizlik Tiplerinin Yüzde Olarak Gösterilmesi

Yapısal Düzensizlik Tipi	Yüzdelere
Kromatid_gap	9,25
izokromatid_gap	10,67
Kromatid_kırık	63,25
İzokromatid_kırık	13,7
Delesyon	3,5
Fragment	0,00235
Diğer yapısal düzensizlikler	0,00235

Tablo 14 incelendiğinde yapısal düzensizlik tipleri görülme sıklıklarına göre kromatid kırık, izokromatid kırık, izokromatid gap, kromatid gap, delesyon, fragment ve diğer yapısal düzensizlikler olarak değerlendirilmiştir. En sık rastlanan yapısal düzensizlik tipleri kromatid kırık ve izokromatid kırıktır.



Şekil 15. Yapısal Düzensizlik Yüzdeleri Grafiği

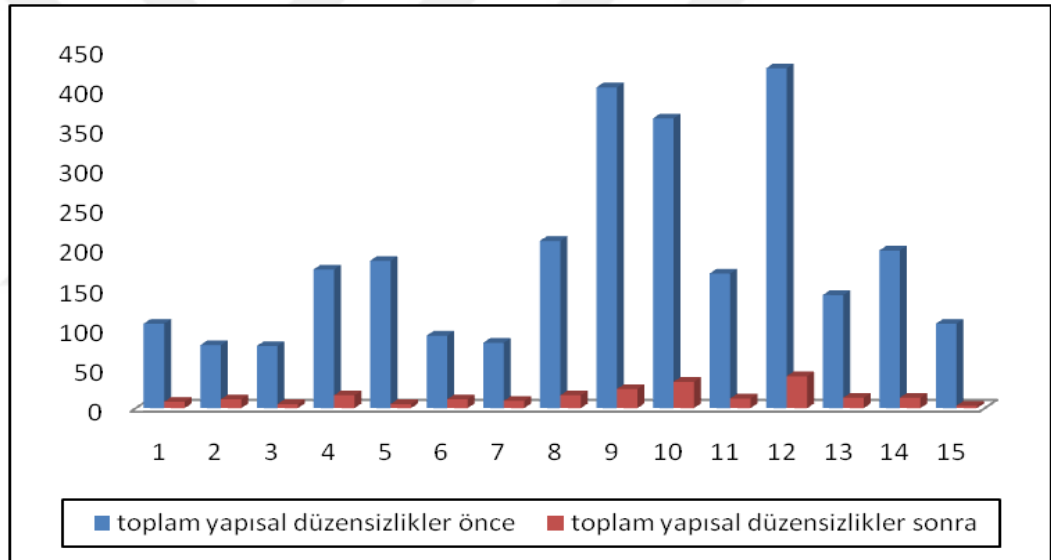
Tekrarlı gruplarda çamaşır suyu kullanım dönemi ve bırakma sonrası değerlendirilmiş olup, kullanım dönemi yapısal düzensizlik sayısı 2814 iken, bırakma dönemi düzensizlik sayısı 219 olup % 92,2 anlamlı derecede azalmıştır.

Tablo 15. Çamaşır Suyu Kullanma Ve Bırakma Dönemlerinde Toplam Yapısal Düzensizlik Yüzdeleri Tablosu

	N	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maximum	Yüzdeler		
						25th	50th (Median)	75th
Toplam yapısal düzensizlikler	15	187,60	118,219	78	427	91,00	169,00	210,00
Toplam yapısal düzensizlik tkr	15	14,60	10,377	3	40	8,00	12,00	16,00

a. Gruplar = Tekrarlar

Tablo 15 incelendiğinde çamaşır suyu kullanma döneminde verilerin % 25' inin toplam yapısal düzensizliklerinin değerleri 91 sınırlarında iken, verilerin % 50'sinin değeri 169 ve verilerin % 75' nin değeri de 210 düzeylerine yakın dağılmaktadır. Toplam yapısal düzensizlik ortalaması ise 187,60'tır. Çamaşır suyu bırakma döneminde ise verilerin % 25' inin toplam yapısal düzensizliklerinin değerleri 8 sınırlarında iken, verilerin % 50'sinin değeri 12 ve verilerin % 75' nin değeri de 16 düzeylerine yakın dağılmaktadır. Toplam yapısal düzensizlik ortalaması ise 14,6 'dır. $P<0.05$ olduğundan yapısal düzensizlik içeren hücre ölçümlerinin kullanma-bırakma değerleri arasında fark varlığı gözlenmiştir ($p=0,001$). Çamaşır suyu kullanma döneminde yapısal düzensizlikler fazla iken bırakma döneminde anlamlı derecede azalma gözlemlenmiştir.



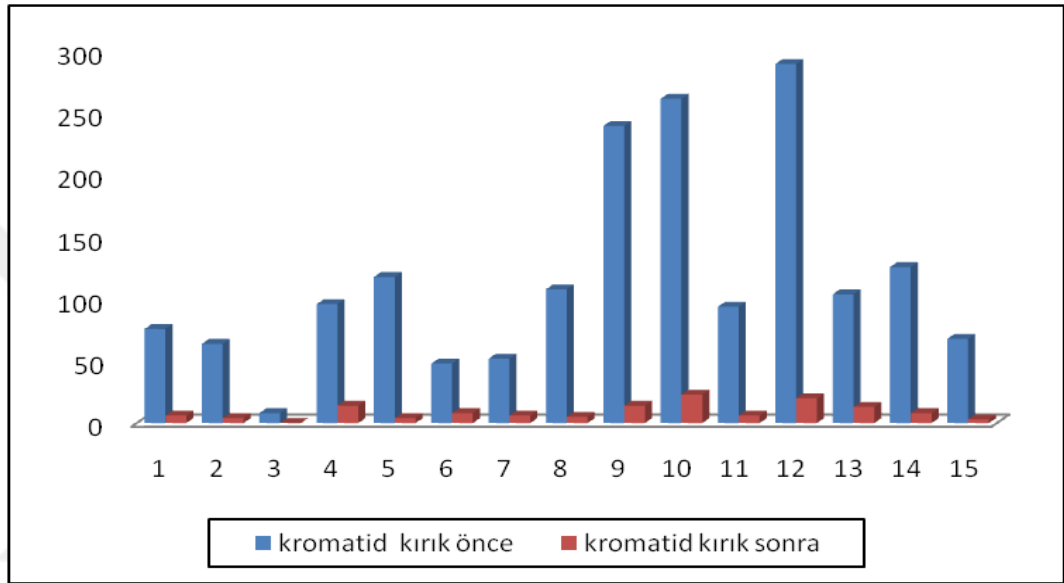
Şekil 16. Yapısal Düzensizlik İçeren Hücre Ölçümlerinin Kullanma-Bırakma Dönemlerinde Dağılışı Grafiği

Tablo 16. Tekrarlı Grupta Kromatid Kırık Önce ve Sonra Değerleri

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum	Percentiles		
						25th	50th (Median)	75th
kromatid kırık önce	15	116,93	82,437	8	290	64,00	96,00	126,00
kromatid kırık sonra	15	8,93	6,519	0	23	4,00	6,00	14,00

a. Gruplar = Tekrarlar

Tablo 16 irdelendiğinde tekrarlı grupta çamaşır suyu kullanımının kromatid kırıklar üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulundu; kullanma dönemi değerlerin tahmini ortalaması $116,60 \pm 82,43$ iken sonraki değerlerin tahmini ortalaması $8,93 \pm 6,5'$ tır. $P < 0,05$ olduğundan kromatid kırık sayısı ölçümlerinin kullanma-bırakma değerleri arasında fark varlığı gözlenmiştir ($p=0,001$, $Z=-3,408$). Çamaşır suyu bırakıldıktan sonra kırık sayısında azalma kaydedilmiştir.



Şekil 17. Çamaşır Suyu Kullanma-Bırakma Dönemi Kromatid Kırık Değerleri Grafiği

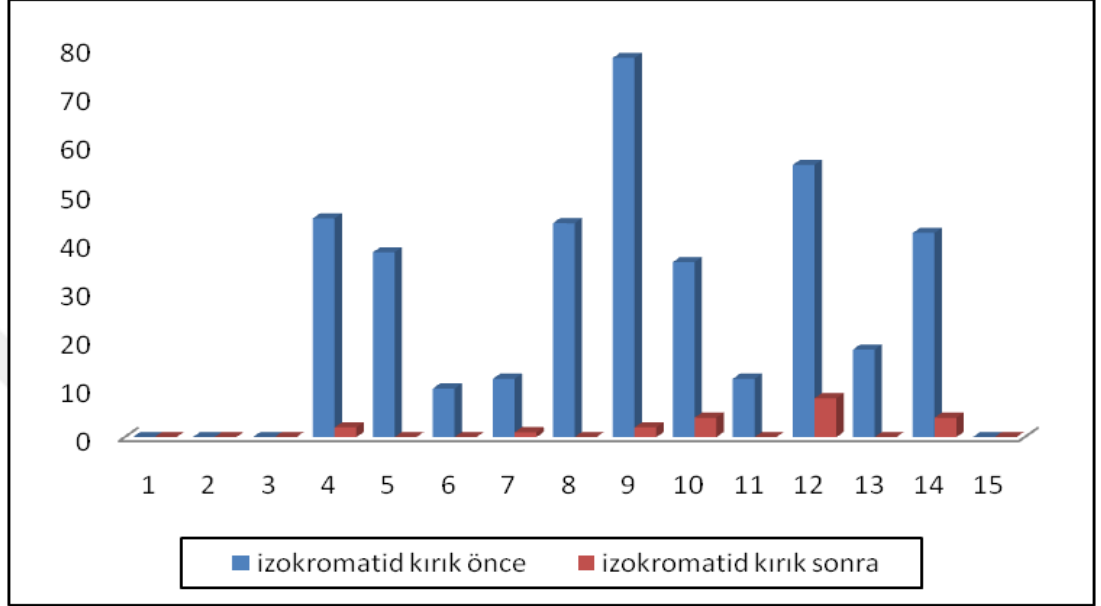
Tablo 17. Çamaşır Suyu Kullanma-Bırakma Dönemi İzokromatid Kırık Sayısının İstatistiksel Değerleri Tablosu

	N	Ortalama	Standart Sapma	Minimum	Maximum	Yüzdelere		
						25th	50th (Median)	75th
Izokromatid kırık önce	15	26,07	24,209	0	78	,00	18,00	44,00
Izokromatid kırık sonra	15	1,40	2,324	0	8	,00	,00	2,00

a. Gruplar = Tekrarlar

Tablo 17 irdelendiğinde tekrarlı grupta çamaşır suyu kullanımının izokromatid kırık sayısı üzerinde istatistiksel olarak anlamlı etkisi bulundu; kullanma dönemi

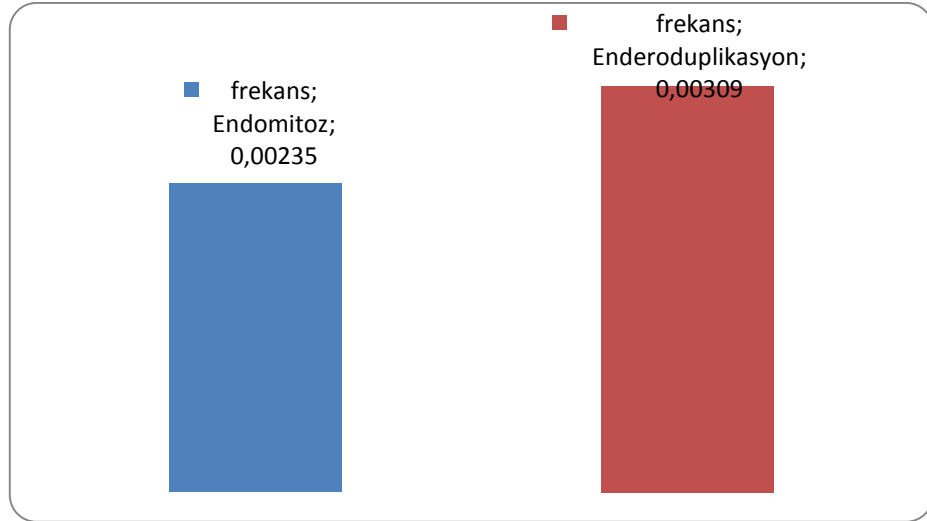
değerlerin tahmini ortalaması $26,07 \pm 24,20$, bırakma dönemi değerlerin tahmini ortalaması $1,40 \pm 2,32$ tır. $P < 0,05$ olduğundan izokromatid kırık sayısı ölçümlerinin önce-sonra değerleri arasında fark varlığı gözlenmiştir ($p=0,003$).Çamaşır suyu kullanımı bırakıldıktan sonra izokromatid kırık sayısında azalma kaydedilmiştir.



Şekil 18. Çamaşır Suyu Kullanma-Bırakma Dönemi İzokromatid Kırık Değerleri Grafiği

5.3. Sayısal Düzensizliklere Ait Bulgular

Çalışmamızda sayısal düzensizlikler 194 tane olup bunlar içerisinde 56 tane tetraploidi ($4n=92$) saptanmıştır. Tetraploid hücrelerin 42 tanesi endomitoz olup 14 tanesi enderoduplikasyon olduğu belirlenmiştir. Endomitoz ve enderoduplikasyon olgularına deney ve tekrarlı gruplarda rastlanılmış olup kontrol gruplarında rastlanmamıştır.



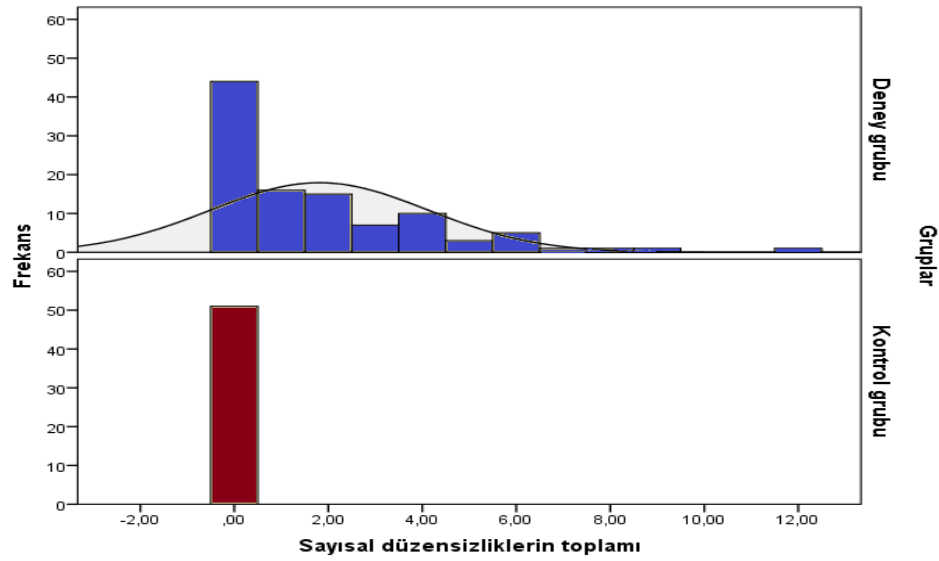
Şekil 19. Sayısal Düzensizlik Sıklığı

Tablo 18. Sayısal Düzensizliklerin Gruplararası Dağılımı İstatistikleri

	Gruplar	N	Mean	Standart	Standart	p
				Sapma	Hata	
Toplam yapısal düzensizlikler	Deney grubu	104	1,80	2,31	,22	0,000
	Kontrol grubu	51	,00	,00	,00	Fark vardır

Tablo 18’de veriler sayısal düzensizlik bakımından istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; değerlerin tahmini ortalaması deney grubu için $1,80 \pm 2,31$ iken kontrol grubu için tahmini ortalaması $00 \pm ,00$ ’ tür. $P < 0,05$ olduğundan toplam sayısal düzensizlik ölçüm değerleri deney ve kontrol grubu arasında fark varlığı gözlenmiştir ($p=0,000$). Deney grubu verilerinin sağa çarpık dağıldığı gözlenmektedir.

Bu da sayısal düzensizliklerin yüksek oranlarda gözlenme sıklığının gittikçe azaldığını anlatmaktadır. Kontrol grubunda ise sayısal düzensizliklerin oranı 0,10’dan sonra bitmektedir.



Şekil 20. Sayısal Düzensizliklerin Gruplararası Dağılımı Grafiği

Tablo 19. Deney ve Kontrol Grubunda Maruz Kalınan Süre ve Kullanılan Çamaşır Suyu Miktarı İstatistikleri

Tanımlayıcı İstatistikler								
		95% Güven Aralığı						
		N	Ortalama	Standart Sapma	Ortalama		Minimum	Maximum
					Alt Sınır	Üst Sınır		
Maruziyet suresi (dk)	Deney grubu	104	39,5618	18,8772	26,6548	34,4688	10,00	75,00
	Kontrol grubu	51	,0000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
	Tekrarlar	15	92,0000	21,11195	80,3086	103,6914	60,00	120,00
	Total	155	26,4516	29,95108	21,6991	31,2041	,00	120,00
Kullanılan miktar (L)	Deney grubu	104	2,9394	1,34849	2,1654	2,7335	1,00	6,00
	Kontrol grubu	51	,0000	,00000	,0000	,0000	,00	,00
	Tekrarlar	15	5,8000	,41404	5,5707	6,0293	5,00	6,00
	Total	155	1,9677	1,97523	1,6543	2,2812	,00	6,00

Tablo 19’da veriler istatistiksel olarak değerlendirildiğinde; Çalışmamızda deney grubunda çamaşır suyuna maruz kalınan süre günlük ortalama $39,56 \pm 18,54$ dakika olup, kullanılan çamaşır suyu miktarı ise haftalık ortalama 2,94 litre olarak hesaplanmıştır. Maruz kalınan süre ve kullanılan miktarın kromozom aberasyonları

üzerindeki etkisi toplam (sayısal ve yapısal düzensizlikler) olarak değerlendirildiğinde anlamlı fark gözlenmiştir. ($p=0,001$)

Çamaşır suyu kullanım miktarı litre olarak değerlendirildiğinde; kullanılan miktar deney grubu için haftalık $2,94\pm1,34$ litre iken, tekrarlı grupta $5,8\pm0,41$ litre olarak hesaplanmıştır. Kullanılan miktar ile gruplar arasında anlamlı bir fark vardır.

Tablo 20. Çamaşır suyuna maruz kalınan süre ve kullanılan miktarın toplam düzensizlikler ile korelasyonu

Korelasyonlar				
		Maruziyet Suresi (dk)	Kullanılan Miktar (L)	Toplam düzensizlikler
Maruziyet süresi	Pearson Correlation	1	,941**	,745**
	Sig. (2-tailed)		,000	,000
	N	155	155	155
Kullanılan miktar	Pearson Correlation		1	,723**
	Sig. (2-tailed)			,000
	N			155
Toplam düzensizlikler	Pearson Correlation			1
	Sig. (2-tailed)			
	N			155

** . Correlation is significant at the 0.01 level (2-tailed).

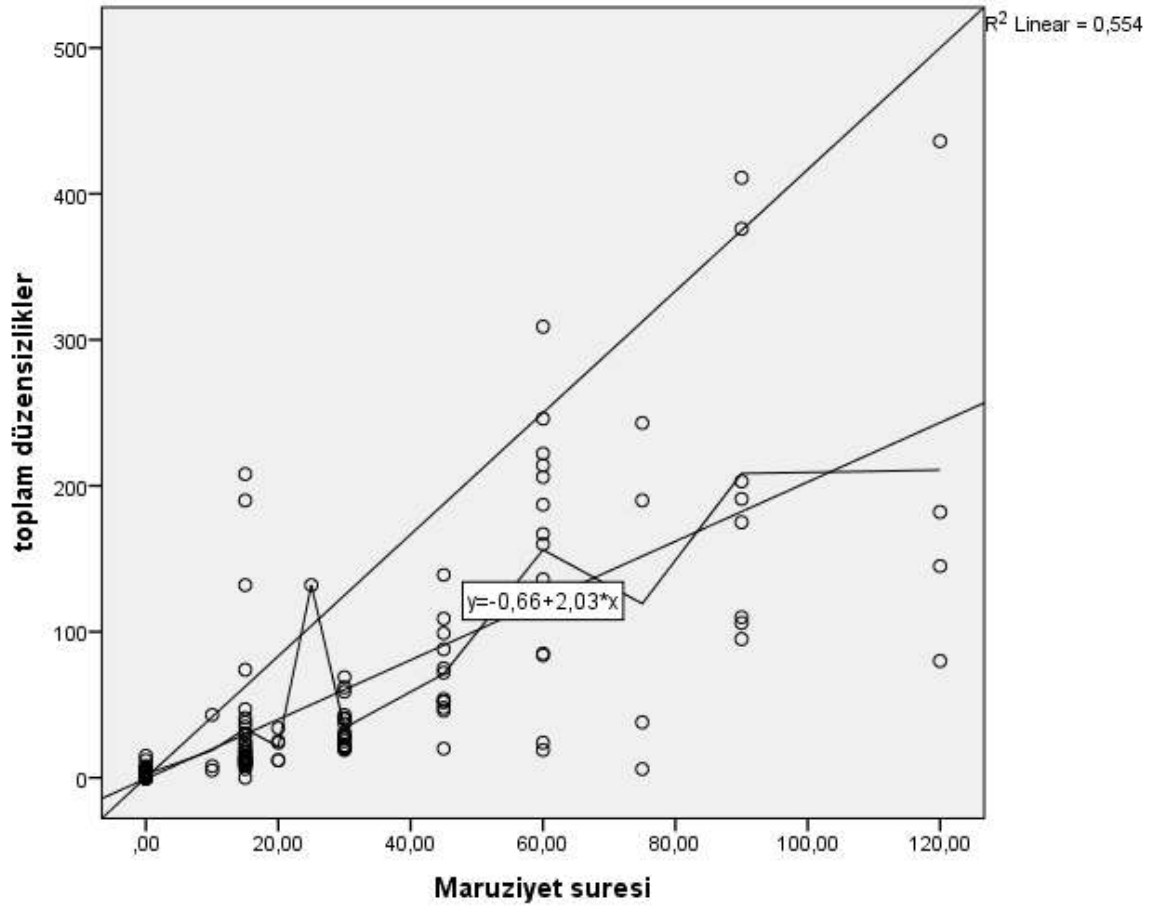
Tablo 20’de günlük maruziyet süresi değişkeni ve kullanılan miktar değişkeninin toplam yapısal düzensizlikler üzerindeki etkisi değerlendirilmiş olup elde edilen bulgular aşağıda verilmiştir.

Maruziyet süresi değişkeni ile toplam düzensizlik değişkeni arasındaki ilişki

$r_{(\text{Maruziyet süresi değişkeni ile kullanılan miktar})}=0,745$ olup $P=0,001$ anlamlıdır. Maruziyet süresi ile toplam düzensizlik değişkeni arasında anlamlı bir fark vardır.

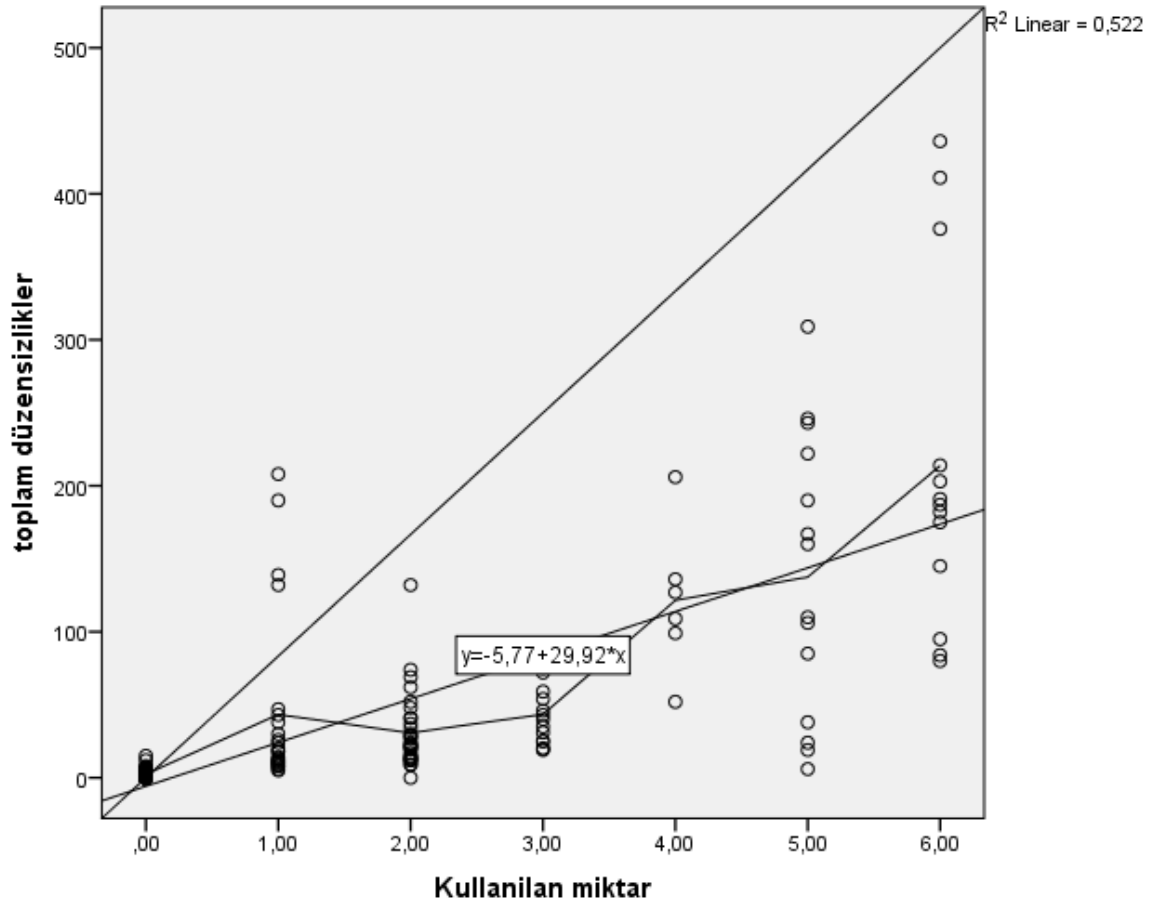
Kullanılan miktar değişkeni ile toplam düzensizlik değişkeni arasındaki ilişki

$r_{(\text{Kullanılan miktar değişkeni ile kullanılan miktar})}=0,723$ olup $P=0,001$ anlamlıdır. Kullanılan miktar ile toplam düzensizlik arasında anlamlı bir fark vardır.



Şekil 21. Çamaşır suyuna maruz kalınan sürenin toplam düzensizliklere etkisi

Regresyon denklemi $Y_{(\text{Toplam düzensizlik})} = 0,66 + 2,03 X_{(\text{Maruziyet süresi})} + e$ gibi bir regresyon denklemi bulduk. Her hasta için maruziyet süresi bir birim arttığında, kişide gözlenen toplam düzensizlik 2,03 birim artmaktadır.



Şekil 22. Kullanılan çamaşır suyu miktarının toplam düzensizliklere etkisi

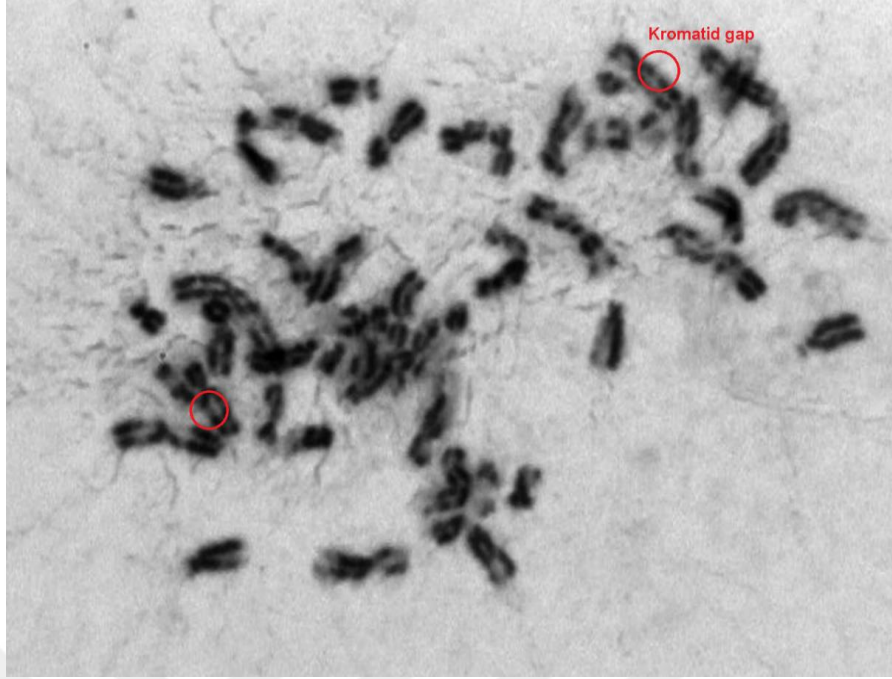
Regresyon denklemi $Y_{(\text{Toplam düzensizlik})} = 5,77 + 29,92 X_{(\text{Kullanılan miktar})} + e$ gibi bir regresyon denklemi bulduk. Her hasta için kullanım miktarı bir birim arttığında, kişide gözlenen toplam düzensizlik 29,92 birim artmaktadır.



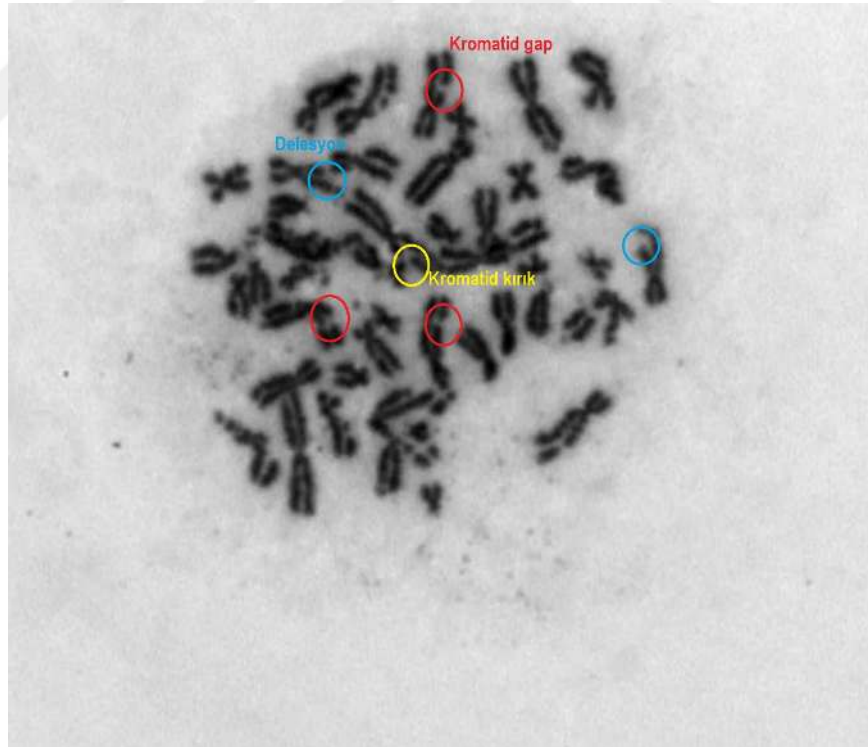
Resim 1. Normal Kadın Karyotipi



Resim 2. Kromatid Kırık ve Çoklu Kırık



Resim 3. Kromatid Gap, Çoklu Kırık



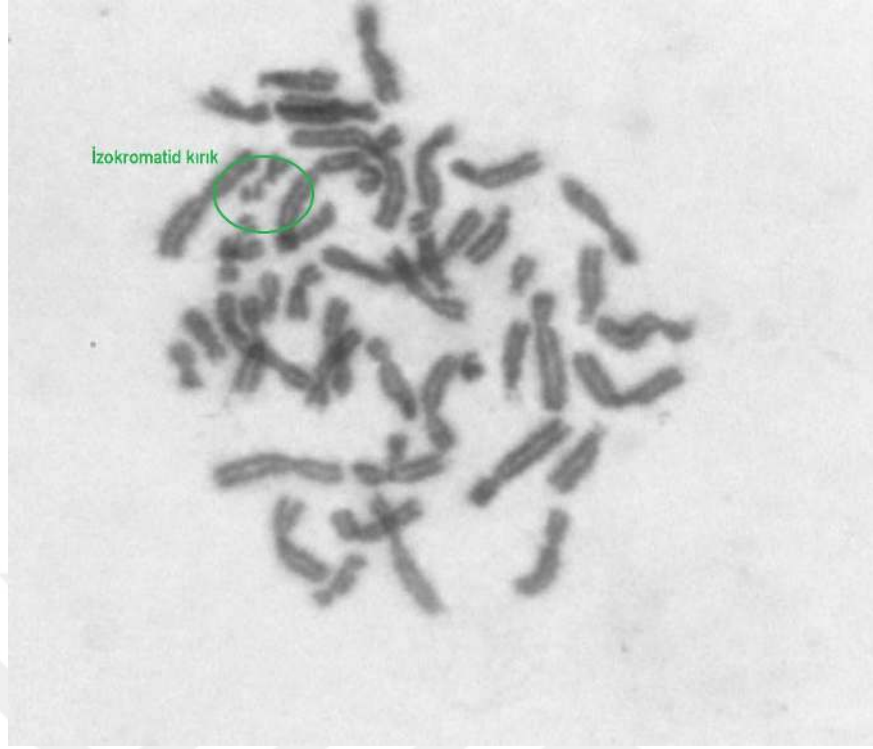
Resim 4. Delesyon, Kromatid Kırık, Kromatid Gap



Resim 5. İzokromozom



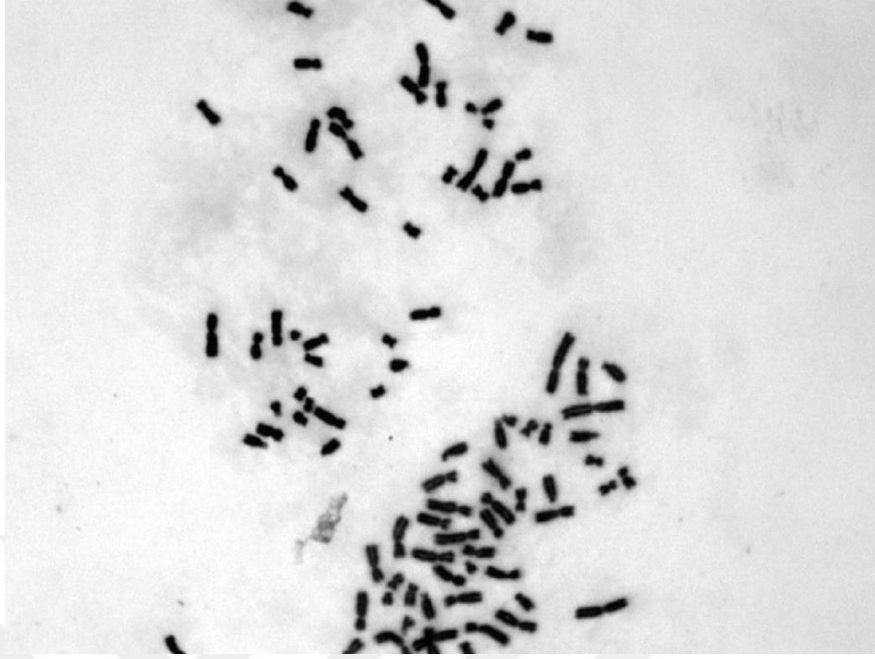
Resim 6. Sekonder Boğum



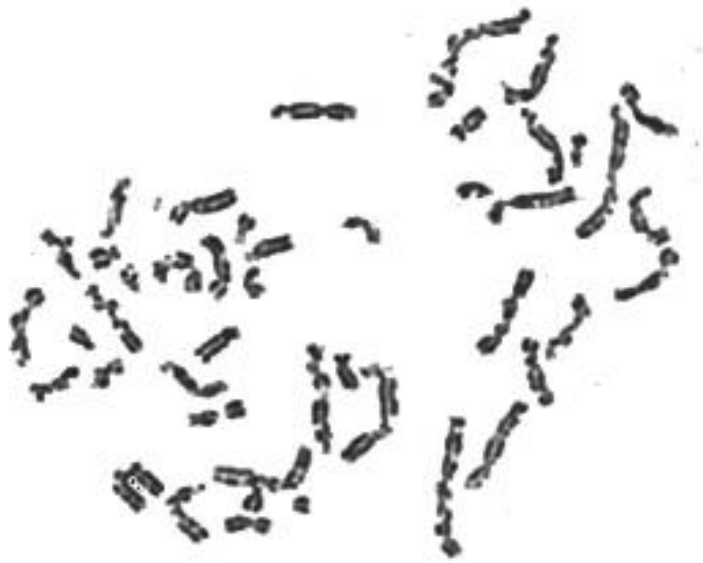
Resim 7. İzokromatid Kırık



Resim 8. Satellit Assosiasyonu



Resim 9. Poliploid Hücre



Resim 10. Çoklu Kırık Gösteren Hücre

6. TARTIŞMA

Bu çalışmada NaOCI'nin in vitro insan peripheral lenfositleri üzerindeki sitotoksik etkileri araştırılmıştır.

Yapısal ve sayısal düzensizlikler başlığı altında toplam 13 değişken incelenmiştir. Değişkenlerimiz metafaz sayısı, kromatid gap, izokromatid gap, kromatid kırık, izokromatid kırık, delesyon, duplikasyon, fragment, endomitoz, endereoduplikasyon, disentrik, assosiasyon ve diğer düzensizlikler'dir.

Bu çalışma yoğun olarak çamaşır suyu kullanan 104 birey ve çamaşır suyu kullanmayan 51 olmak üzere toplam 155 kişi ile yapılmıştır. Yoğun olarak çamaşır suyu kullanan kişiler arasından seçilen 15 kişinin çamaşır suyu kullanım ve 3 aylık bırakma dönemi olmak üzere iki kez ölçümleri yapılmıştır. Bu 15 kişi kadın doğum kliniğine rutin kontrol ve düşük ön tanısıyla gelen ve hekim tarafından kendilerine folik asit ve B12 vitamin takviyesi önerilen kişilerdir.

İncelediğimiz kişiler ortalama 30,009 yaşlarında bir grup olup; güven aralığı (CI = % 95) 28,8 ile 31,2 yaş aralığında değişen kadın bireylerden oluşmaktadır. Gruplar içerisinde medeni durumu göre incelendiğinde ortalama yaş arasında fark saptanmadı.($p<0,05$)

Deney ve kontrol grubunda her birey için 40 adet metafaz sayılmıştır. 155 birey için toplam 6800 (170x40) adet metafaz sayılarak gözlenen kromozom aberasyonları istatistiksel olarak analiz edilmiştir. NaOCI' nin sitotoksik etkileri literatür kuralları çerçevesinde değerlendirilerek sonuçlar kayıt altına alınmıştır.

2040 kontrol grubu olmak üzere incelenen toplam 6800 metafazda 56 adet tetraploid ($4n=92$) tipi sayısal düzensizlik içeren hücre belirlenmiştir. Bunların tümü deney grubu olup kontrol grubu ile karıştırıldığında istatistiksel olarak anlamlı fark bulunmuştur($p=0,001$). Disentrikler anafaz evresinde serbest halde oluşurlar ve kolay bir şekilde bir sonraki evreye geçebilirler. Ancak disentriklerin birbirlerine bağlı kalması durumunda apoptozdan elimine olurlar ya da anafaz ayrılması ve sitokinez olmamasından dolayı poliploid şekle dönüşürler. Çamaşır suyu kullanım döneminde

artan poliploidi hücre sayısı bırakma döneminde anlamlı derece azalmıştır. Matsuoka ve arkadaşları 1979 yılında Çin hamster hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada, fareleri PCB ile muamele edilmiş Wistar karaciğerlerinden S9 karışımı ile metabolik bir aktivasyon sistemi varlığında üç saat süreyle 0,5 µg / mL (6,7 µmol / L = yaklaşık 3,5 µmol / L aktif klor) ile muamele etmişlerdir. Kromozomal sapma artışı gözlemlenmiştir. Ishidate ve arkadaşları da 1984 yılında Çin fare hücreleri üzerinde yaptıkları çalışmada, hücre kültürünü üç farklı dozda kalsiyum hipoklorite 24 ve 48 saat maruz bırakmışlardır. 0,5 µg / ml (6,7 µmol / L = yaklaşık 3,5 µmol / L aktif klor) konsantrasyonuna maruz kalan bir kültürde 48 saat sonrasında kromozal sapmalarda pozitif artış görülmüştür. Yapılan bu çalışmalar klor / hipoklorit çözeltilerinin kromozom aberasyonlarına neden olması sebebiyle çalışmamıza benzemektedir (48).

Sonuçlar % olarak değerlendirildiğinde yapısal kromozom düzensizlikleri yüksek seviyede bulunmuştur. 156 deneğe ait incelenen 6800 metafazdan 943 tanesinde yapısal düzensizlik saptanmıştır. Deney grubunda yapısal düzensizlik oranı %13,86 iken, tekrarlı grupta % 5.83 kontrol grubunda ise %1,34' tür. Toplam yapısal düzensizlikler içerisinde en sık görülen yapısal düzensizlik tip %63,25 ile kromatid kırığıdır.

Sonuçlar değerlendirildiğinde NaOCl' nin yapısal düzensizler üzerinde artırıcı etkisi olduğu gözlemlenmiştir.(p=0,000) Gül ve arkadaşları yapmış oldukları çalışmada sodyum hipokloritin in vitro insan periferik lenfositleri üzerindeki sitotoksik ve genotoksik etkilerini incelemek için, sitokinez-blok mikronukleus testi ve karyotip analiz yöntemi kullanılmıştır. Yazarlar, tüm kontrol gruplarında doza bağımlı bir şekilde (r = 0.85), 24 ve 48 saat arayla NaOCl'in eklenmesinden sonra kromozom aberasyon sıklığında önemli artışların (r = 0.95) olduğunu raporlamışlardır. NaOCl'in, içme suyunda bulunandan yaklaşık 33 kat daha düşük konsantrasyonlarda in vitro olarak insan lenfosit hücrelerinde kromozomal aberasyon oranını, MN oluşumunu ve sitotoksikiteyi arttırdığına dair kanıtlar sunmuşlardır (30). Helling ve arkadaşları da sodyum hipoklorit ve sodyum dikloroizosiyanürat solüsyonlarının in vitro bakterisidal ve sitotoksik etkilerinin araştırdıkları çalışmada; farklı konsantrasyonlarda (% 0,1,% 0,08,% 0,06,% 0,04,% 0,02 ve% 0,01) damıtılmış su içinde seyreltmeler ile hazırlanan NaOCl'nin insan fibroblast doku kültüründe sitotoksik etkisini

değerlendirilmişlerdir. % 0,01'den yüksek konsantrasyonlarda NaOCl fibroblastlara öldürücü etkisi olduğu bulunmuştur. Düşük konsantrasyonda bile toksik etkisinin mevcut olduğu gösterilmiştir (12). Jagetia ve arkadaşları ise yapmış oldukları çalışmada NaOCl'nin, yüksek konsantrasyonda (% 2) sitotoksik etki gösterdiği ve düşük konsantrasyonda (% 1) ise KB hücrelerinde mikronükleitlerdeki artıştan dolayı genotoksik etki yarattığı gözlemlenmiştir. NaOCl' nin etki mekanizmasının, sırasıyla sabunlaştırma ve kloroaminasyon reaksiyonları ile teşvik edilen lipid yapılarının bozulmasına ve protein etkisizleşmesine dayandığı öne sürülmüştür. Kloroaminasyon reaksiyonunun, çekirdek bölünmesi de dahil olmak üzere farklı hücresel bölgelerde biyolojik stresi artıran bir alkali ortam yaratan hidroksil iyonları gibi serbest radikalleri ürettiği belirtilmiştir. NaOCl konsantrasyonuna bağlı hücre tepkilerindeki fark, daha yüksek NaOCl konsantrasyonu (% 2) ile işlem görmüş hücreler tarafından büyük serbest radikallerin oluşması ile ilişkilendirilmiştir (49).

Longo ve arkadaşları yapmış oldukları benzer bir çalışmada hücreleri, %1'lik ve % 2'lik NaOCl çözeltisi kullanılarak 2 ve 24 saat boyunca solüsyonlarla inkübe etmişlerdir. Hücre canlılığı, tripan mavisi kullanılmadan değerlendirilmiş ve hücre ölümü mekanizmasının (apoptotik veya nekrotik) sıklığı, akridin turuncu/etidyum bromür floresan boyama testiyle belirlemişlerdir. Genotoksisite etkileri, mikronükleus analizleri ile değerlendirmişlerdir. Düşük NaOCl konsantrasyonunun (% 1) başlangıçta (2 saat) tedavide hücre ölümüne neden olmadığı, ancak NaOCl (% 1) 'in kalan hücrelere sürekli olarak maruz kalması durumunda serbest radikal oluşumuna ve DNA hasarı oluşumuyla temsil edilen mikronükleus sıklığının artışına neden olduğunu gözlemlemişlerdir. Mikronükleus oluşumu ile gözlenen NaOCl (% 1) tarafından indüklenen kromozom aberasyonlarının, serbest radikal oluşumundaki artışla ilişkili olduğu ve serbest radikal oluşumlarının sitotoksisite etkisinin önemli bir bileşeni olduğu, daha yüksek NaOCl konsantrasyonu (% 2) işlem gören hücrelerin ise, birinci döngüde ciddi şekilde hasar gördüğü ve 24 saatte canlı hücre gözlemlenmediği belirtilmiştir (50). Yapılan bu çalışmalar sonucu çalışmamız ile uyumluluk göstermektedir.

Çamaşır suyu kullanan kadınların kullanım ve bırakma döneminde toplam yapısal düzensizlikleri istatistiksel olarak değerlendirilmiş olup, bırakma sonrası % 92,2 oranında azalma ile anlamlı fark bulunmuştur.(p=0,001). Denekler 3 aylık bırakma

döneminde hekim tarafından takviye amaçlı önerilen folik asit ve B12 vitamini kullanmışlardır. Bu bireylerin folik asit ve B12 değerleri normal seviyede olup bireyler arasında evli olanlar düşük yapan ve çocuk istemi ile kliniğe başvuran kişiler de bulunmaktadır. Deneklerin düşük durumuna göre ortalama toplam düzensizlik oranı test edildiğinde fark olduğu gözlenmiştir.($p=0,001$) Düşük sayısı arttıkça ortalama toplam düzensizlik sayısında anlamlı bir artış saptanmıştır. İnsan hücreleri ile yapılan in vitro ve in vivo çalışmalar, yeterli miktarda folat alımıyla beraber hücrelerde görülen kromozomların fragil bölgelerinin oluşumu, kromozom kopmaları, DNA'da aşırı urasil birikmesine mikronükleus oluşumu, DNA hipometilasyonu ve mitokondriyal DNA silinmelerinin düzeldiğini göstermektedir. İn vivo çalışmalar, folat ve / veya vitamin B12 eksikliği ve yüksek plazma homosisteininin (folat eksikliğinin metabolik bir göstergesi) artan mikronükleus oluşumu ve azalmış telomer uzunluğuna sebep olduğunu göstermektedir (35). Yapılan bu çalışmalar kromozomların aberasyonlarının azalması yönünden çalışmamızla uyumludur.

7. SONUÇ VE ÖNERİLER

İnsan doku kültüründe yapılan çalışmalar düşük konsantrasyonlarda (%1' lik) bile NaOCI' nin serbest radikaller oluşturarak kromozom aberasyonlarına neden olduğunu ve sitotoksik etki yarattığını göstermiştir.

Çalışmamızda deney grubunda çamaşır suyuna maruz kalınan süre günlük ortalama $39,56 \pm 18,54$ dakika olup, kullanılan çamaşır suyu miktarı ise haftalık ortalama 2,94 litre olarak hesaplanmıştır. Maruz kalınan süre ve kullanılan miktarın kromozom aberasyonları üzerindeki etkisi toplam (sayısal ve yapısal düzensizlikler) olarak değerlendirildiğinde anlamlı fark gözlenmiştir.($p=0,001$)

NaOCI' ye maruz kalan bireylerin yapısal ve sayısal düzensizlikleri incelendiğinde NaOCI' ye maruziyet ile beraber yapısal ve sayısal düzensizliklerin anlamlı derecede arttığı gözlemlenmiştir($p=0,000$). En sık görülen yapısal düzensizlik olan kromatid kırık sayısının da maruziyetle arttığı görülmüştür($p=0,000$).

Deneklerin düşük durumuna göre ortalama toplam düzensizlik oranı değerlendirildiğinde düşük sayısındaki artış ile ortalama toplam düzensizlik oranının anlamlı şekilde arttığı görülmüştür. Düşük ve adet düzensizliği ile kadın doğum kliniğine başvuran ve yoğun olarak NaOCI kullanan bireyler arasından hekim tarafından kendilerine folik asit ve B12 vitamin takviyesi önerilen hastalar 3 ay boyunca sodyum hipoklorit bırakmaya ikna edilmiştir. Bu bireylerin kullanma ve bırakma dönemlerinde kromozom aberasyonları incelenmiş ve düzensizlik gösteren hücre sayıları, yapısal ve sayısal düzensizliklerinin ve kromozom kırıklarının bırakma döneminde anlamlı bir şekilde azaldığı gözlemlenmiştir($p=0,001$). Erken gebelik kayıpları olan bir hastada 3 aylık bırakma döneminde halen devam eden gebelik oluşmuştur.

Çamaşır suyu toplumda dezenfektan etkisinden dolayı yaygın olarak kullanılmaktadır. Harrison ve arkadaşları NaOCI' nin antibakteriyel etkisinin zamana bağlı olduğunu ve antibakteriyel etkinin, sadece 15 dakika boyunca uygulanan % 8' lik NaOCI varlığında etkili olduğunu gözlemlemişlerdir. Kısa sürelerde, NaOCI' nin bakterisit etkisinin düşük olduğunu bulmuşlardır (51). Bu nedenle antibakteriyel

etkinin oluşabilmesi için bireylerin uzun süre sodyum hipoklorite maruz kalmaları gerekmektedir. Ancak klorlu bileşikler uzun süre ve sürekli kullanmanın ise kromozomlar üzerinde negatif etki ederek kromozom aberasyonlarını tetiklediğini düşünmekteyiz. Bu nedenle klorlu bileşiklerin toksisite denetimlerinin ve toksik etkilerinden dolayı risk sınıflandırılmasının yapılması ve güvenlik etiketlerinde risk kategorisi belirtilmesi gerekmektedir. Ayrıca kullanıcıların da doğru temizlik ürünlerini kullanmaları konusunda bilgilendirilmeleri ve iletişim araçları aracılığı ile eğitilmesinin gerekliliğine inanmaktayız.



8. KAYNAKLAR

1. Dychdala GR. Chlorine and chlorine compounds. In: Block SS (ed). Disinfection, Sterilization and Preservation. SS Block. 4th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1991, s: 131-151.
2. White, GC. Chlorine decay. J Water Pollut Control Fed. 1978; 50(5):8–14.
3. Chang R. Goldsby KA.Genel Kimya. Çeviren: İnam R. Aksoy S. 11. Basım, Palme Yayıncılık, Ankara; 2014, s: 989-990.
4. Murray PR, Rosental KS, Kobayashi GS, Pfaller MA. Medical Microbiology. 3rd ed. St. Louis: Mosby Inc, 1998, s: 74-78.
5. Bloomfield SF. Chlorine and iodine formulations. In: Ascenzi JM (ed). Handbook of Disinfections and Antiseptics. New York: Marcel Dekker Inc, 1996, s: 133-158.
6. McDonnell G, Russell AD. Antiseptics, and disinfectants: activity, action, and resistance. Clin Microbiology Review. 1998; 12:147-179.
7. Vissers MCM, Stern A, Kuypers F, Van Den Berg J, Winterbourn, CC. Membrane Changes Associated with Lysis of Red Blood Cells by Hypochlorous Acid. Free Radic. Biol. Med. 1994; 16:703–712.
8. Tatsumi T, Fliss H. Hypochlorous Acid and Chloramines Increase Endothelial Permeability: Possible Involvement of Cellular Zinc. Am. J. Physiol. 1994; 267:H1597–H1607.
9. Vile GF, Rothwell LA, Kettle AJ. Initiation of Rapid, P53-Dependent Growth Arrest in Cultured Human Skin Fibroblasts by Reactive Chlorine Species. Arch. Biochem. Biophys. 2000; 377:122–128.
10. Dukan S, Touati D. Hypochlorous Acid Stress in Escherichia Coli: Resistance, DNA Damage, and Comparison with Hydrogen Peroxide Stress. J. Bacteriol. 1996; 178:6145–6150.
11. Rutala WA, Weber DJ. Uses of Inorganic Hypochlorite (bleach) in Health-Care Facilities. Clin Microbiol Rev. 1997; 10(4):597–610
12. Heling I, Rotstein I, Dinur T, Szwec-Levine Y, Steinberg D. Bactericidal and Cytotoxic Effects of Sodium Hypochlorite and Sodium Dichloroisocyanurate Solutions In Vitro. Journal of Endodontics. 2001; 27(4):278-280

- 13.** Trepagnier CM, Madden RM, Lazzari EP. Quantitative Study of Sodium Hypochlorite as an In Vitro Endodontic Irrigant. *J Endod.* 1977; 3:194–196.
- 14.** Kaufman AY, Keila S. Hypersensitivity to Sodium Hypochlorite. *J Endod.* 1989; 15:224–226.
- 15.** Türkün M. Kalsiyum Hidroksit ve Sodyum Hipokloritin İrrigasyon Materyali Olarak İncelenmesi. Ege Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, 1994, İzmir (Prof. Dr. Turan CENGİZ).
- 16.** Spanó JCE, Barbin EL, Santos TC, Guimarães LF, Pécora JD. Solvent Action of Sodium Hypochlorite on Bovine Pulp and Physicochemical Properties of Resulting Liquid. *Braz Dent J.* 2001; 12:154–7.
- 17.** Kururvilla VR, Kamath MP. Antimicrobial Activity of 2.5 % Sodium Hypochlorite and 0.2 % Chlorhexidine Gluconate Separately and Combined as Endodontic Irrigants. *J Endod.* 1988; 24:472–474.
- 18.** Jeanson MJ, White RR. A Comparison of 2,0 % Chlorhexidine Gluconate and 5, 25% Sodium Hypochlorite as Antimicrobial Endodontic Irrigants. *J Endod.* 1994; 20:276–278.
- 19.** Meister FJr, Lommel TJ, Gerstein H. Diagnosis and Possible Causes of Vertical Root Fractures. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol.* 1980; 49:243–253
- 20.** Tanomaru FM, Leonardo MR, Silva LA, Anibal FF, Faccioli FH. Inflammatory Response to Different Endodontic Irrigating Solutions. *Int Endod J.* 2002; 35:735-739.
- 21.** Hagiwara M, Watanabe E, Barrett JC, Tsutui T. Assessment of Genotoxicity of 14 Chemical Agents Used in Dental Practice: Ability to Induce Chromosome Aberrations in Syrian Hamster Embryo Cells. *Mutas Res.* 2006; 603:111-120.
- 22.** ISO Standards 10993-1. Biological evaluation of medical devices. Part 1. Guidance on selection of tests. Geneva; ISO Standardization: 1993.
- 23.** Zavodnik IB, Lapshina EA, Zavodnik LB, Labieniec M, Bryszewska M, Reiter RJ. Hypochlorous Acid-Induced Oxidative Stress in Chinese Hamster B14 Cells: Viability, DNA and Protein Damage and the Protective Action of Melatonin. *Mutat Res.* 2004; 11:39-48.

- 24.** Buschini A, Carboni P, Furlini M, Poli P, Rossi C. Sodium Hypochlorite-Chlorine Dioxide- and Peracetic Acid-Induced Genotoxicity Detected by the Comet Assay and *Saccharomyces Cerevisiae* D7 Tests. *Mutagenesis*. 2004; 19:157-162.
- 25.** International Agency for Research on Cancer, IARC. Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans. 1997; Volume 52.
- 26.** Bernofsky C. Nucleotide chloramines and neutrophil-mediated cytotoxicity. *FASEB J*. 1991; 5:295–300.
- 27.** Weiss SJN. Tissue destruction by neutrophils - *New Engl. J. of Med*. 1989; 320:365-376.
- 28.** Lavelli V, Peri C, Rizzola A. Antioxidant Activity of Tomato Products as Studied by Model Reactions using Xanthine Oxidase Myeloperoxidase and Copper Induced Lipid Peroxidation. *J Agric. Food Chem*. 2000; 48(5): 1442-1448.
- 29.** Hawkins CL, Davies MJ. Hypochlorite-Induced Damage to DNA, RNA, and Polynucleotides: Formation of Chloramines and Nitrogen-Centered Radicals. *Chem. Res. Toxicol*. 2002; 15:83-92.
- 30.** Gül S, Savsar A, Tayfa Z. Cytotoxic and Genotoxic Effects of Sodium Hypochlorite on Human Peripheral Lymphocytes In Vitro. *Cytotechnology*. 2009; 59:113-1.
- 31.** Zavodnik IB, Lapshina EA, Zavodnik LB, Labieniec M, Bryszewska M, Reiter RJ. Hypochlorous Acid-Induced Oxidative Stress in Chinese Hamster B14 Cells: Viability, DNA and Protein Damage and the Protective Action of Melatonin. *Mutation Research*. 2004; 559:39-48.19
- 32.** Missotten GS, Keijser S, De Keizer RJW. Cytotoxic Effect of Sodium Hypochlorite 0.5 % (NaOCl) on Ocular Melanoma Cells In Vitro. *Orbit*. 2008; 27:31-35.
- 33.** Kasai H, Nishiumura S, Kurokawa Y, Hayashi Y. Oral administration of the renal carcinogen, potassium bromate, specifically produces 8-hydroxydeoxyguanosine in rat target organ DNA. *Carcinogenesis* (1987); 8(12):1959-1961.
- 34.** Meier JR, Bull RJ, Stober JA and Cimino MC. (Evaluation of Chemicals Used for Drinking Water Disinfection for Production of Chromosomal Damage and Sperm-Head Abnormalities in Mice. *Environ. Mutagen*. 1985; 7:201-211

35. Fenech M. The Role of Folic acid and Vitamin B12 in Genomics Stability of Human Cells. Mutation Research. 2001; 475:57-67.
36. Topaktaş M, Recüzoğulları E, Sitogenetik, 2. basım, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 2010, s: 9.
37. Dünder M, Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları I, 1. Basım, Mgrup Matbaacılık, Kayseri; 2016, s: 114.
38. Topaktaş M, Recüzoğulları E, Sitogenetik, 2. basım, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 2010, s: 14.
39. Güneş HV, Moleküler Hücre Biyolojisi, 3. basım, İstanbul Tıp Kitabevi, Eskişehir; 2013, s: 68.
40. Topaktaş M, Recüzoğulları E, Sitogenetik, 2. basım, Nobel Yayın Dağıtım, Ankara; 2010, s: 17-18.
41. Dünder M, Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları I, 1. Basım, Mgrup Matbaacılık, Kayseri; 2016, s: 116-122.
42. İsi H. Kronik Olarak Radyasyona (X-Işını) Maruz Kalmış Bireylerde Bleomycin'in Kromozomlar Üzerine Etkisi. Dicle Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi, 1994, Diyarbakır (Prof. Dr. Turgay BUDAK).
43. Dünder M, Tıbbi Genetik ve Klinik Uygulamaları I, 1. Basım, Mgrup Matbaacılık, Kayseri; 2016, s: 123.
44. Güven K, Biyokimyasal ve Moleküler Toksikoloji, 1. Basım, Dicle Üniversitesi Basımevi, Diyarbakır; 1999, s: 23-28.
45. Güven K, Biyokimyasal ve Moleküler Toksikoloji, 1. Basım, Dicle Üniversitesi Basımevi, Diyarbakır; 1999, s: 56.
46. Güven K, Biyokimyasal ve Moleküler Toksikoloji, 1. Basım, Dicle Üniversitesi Basımevi, Diyarbakır; 1999, s: 90-108.
47. Barslan G. Üreme Çağındaki Kadınların Serum Folik Asit Seviyelerinin Değerlendirilmesi. Sağlık Bakanlığı Ok Meydanı Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Uzmanlık Tezi, 2009, İstanbul (Opr. Dr. Ahmet KILIÇKAYA).
48. Matsuoka A, Hayashi M, Ishidate M. Chromosomal aberration tests on 29 chemicals combined with S9 mix *in vitro*. Mutat. Res. 1979; 66:277-290.

49. Jagetia GG, Venkateska VA, Reddy TK. Naringin a Citrus Flavonone, Protects Against Radiation-induced Chromosome Damage in Mouse Bone Marrow. *Mutagenesis*, 2003; 18(4):337-343.

50. Longo JPF, Valois CA, Tapajos ECC, Santos MFMA, Azevedo RB. Cytotoxicity and Genotoxicity of Endodontic Irrigants on Human Cells. *Rev. Clin. Pesq. Odontol.* 2010; 6(2): 135-140.

51. Harrison JW, Wagner GW, Henry CA. Comparison of the Antimicrobial Effectiveness of Regular and Fresh Scent Clorox. *J Endodon.* 1990; 16: 328-330.



9. ÖZGEÇMİŞ

Gülbahar Güzel ERDAL

TC Kimlik No: 31441414866

Adres : D.Ü. Tıp Fak. Tıbbi Biyoloji-Genetik Anabilim Dalı SUR/
DİYARBAKIR

Telefon : 05333510442

e-Posta : gulbaharguzel@yahoo.com

EĞİTİM BİLGİLERİ

ÜNİVERSİTE	FAKÜLTE/ ENSTİTÜ	BÖLÜM	DERECE	YIL	TEZ DANIŞMANI
Ege Üniversitesi	Mühendislik	Biyomühendislik	Lisans	2002-2007	Prof.Dr.Meltem Conk Dalay
Anadolu Üniversitesi	İşletme	Sağlık Kurumları İşletmeciliği	Ön Lisans	2005-2007	
Anadolu Üniversitesi	İktisat	Çalışma Ekonomisi ve Endüstri İlişkileri	Lisans	2012-2014	
Dicle Üniversitesi	Sağlık Bilimleri Enstitüsü	Tıbbi Biyoloji ve Genetik	Yüksek Lisans	2017-2019	Prof. Dr.Mahmut BALKAN

ESERLER:

1. Gülbahar Güzel, Meltem Conk Dalay, Mikroalglerden Elde Edilen Biyoaktif Kimyasallar (Lisans Bitirme Tezi), 2007
2. Remziye Güzel, Gülbahar Erdal, Silver Nanoparticles-Fabrication Characterization and Applications Book, Chapter 1:Synthesis of Silver Nanoparticles ,2018 page 1-20

Görevler:

Penta Elektronik Medikal Sistemleri A.Ş (Ürün Eğitim ve Kurulum Mühendisi 2007-Halen)

10. ETİK KURUL RAPORU

DICLE UNIVERSİTESİ TIP FAKULTESİ GİRİBİMSSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU DICLE UNIVERSITY MEDICAL FACULTY ETHICS COMMITTEE FOR NONINTERVENTIONAL STUDIES

KARAR

Dog. Dr. Hilmi İSİ, Gülbahar GUZEL ERDAL isimli araştırmacılar tarafından planlanan “Sodyum hipoklorit etkisine maruz kalan üreme çağındaki kadınların periferik kan lenfosit kültüründe kromozom aberasyonlarının araştırılması” başlıklı araştırınaya *Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Etik Kurul’u* tarafından toplantıda hazır bulunan üyeler tarafından oy birliği ile onay verilmiştir.

Klinik araştırma tamamlanıp yayın aşamasına geldiğinde, yayına sunulan bildiri veya makalenin bir örneğinin Etik Kurul’a verilmesi zorunludur.

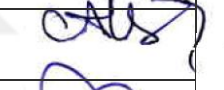
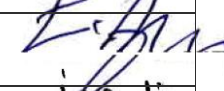
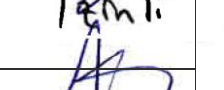
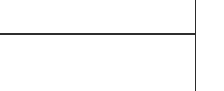
DECISION

The project titled as “Research of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocyte culture of women with reproductive health exposure to sodium hypochlorite” planned by Hilmi İSİ, Gülbahar GUZEL ERDAL has been approved by Ethics Committee of Dicle University Faculty of Medicine.

Oturum No (Meeting number) : Tarih (Date): 22.11.2018 Saat (Hour): 14:00-15:00

KURUL BAŞKANI (CHIEF) Prof. Dr. Hüseyin BUYUKBAYRAM

KURUL ÜYELERİ / MEMBERS

UNVANI	ADI-SOYADI	KUREM [	BRANŞI	İMZA
1 Prof. Dr.	Hüseyin BUYUKBAYRAM	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Patoloji	
2 Prof. Dr.	Levent ERDİNÇ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyokimya	
3 Prof. Dr.	Aziz KARABULUT	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Kardiyoloji	
4 Prof. Dr.	Cihan AKGÜL CİZMEN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Radyoloji	
5 Prof. Dr.	Haktan KARAMAN	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Anesteziyoloji ve Reanimasyon	
6 Dog. Dr.	İlker KELLE	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Farmakoloji	
7 Dog. Dr.	Ziilfiikar YILMAZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	İç Hastalıkları	
8 Dog. Dr.	M. Veysi BAHADIR	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Genel Cerrahi	
9 Dot. Dr.	Ezeli AZARKAN	Dicle Üniversitesi Hukuk Fakültesi	Öğretim Üyesi	
10 Dr. Öğretim Üyesi	İsmail YILDIZ	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Biyoistatistik	
11 Dr. Öğretim Üyesi	Diclehan ORAL	Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi	Tıbbi Biyoloji	

Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Dekanlık Binası Zemin Kat 21280 Kampüsü/DIYARBAKIR
Telefon:+90.412.248 8001-16/4631 Faks:+90.412.248 84 40 kuruletikdiyar@email.com

11. İNTİHAL

sodyum hipoklorite maruz kalan üreme çağındaki kadınların kromozom aberasyonlarının araştırılması

ORIJINALLIK RAPORU

% 12	% 9	% 1	% 5
BENZERLİK ENDEKSİ	İNTERNET KAYNAKLARI	YAYINLAR	ÖĞRENCİ ÖDEVLERİ

BİRİNCİL KAYNAKLAR

1	Submitted to Canakkale Onsekiz Mart University Öğrenci Ödevi	% 2
2	istanbulsaglik.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
3	anasahife.org İnternet Kaynağı	% 1
4	earsiv.odu.edu.tr:8080 İnternet Kaynağı	% 1
5	www.das.org.tr İnternet Kaynağı	% 1
6	www.powershow.com İnternet Kaynağı	% 1
7	dergipark.ulakbim.gov.tr İnternet Kaynağı	% 1
8	ERCAN, Ertuğrul and ATAKUL, Fatma. "%5'lik sodyum hipoklorit ve %2'lik klorheksidin glukonatın kök kanal irrigasyonu olarak in vivo	% 1

değerlendirilmesi", Ondokuz Mayıs Üniversitesi,
2006.

Yayın

9

www.19mayishastanesi.com

İnternet Kaynağı

<% 1

10

www.aofbilgi.net

İnternet Kaynağı

<% 1

11

m.supplementler.com

İnternet Kaynağı

<% 1

12

[Submitted to Eskisehir Osmangazi University](#)

Öğrenci Ödevi

<% 1

13

İSİ, Hilmi, TÜRKYILMAZ, Ayşegül Bengisu and
BUDAK, Turgay. "Kronik olarak radyasyona (X
Işını) maruz kalmış bireylerde Bleomycin'nin
kromozomlar üzerine etkisi", Dicle Üniversitesi,
2004.

Yayın

<% 1

14

www.trendkadin.net

İnternet Kaynağı

<% 1

15

www.researchgate.net

İnternet Kaynağı

<% 1

16

ORAL, Diclehan, Öktüren and İSİ, Hilmi. "Sigara
tiryakilerinde bleomycin'in kromozomal
düzensizliklere etkisi", Dicle Üniversitesi, 2004.

Yayın

<% 1

17	Submitted to Sheffield Hallam University Öğrenci Ödevi	<%1
18	AKBAŞ, Halit, ALP, M. Nail, KALKANLI, Sevgi and BUDAK, Turgay. "Üreme problemi olan hastalarda sitogenetik araştırmalar", TUBITAK, 2004. Yayın	<%1
19	Aslı YİĞİT, Fatma Esra GÜNEŞ. "Epigenetics and One Carbon Metabolism: The Role of Folate and Vitamin B12", Türkiye Klinikleri Journal of Internal Medicine, 2018 Yayın	<%1
20	openaccess.artvin.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
21	Submitted to Nigde University Öğrenci Ödevi	<%1
22	Submitted to Nevşehir Üniversitesi Öğrenci Ödevi	<%1
23	www.saglikveilac.com İnternet Kaynağı	<%1
24	Submitted to Anadolu University Öğrenci Ödevi	<%1
25	www.divanhaliyikama.com İnternet Kaynağı	<%1

26	Submitted to TechKnowledge Turkey Öğrenci Ödevi	<%1
27	parmakizleriniz.blogspot.com İnternet Kaynağı	<%1
28	tr.wikipedia.org İnternet Kaynağı	<%1
29	Submitted to Queen's University of Belfast Öğrenci Ödevi	<%1
30	Submitted to Kahramanmaraş Sütçü İmam University Öğrenci Ödevi	<%1
31	issuu.com İnternet Kaynağı	<%1
32	burkonturizm.com İnternet Kaynağı	<%1
33	www.klor.gen.tr İnternet Kaynağı	<%1
34	kutuphane.nku.edu.tr İnternet Kaynağı	<%1
35	paperzz.com İnternet Kaynağı	<%1
36	www.mehmetbas.com İnternet Kaynağı	<%1

37	dergipark.gov.tr İnternet Kaynağı	<%1
----	--	-----

38	tbgder.org İnternet Kaynağı	<%1
----	--	-----

39	adusaglikbilimlerikongresi.com İnternet Kaynağı	<%1
----	--	-----

38	tbgder.org İnternet Kaynağı	<%1
----	--	-----

39	adusaglikbilimlerikongresi.com İnternet Kaynağı	<%1
----	--	-----

40	www.turkailehekderg.org İnternet Kaynağı	<%1
----	--	-----

41	Submitted to TechKnowledge Öğrenci Ödevi	<%1
----	---	-----

42	Submitted to Karadeniz Teknik University Öğrenci Ödevi	<%1
----	---	-----

12. Gönüllülerin Bilgilendirme ve Olur (Rıza) Formu

Kadınlarda Lenfosit Kültüründe Sodyum Hipokloritin Sitotoksik ve Genotoksik Etkileri

Bugün sizden sodyum hipokloridin sitotoksik ve genotoksik etkilerini göstermek amacıyla yürütülecek çalışmaya katılmanız için kan örneği vermeniz istenmektedir.

Bugüne kadar yapılan çalışmalarla Sodyum hipoklorit biyolojik etkileri ile ilgili veriler kısmen çelişkili olduğundan, bu bileşiğin toksik / genotoksik gücünü açıklığa kavuşturmak için daha fazla çalışma yapılmalıdır. Sodyum hipokloritin sitotoksik /genotoksik etkilerini bulmaya yönelik bilimsel çalışmalara katkıda bulunmak amacıyla vereceğiniz kan örneği ve bu örnekten elde edilecek DNA ve diğer biyolojik ürünler (serum) Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarlarında saklanacak ve incelenecektir. Ayrıca, gerekli etik kurul izinleri alınmak koşuluyla, bu örnekler bu konuda çalışma yapmak isteyen başka bilim adamlarının kullanımına sunulabilir. Size ait kişisel bilgiler başka amaçlarla kullanılmayacaktır.

Sizden alınmış olan kan örneği, araştırma amacıyla başka bir laboratuara yollanırsa, örneğin sizden alındığını gösterir herhangi bir kişisel bilgi içermeyecektir. Yapılacak bilimsel çalışmaların kısa vadedeki sonuçlarından kişisel olarak sizin yararlanmanız söz konusu olmayabilir. Bununla beraber, vereceğiniz kan örnekleri sayesinde, bu hastalığın tam olarak anlaşılmasını, yeni tedavi ve tanı yöntemlerinin geliştirilmesini sağlayacak çalışmaların yapılabilmesi mümkün olacağını ummaktayız. Çalışmanın ileride başka ailelere yarar sağlayacağını ummaktayız.

Bağışlayacağınız kan örneğiyle, çalışmaların sonuçlarından herhangi bir ticari kazanç beklememeyi de taahhüt ediyorsunuz. Bu çalışmaya katılmak için herhangi bir ücret ödemeniz de gerekmemektedir.

Bu çalışmayı yapabilmek için kolunuzdan 10 ml (1 tüp) kadar kan almamız gerekmektedir. Bu kandan genetik materyal olan DNA elde edilecektir. Kol

damarınızdan kan alınması sırasında iğne batmasına bağı olarak biraz acı duyabilirsiniz. Az bir ihtimal de olsa, iğne batması sonrasında kanamanın uzaması, iğne batan yerde geçici bir morluk gelişmesi ya da çok daha nadir olarak enfeksiyon riski bulunmaktadır.

Kan vermeden önce her zaman almakta olduğunuz ilaçları kesmeniz gerekmemektedir. Kan örneği verip vermemek konusunda özgürsünüz. Yürümekte olan çalışmaların sonuçları hakkında Doç.Dr Hilmi İsi'den bilgi alabilir ve herhangi bir soru veya sorun olduğu takdirde bu doktorunuza kurumun telefon numarasından ulaşabilirsiniz.

Doç.Dr Hilmi İsi ve Sorumlu Araştırmacı Yüksek Lisans öğrencisi Gülbahar Güzel Erdal tarafından Dicle Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Bölümü laboratuvarlarında ortak olarak yürütülecek bu genetik araştırma ile ilgili yukarıdaki bilgiler bana aktarıldı. Bu bilgilerden sonra böyle bir araştırmaya “katılımcı” olarak davet edildim

Eğer bu araştırmaya katılırsam hekim ve genetikçi ile aramda kalması gereken bana ait bilgilerin gizliliğine bu araştırma sırasında büyük özen ve saygı ile yaklaşılacağına inanıyorum. Araştırma sonuçlarının eğitim ve bilimsel amaçlarla kullanımı sırasında kişisel bilgilerimin ihtimamla korunacağı konusunda bana yeterli güven verildi.

Projenin yürütülmesi sırasında herhangi bir sebep göstermeden araştırmadan çekilebilirim. (Ancak araştırmacıları zor durumda bırakmamak için araştırmadan çekileceğimi önceden bildirmemim uygun olacağının bilincindeyim). Bu durumda genetik malzememle ilgili çalışma araştırmancının en yakın aşaması tamamlandığında sonlandırılacaktır.

Araştırma için yapılacak harcamalarla ilgili herhangi bir parasal sorumluluk altına girmiyorum. Bana bir ödeme de yapılmayacaktır.

Kan alımı sırasında meydana gelebilecek herhangi bir sağlık sorununun ortaya çıkması halinde, her türlü tıbbi müdahalenin sağlanacağı konusunda gerekli güvence verildi. (Bu tıbbi müdahalelerle ilgili olarak da parasal bir yük altına girmeyeceğim).

Bu araştırmaya katılmak zorunda değilim ve katılmayabilirim. Araştırmaya katılmam konusunda zorlayıcı bir davranışla karşılaşmış değilim. Bana yapılan tüm

açıklamaları ayrıntılarıyla anlamış bulunmaktayım. Kendi başıma belli bir düşünme süresi sonunda adı geçen bu araştırma projesinde “katılımcı” olarak yer alma kararını aldım. Bu konuda yapılan daveti büyük bir memnuniyet ve gönüllülük içerisinde kabul ediyorum.

GÖNÜLLÜ OLUR FORMU

Yukarıda gönüllüye araştırmadan önce verilmesi gereken bilgileri gösteren metni okudum. Bunlar hakkında bana yazılı ve sözlü açıklamalar yapıldı. Bu koşullarla söz konusu araştırmaya genetik/biyolojik incelemeler yapılmak üzere kendi rızamla hiçbir baskı ve zorlama olmaksızın katılmayı ve kan örneği vermeyi kabul ediyorum.

Gönüllünün
Adı-Soyadı:

İmzası:

Vesayet altında bulunanlar için vasisinin:
Adı-Soyadı:

İmzası:

Açıklamaları yapan/örneği alan araştırmacının:
Adı-Soyadı:

İmzası:

Rıza alma işlemine başından sonuna kadar tanıklık eden kuruluş görevlisinin
Adı-Soyadı:

İmzası:

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