

**T.C.  
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞAHTERE (*Fumaria officinalis*) BİTKİSİNİN  
ANTIOKSİDAN ETKİSİNİN ALLIUM TESTİ (IN VIVO)  
İLE ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Hilal BAŞTUĞ**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2021  
NEVŞEHİR**



**T.C.  
NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ŞAHTERE (*Fumaria officinalis*) BİTKİSİNİN  
ANTIOKSİDAN ETKİSİNİN ALLIUM TESTİ (IN VIVO)  
İLE ARAŞTIRILMASI**

**Tezi Hazırlayan  
Hilal BAŞTUĞ**

**Tez Danışmanı  
Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK**

**Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı  
Yüksek Lisans Tezi**

**Eylül 2021  
NEVŞEHİR**

Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK danışmanlığında **Hilal BAŞTUĞ** tarafından hazırlanan “**ŞAHTERE (*Fumaria officinalis*) BİTKİSİNİN ANTIOKSİDAN ETKİSİNİN ALLİUM TESTİ (IN VIVO) İLE ARAŞTIRILMASI**” başlıklı bu çalışma, jürimiz tarafından Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalında **Yüksek Lisans Tezi** olarak kabul edilmiştir.

.../.../2021

### JÜRİ

Başkan :Dr. Öğretim Üyesi Özhan ŞENOL .....

Üye :Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK .....

Üye :Dr. Öğretim Üyesi Naşit İGCI .....

### ONAY:

Bu tezin kabulü Enstitü Yönetim Kurulu'nun.....tarih ve.....sayılı kararı ile onaylanmıştır.

../.../2021

Prof. Dr. Şahlan ÖZTÜRK  
Enstitü Müdürü V.

## TEZ BİLDİRİM SAYFASI

Tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada yer alan bütün bilgilerin bilimsel ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu ve bana ait olmayan her türlü ifade ve bilginin kaynağına eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.



Hilal BAŞTUĞ

## TEŞEKKÜR

Eğitim-öğretim hayatım boyunca daima her konuda destekçim ve her zaman yanımda olan aileme, yüksek lisans öğrenimim süresince yardımını esirgemeyen, tez çalışmamın her aşamasında beni yönlendiren danışman hocam Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK'a, desteklerinden ve bana kattığı birçok şey için değerli hocam Doç. Dr. Zübeyde KUMBIÇAK'a, yüksek lisans serüvenim de geçmiş tecrübelerinden sürekli yararlandığım ve laboratuvar çalışmalarındaki desteklerinden ötürü Hatice POYRAZ'a, Şeyma CİVAN'a, ekstraksiyon ve evaporasyon işlemlerindeki yardımlarından dolayı Prof. Dr. Nesimi AKTAŞ ve Dr. Öğr. Üyesi Kemal ŞEN hocalarıma, son olarak ise her konuda daima destekçim olan eşime teşekkürlerimi sunarım.

**ŞAHTERE (*Fumaria officinalis*) BİTKİSİNİN ANTIOKSİDAN ETKİSİNİN  
ALLIUM TESTİ (IN VIVO) İLE ARAŞTIRILMASI  
(Yüksek Lisans Tezi)**

**Hilal BAŞTUĞ**

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**Eylül 2021**

**ÖZET**

Antioksidanlar, serbest radikallerin olumsuz etkilerini etkisiz hale getirmektedir ya da direkt olarak serbest radikal oluşumunu engellemektedir. Bu nedenle antioksidan içeriği yüksek besinlere artan ilgiyle birlikte bu yöndeki araştırma sayısı da gittikçe çoğalmaktadır. Ülkemizde şahtere olarak adlandırılan *Fumaria officinalis*, yabani ot şeklinde bulunan, eğrelti otuna benzeyen, tek yıllık bir bitkidir. Bu çalışmada şahtere bitkisinin antioksidan etkisinin araştırılması amaçlanmıştır. Metot bölümü üç temel aşamada gerçekleştirilmiştir. İlk aşamada bitkinin metanol ekstraktının elde edilmesi, *Allium cepa* yumrularının sterilizasyonu sağlanarak çimlendirilmesi, ekstraktın EC50 değerinin belirlenmesi şeklinde gerçekleştirilmiştir. İkinci aşamada ise 48 saat süresince çimlendirilen soğan yumruları iki gruba ayrılmıştır. Birinci grup 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e bir saat süresince maruz bırakılmasının ardından, diğer grup ise H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e maruz bırakılmaksızın *Fumaria officinalis*'in belirlenen 125µg/mL (½\*EC50), 250µg/mL (EC50) ve 500µg/mL (2\*EC50) konsantrasyonlarına aktarılarak 24 saat süresince inkübasyona bırakılmıştır. Çalışmada negatif kontrol olarak dH<sub>2</sub>O, pozitif kontrol olarak ise 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi kullanılmıştır. Son aşamada ise soğan kök uçlarından kromozom preparatları hazırlanarak, mitotik indeks, hücre bölünme evrelerinin frekansları, bozulmuş anafaz-telofaz, anafaz köprüsü, düzensiz metafaz, c-mitoz, mikronükleus, yapışkanlık ve kromozom aberasyonları değerlendirilmiştir. Hidrojen peroksit muamelesi sonrasında artan dozlarda *Fumaria officinalis* ekstraktına maruz bırakılan gruplarda hidrojen peroksit tarafından meydana getirilen genetik hasarın azaldığı ve mitotik indeksin arttığı saptanmıştır.

**Anahtar kelimeler** : *Allium testi*, *Genotoksisite*, *Fumaria officinalis*, *mitotik indeks*,  
*kromozom aberasyonu*

**Tez Danışman** : Doç. Dr. Ümit KUMBIÇAK

**Sayfa Adeti** : 55





**INVESTIGATION OF THE ANTIOXIDANT EFFECT OF *Fumaria officinalis* BY ALLIUM (IN VIVO) ASSAY**  
**(M. Sc. Thesis)**

**Hilal BAŞTUĞ**

**NEVŞEHİR HACI BEKTAŞ VELİ UNIVERSITY**  
**GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES**

**September 2021**

**ABSTRACT**

Antioxidants neutralize the negative effects of free radicals or directly prevent free radical formation. For this reason, with the increasing interest in foods with high antioxidant content, the number of studies in this way is increasing. *Fumaria officinalis*, is an annual plant that is found in the form of a weed, resembling a fern. In this study, it was aimed to investigate the antioxidant effect of *Fumaria officinalis*. The method part was carried out in three main stages. The first step of the method section was carried out in the form of obtaining the methanol extract of the plant, germinating *Allium cepa* tubers by sterilizing them, and determining the EC50 value of the extract. In the second step, tubers germinated for 48 hours were divided into two groups. After the first group was exposed to 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> for one hour and the other group was not exposed to H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, the determined 125µg/mL (½\*EC50), 250µg/mL (EC50) and 500µg/mL (2\*EC50) concentrations were transferred to incubation for 24 hours. In the study, dH<sub>2</sub>O was used as negative control and 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> solution was used as positive control. At the last step, chromosome slides were prepared from onion root tips and mitotic index, frequencies of cell division stages, impaired anaphase-telophase, anaphase bridge, irregular metaphase, c-mitosis, micronucleus, stickiness and chromosome aberrations were evaluated. It was determined that genetic damage caused by hydrogen peroxide decreased and mitotic index increased in groups exposed to increasing doses of *Fumaria officinalis* extract after hydrogen peroxide treatment.

**Keywords** :*Allium* assay, Genotoxicity, *Fumaria officinalis*, mitotic index, chromosome aberations

**Thesis Supervisor** :Assoc. Prof. Dr. Ümit KUMBIÇAK

**Page Number** :55



## İÇİNDEKİLER

KABUL VE ONAY SAYFASI .....	i
TEZ BİLDİRİM SAYFASI .....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
ÖZET.....	iv
ABSTRACT .....	vi
İÇİNDEKİLER .....	viii
TABLolar LİSTESİ.....	x
ŞEKİLLER LİSTESİ .....	xi
RESİMLER LİSTESİ .....	xii
SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ .....	xiv
1.BÖLÜM .....	1
GİRİŞ .....	1
2. BÖLÜM .....	3
GENEL BİLGİLER .....	3
2.1. Serbest Radikaller .....	3
2.1.1. Serbest radikal çeşitleri .....	3
2.1.2. Serbest radikal bileşiklerin kaynakları .....	5
2.1.3. Serbest radikallerin metabolizmaya etkileri.....	5
2.2. Antioksidan Maddeler.....	6
2.3. Toksikoloji ve Doz Kavramı.....	8
2.4. Genotoksikoloji .....	9
2.4.1. Serbest radikallerin neden olduğu genotoksik hasarlar sonucu mikronukleus (MN) oluşumu.....	10
2.5. Genotoksik Etkinin Belirlenmesinde Allium Testi .....	11

2.6. <i>Fumaria officinalis</i> L. ....	13
2.7. Literatür Özetleri.....	14
3. BÖLÜM.....	17
MATERYAL ve METOT.....	17
3.1.Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar .....	17
3.2. Metot .....	18
3.2.1. <i>Fumaria officinalis</i> ekstraktının hazırlanması.....	18
3.2.2. <i>Allium cepa</i> yumrularının çimlendirilmesi.....	21
3.2.3. <i>Fumaria officinalis</i> ekstraktı EC50 belirleme işlemi.....	22
3.2.4. 30mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> ile muamele sonrasında konsantrasyonlarda <i>F. officinalis</i> ekstraktında çimlendirme aşaması.....	23
3.3. Presparasyon Aşaması .....	24
3.4. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz.....	27
4. BÖLÜM.....	29
BULGULAR.....	29
4.1. <i>Fumaria officinalis</i> ekstraktının <i>Allium cepa</i> kök hücrelerindeki EC50 değerini belirleme sonuçları.....	29
4.2. Mitotik indeks ve mitotik faz frekansları.....	30
5. BÖLÜM.....	43
TARTIŞMA VE SONUÇ .....	43
KAYNAKLAR .....	46
ÖZGEÇMİŞ .....	53

## TABLULAR LİSTESİ

Tablo 2.1. <i>Fumaria officinalis</i> (şahtere) bitikisine ait sistematik bilgiler.....	14
Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım alanları.....	17
Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kullanım amaçları.....	18
Tablo 3.3. <i>Fumaria officinalis</i> ekstraktı EC50 belirleme işlemi doz grupları.....	23
Tablo 3.4. 30mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> 'e maruz bırakılan grup ile maruz bırakılmayan grupların muamele edildiği <i>Fumaria officinale</i> ekstraktı dozları.....	24
Tablo 4.1. <i>Fumaria officinalis</i> ekstraktının <i>Allium cepa</i> kök hücrelerindeki EC50 değerini belirleme verileri (SS: Standart Sapma).....	29
Tablo 4.2. Farklı konsantrasyonlarda <i>Fumaria officinalis</i> ekstratlarının <i>Allium cepa</i> kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekanslarına etkileri (Seri 1: Sadece <i>Fumaria officinalis</i> ekstratları ile muamele edilen grup, Seri 2: 30mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> çözeltisine maruziyetten sonra <i>Fumaria officinalis</i> ekstratları ile muamele edilen grup).....	31
Tablo 4.3. <i>Fumaria officinalis</i> ekstratının farklı konsantrasyonlarının genotoksik ve antioksidan etkileri.....	34

## ŞEKİLLER LİSTESİ

Şekil 2.1. <i>A. cepa</i> 'ya ait karyotip.....	12
Şekil 2.2. <i>Fumaria officinalis</i> (şahtere) bitikisinin genel görüntüsü.....	13
Şekil 4.1. <i>Fumaria officinalis</i> ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarının gelişimlerinin karşılaştırılması (p<0,05*, p<0,01**, ***Büyüme kontrol ile karşılaştırılmıştır).....	30
Şekil 4.2. <i>Fumaria officinalis</i> ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarında mitotik indeks (p<0,05*, p<0,01**, ***Büyüme kontrol ile karşılaştırılmıştır).....	32
Şekil 4.3. 30mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> maruziyeti sonrası <i>Fumaria officinalis</i> ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarında mitotik indeks (p<0,05*, p<0,01**, ***Pozitif kontrol ile karşılaştırılmıştır).....	33
Şekil 4.4. 30mM H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> maruziyeti sonrası <i>Fumaria officinalis</i> ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarında toplam hasar oranı (p<0,05*, p<0,01**, ***Pozitif kontrol ile karşılaştırılmıştır).....	35

## RESİMLER LİSTESİ

Resim 2.1. Mikronukleuslu hücre.....	10
Resim 3.1. Çalışmada kullanılan <i>F. officinalis</i> bitkisinin tartımı .....	19
Resim 3.2. Bitki özütü eldesi için kullanılan Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı.....	19
Resim 3.3. Bitki özütünden metanolü uzaklaştıran evaporasyon işlemi.....	20
Resim 3.4. Elde edilen şahtere özütü.....	20
Resim 3.5. Çimlenmeye bırakılan soğanlar.....	21
Resim 3.6. 24 saat sonunda gözlenen kök ucu uzamaları.....	21
Resim 3.7. Dozlama yapılan deney düzeneği.....	22
Resim 3.8. Soğan kök uçları kesitlerinin %70'lik alkol içerisindeki görüntüsü.....	25
Resim 3.9. Preparat yapımı aşamasında kullanılan şale ve petripler.....	25
Resim 3.10. Boyanan soğan kök uçları.....	26
Resim 3.11. İncelenmek üzere +4°C'ye kaldırılan preparatlar.....	28
Resim 4.1. A: Normal metafaz, B-C: Normal telofaz, D: Anafaz'da ileri gitme, (Normal-BK preparatlarına ait görüntüler).....	35
Resim 4.2. A: Anafaz'da kutup kayması, B: Anafaz'da köprü oluşumu ve multipolarite, C: Normal profaz (Normal-BK preparatlarına ait görüntüler).....	36
Resim 4.3. A: Normal profaz, B-C: Anafaz'da ileri gitme, D: Anafaz'da köprü oluşumu, E: Normal telofaz; F: Normal metafaz (Normal-0,125 dozuna ait preparat görüntüleri).....	36
Resim 4.4. A: Kromozom kırığı, B-H: Normal profaz, C-G: Normal anafaz, D: Yapışıklık, E-F: Binükleat ( Normal-0,250 dozuna ait preparat görüntüleri).....	37
Resim 4.5. A-E-F: Normal metafaz, B: Profaz, C: Anafaz'da ileri ve geri gitme, multipolarite ve köprü oluşumu D: Normal anafaz (Normal- 0,500 dozuna ait preparat görüntüleri).....	38

Resim 4.6. A: Metafaz, B: Profaz, C: Anafaz, D-E: Telofaz (Mix-BK dozuna ait preparat görüntüleri ).....	39
Resim 4.7. A-F-H: Yapışıklık, B: Genetik materyal kaybı, C: Anafaz'da köprü oluşumu, D: Telofaz, E-G: Binükleat ( Mix-0,125 dozuna ait preparat görüntüleri ).....	40
Resim 4.8. A: Anafaz'da kutup kayması ve ileri gitme, B: C-metafaz, C: Profaz, D: Yapışıklık, E: Normal telofaz, F: Yapısı bozulmuş anafaz, G: Binükleat (Mix-0,250 dozuna ait preparat görüntüleri).....	41
Resim 4.9. A-C-D-E: Yapışıklık, B-F: Profaz, H: Yapısı bozulmuş anafaz ve yapışıklık, G: Binükleat (Mix-0,500 dozuna ait preparat görüntüleri).....	42



## SİMGELER VE KISALTMALAR LİSTESİ

<b><math>\mu\text{m}</math></b>	: Mikrometre
<b><math>\mu\text{g}</math></b>	: Mikrogram
<b><math>\mu\text{L}</math></b>	: Mikrolitre
<b><math>\mu\text{M}</math></b>	: Mikromolar
<b>mm</b>	: Milimetre
<b>mL</b>	: Mililitre
<b>mg</b>	: Miligram
<b>cm</b>	: Santimetre
<b><math>^{\circ}\text{C}</math></b>	: Santigrat derece
<b>G</b>	: Gram
<b>%</b>	: Yüzdelik birim
<b><math>\text{H}_2\text{O}_2</math></b>	: Hidrojen peroksit
<b>pH</b>	: Çözeltideki bazlık veya asitlik derecesi
<b>MI</b>	: Mitotik indeks
<b>EC50</b>	: Kimyasal maddenin deney canlılarının %50'sinde etkili dozu
<b>MN</b>	: Mikronükleus

# 1. BÖLÜM

## GİRİŞ

İnsanoğlu, ilk çağlardan beri beslenmek için doğada var olan besinlerden faydalanmış ve sonrasında bu besinleri bir şekilde üretme arayışına girmiştir. Tüm bunların yanı sıra hastalık etkenlerine karşı kendini korumak amacıyla çeşitli arayışlara yönelmiştir. Zamanla biyotik ve abiyotik etkenleri tedaviler için kullanmaya başlamışlardır. Günümüzde ise bu artık bir yaklaşım olmaktan çıkarak bilinçli olarak yararlanma haline gelmiştir [1].

Bitki ve bitki özütlerinin kullanımı insan kültürünün eskiden beri süre gelen bir parçası olmuştur. Tıbbi bitki ile bitki özütlerinin ilaç şeklinde kullanımı, sağlık hizmetlerine ulaşımı zor olan ülkelerde oldukça yaygındır. Gelişmiş olan ülkelerde ise, literatürde kanıtı olmaksızın geleneksel olarak tüketilen, şifalı olarak adlandırılan bu bitkilerin besin takviyesi adı altında kullanımı giderek artmaktadır. Bir kısmı potansiyel anlamda tehlikeli madde içerebilen bu bitkilerin olası toksik etkileri halk tarafından bilinmemektedir. Tıbbi bitkilerde dâhil olmak üzere bitkilerin doğadaki birçok canlıya karşılık savunma amaçlı bazı toksik maddeler sentezlerler. Gerçekleştirilen birçok araştırmada gıda şeklinde ve geleneksel tıpta kullanılan birçok bitkinin toksik etkiye neden olduğu ortaya konulmuştur [2].

Bunun yanında tıbbi bitkilerin bazı çalışmalarda hastalık tedavisinde, sağlıklı yaşam konusunda ve hastalık önleyici olarak kullanıldığı belirlenmiştir. Bazı tıbbi bitkilerin ise antioksidan etkisinin varlığı dikkat çekmiştir. Vücudumuzda meydana gelen bazı kimyasal reaksiyonlar sonucu serbest radikaller oluşmaktadır. Serbest radikal oluşumuna bağlı olarak da dokularda çeşitli hasarlar meydana gelmektedir. İnsan, vücudunda serbest radikallerin neden olduğu hasara karşılık bazı tedbirler almaktadır. Serbest radikallerin neden olduğu hasarı en aza indiren en etkili maddelerin başında antioksidanlar gelmektedir. Antioksidan maddeler, serbest radikallerin etkilerini yok etmektedir ya da direkt olarak serbest radikal oluşumunu engellemektedir [3].

Bilim insanları bu durum karşısında etnobotanik çalışmalarına, tedavilerde alternatif kaynak araştırması arayışına yönelmişlerdir. Bilinen medikal etkiye sahip bitkiler ve içeriklerine dair bilgiler, terapotik ajan şeklinde kullanılacak olan yeni ürün keşfinde oldukça önemlidir. Bu medikal bitkilerden biri de, şahtere otu olarak bilinen Latince karşılığı *Fumaria officinalis* L. olan bitkidir. İbn-i Sina da reçetesinde bu bitkiye yer verip, hipertansiyon kontrolü tedavisinde kullanılmasını önermiştir. Ülkemizde özellikle Akdeniz Bölgesinde sıkça rastlanmaktadır. Birçok rahatsızlık şikâyetleri ile bazı hastalıkların tedavisinde kullanılan şahtere otunun her geçen gün farklı etki mekanizması yapılan çalışmalarla ortaya konulmaktadır [4].

Gerçekleştirilen bu çalışmada, tıbbi bir bitki olan *F. officinalis*'in antioksidan etkisi *Allium cepa* test materyali kullanılarak araştırılmıştır. Allium testi, kanserojen veya mutajen maddelere maruz kalmış organizmaların sistemlerinde hasar tespiti amacıyla kullanılan bir yöntemdir. Allium testi, diğer testlere oranla uygulaması oldukça kolay, düşük maliyetli ve daha hızlı sonuç veren bir yöntemdir. Bu testin güvenilirliği yapılan pek çok çalışmayla doğrulanmıştır. Tüm bunlar doğrultusunda *F. officinalis*'in Allium testi kullanılarak toksik ve antioksidan etkisi değerlendirilmiştir [5].

Ülkemizin, Doğu Karadeniz Bölümü, Yukarı Sakarya, Erzurum-Kars Bölümü ile Orta Fırat Bölümünde yaygın olarak yetişen *F. officinalis* bitkisi ile yapılan az sayıda çalışma bulunmaktadır. Bu çalışmayla birlikte, *F. officinalis* bitkisinin antioksidan özelliğinin incelenmesi ve değerlendirilmesi, ayrıca bu konuda yapılacak olan araştırmalar için de başvuru kaynağı olması hedeflenmiştir.

## 2. BÖLÜM

### GENEL BİLGİLER

#### 2.1. Serbest Radikaller

Serbest radikaller, orbitalinde bir ya da daha fazla ortaklaşmamış elektron bulunduran moleküllerdir. Başka bir deyişle moleküler ya da atomik yapıda eşlenmemiş elektron bulunduran kimyasal türlerdir. Mitokondri, endoplazmik retikulum ve peroksizomlar fizyolojik ve patofizyolojik şartlarda hücrelerimizde başlıca serbest radikal kaynaklarıdır. Ancak serbest radikaller vücudumuzda çeşitli metabolik süreçler tarafından üretilebildiği gibi, stres, haşere ilaçları, radyasyon, yağ metabolizmasındaki toksik ürünler, sigara, kimyasal maddeler gibi birçok etkende serbest radikal oluşumuna neden olabilmekte ve bu radikaller ortamdaki diğer moleküllerle kolayca etkileşime girerek oksidatif strese neden olmaktadır [6, 7, 8].

Vücudumuzda içsel veya dışsal kaynaklı olarak oluşan serbest radikaller, antioksidan mekanizmalar tarafından ortadan kaldırılmaktadır. Bu sebeple serbest radikaller ile antioksidan mekanizmalar arasındaki dengenin korunması sağlıklı bir yaşam için önemli bir konudur. Vücudumuzda serbest radikal miktarı antioksidan mekanizmalarla ortadan kaldırılamayacak bir seviyeye ulaşırsa oksidatif stres olarak bilinen bir durum ortaya çıkar. Oksidatif stres durumunda serbest radikaller birçok temel hücresel bileşende tahribata yol açmakta ve sonuçta vücutta hipertansiyon, kanser, bağışıklık yetersizliği gibi bir takım hastalıkları oluşmasına neden olmaktadır. Antioksidanlar bu oksidatif stresle yüzleşmeye katkıda bulunabilir [9, 10].

##### 2.1.1. Serbest radikal çeşitleri

**Süperoksit radikali ( $O_2^-$ ):** Oksijen molekülüne bir elektron eklenmesiyle oluşmaktadır. Süperoksit radikalının üretimi genel olarak mitokondride gerçekleşir. Enerji dönüşümü sırasında elektron kaçması nedeniyle, süperoksit radikali serbest

radikale dönüşerek birçok hastalığa neden olabilmektedir. Biyolojik olarak oldukça toksiktir [11].

**Hidroksil radikali ( $\text{OH}^-$ ):** Hidroksil radikali reaktiftir, fakat oldukça kısa ömürlüdür. Atomik oksijen ile suyun reaksiyonu veya hidroperoksitlerin parçalanmasıyla meydana gelebilirler. Hidroksil radikali ROS'lara oranla daha zararlıdır. Bunun sebebi ise biyomoleküllerle oldukça güçlü reaksiyona girmesi olabilir [12].

**Nitrik asit ( $\text{NO}\bullet$ ):** Memelilerde bulunan önemli bir sinyal molekülüdür. Ayrıca serbest radikal türüdür. Oksijenle hızlı bir şekilde tepkimeye girip zehirli bir yapıya dönüşerek azot dioksiti meydana getirebilir. Hücresel bozukluklarda rol oynayan Nitrik oksit, çözünebilen serbest bir radikal gazdır. Aynı zamanda kan basıncını düzenleyen mekanizmada rol almaktadır. Nitrik oksidin aynı zamanda kanser, sıtma, şeker hastalığı ve kalp rahatsızlıklarıyla bağlantısı ispatlanmıştır. Bunlara ek olarak dokuların yaşam özelliklerinde ve hücre fonksiyonlarının düzenlenmesinde etkili olmaktadır [13].

**Singlet oksijen:** Singlet oksijen başka moleküllerle etkileşime geçtiğinde içerdiği enerjiyi transfer eder ya da kovalent tepkimeye girer. Singlet oksijen şu mekanizmalarla oluşmaktadır:

- a. Metaller ve hidroperoksitlerin yıkım tepkimelerinde,
- b. Dismutasyon tepkimelerinde,
- c. Oksijenli ortamdaki pigmentlerin ışığı absorpsiyonu sırasında oluşmaktadır [14].

**Hidrojen Peroksit ( $\text{H}_2\text{O}_2$ ):** Moleküler oksijenin iki elektron almasıyla ya da süperoksidin tek elektron alması ile oluşabilen aynı zamanda süperoksitdismutaz (SOD) enziminin dismutasyonu ile oluşabilmektedir. Ek olarak oksidaz enzim aktiviteleri sonucu da oluşmaktadır. Hidrojen peroksit üretiminde rol alan pek çok reaksiyon fotosentez ile solunumda da görevlidir. Hidrojen peroksitte yapısal olarak eşleşmemiş elektron bulunmamaktadır. Bu nedenle radikal değildir, fakat biyolojik membranları kolayca geçerek hücrelere difüze olabilmektedir [15].

Hidrojen peroksit oldukça güçlü bir oksidandır. Bu sebeple bazı biyolojik moleküllerde zarara neden olabilen oksitleyici potansiyeli bulunmaktadır. Yüksek derişimde canlı hücrelerde bazı genotoksik ve sitotoksik etkilere neden olmaktadır. Hücreye kolayca difüze olduğundan DNA'da baz hasarına ve nükleik asitlerde iplik kopmalarına sebep olmaktadır. Hücrede apoptoz ile nekroza neden olmaktadır. Düşük konsantrasyonlarda apoptozu, yüksek derişimlerde ise nekrozu tetiklediği yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir. Hidrojen peroksit askorbik asit ile antosiyaninlerin degradasyonuna sebep olmaktadır [16, 17, 18, 6].

### **2.1.2. Serbest radikal bileşiklerin kaynakları**

Çeşitli sebeplerle oluşan serbest radikaller ya doğrudan veya dolaylı olarak DNA hasarına neden olabilmektedir. Serbest radikallerin endojen kökenli ve eksojen kökenli olarak sınıflandırılabilir.

Otooksidasyon, enzimatik oksidasyon, solunum sırasındaki parçalanmalar, subselüler organeller, geçiş metali iyonları ve iskemi reperfüzyon hasarı serbest radikal oluşumuna neden olan endojen kaynaklardır [19, 20, 21]. İlaçlar, pestisitler, radyasyon, sigara dumanı ve çevresel kirleticiler ise serbest radikal oluşumuna neden olan eksojen kaynaklardır [22].

### **2.1.3. Serbest radikallerin metabolizmaya etkileri**

Serbest radikaller, lipidler, proteinler, karbonhidratlar ve nükleik asitler gibi hücresel yapılarla etkileşerek, hücrelerde geri dönüşü olmayan hasarlar oluşturabilirler.

Serbest radikallerin lipidlere etkileri şu şekilde gerçekleşmektedir: Doymamış yağ asitleri, doymuş yağ asitlerine oranla hidrojenin koparılması daha kolaydır. Bu sebepten otooksidasyona daha yatkındırlar. Serbest radikallerin etkilerine en hassas olan biyomoleküllerdir. Hücre membranında bulunan kolesterol ve yağ asitlerinin doymamış olan bağları, serbest radikallerle birlikte kolayca reaksiyona girmesi sonucu peroksidasyon ürünleri meydana gelmektedir. Hücre membranındaki lipid

peroksidasyonuna uğrayan yağ asitlerinin başında çoklu doymamış yağ asitleri gelmektedir. Lipit peroksidasyonu genel olarak yağ asitlerinde konjuge olan çift bağlardan tek elektron içeren hidrojen atomlarının çıkartılması sonucunda yağ asitinin lipit radikali özelliği kazanmasıyla başlar [23, 24].

Proteinlerin serbest radikallerden etkilenme oranı aminoasitler arası kompozisyonlarına bağlıdır. Histidin, triptofan, metiyonin, fenilalanin gibi doymamış ve kükürt içeren aminoasitlere sahip proteinler kolaylıkla serbest radikallerden etkilenirler. Bunun sonucunda karbon merkezli organik radikaller ve sülfür radikalleri oluşur. Serbest radikal etkileri sonucunda, immünoglobülin G (IgG) ve albümin gibi proteinlerin yapılarında bozulmalar meydana gelir ve fonksiyonlarını yerine getiremezler. Ayrıca hemoglobin proteini de serbest radikallerden oldukça zarar görürler [25].

İyonize edici radyasyon sonucu meydana gelen serbest radikaller, DNA'ya etki ederek hücrede mutasyona ve ölüme neden olmaktadır. Aktif nötrofil kaynaklı H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> hücre membranından kolaylıkla geçerek, hücre çekirdeğine gelir. Burada DNA hasarına ve hücre ölümüne yol açabilir [25].

Serbest radikaller karbonhidratlar üzerinde oldukça etkili olup, çeşitli patolojik süreçlere neden olmaktadır. Koroner kalp hastalığı, eklem romatizması, diyabet, hipertansiyon, kanser gibi birçok hastalıkta ve ileri yaşlarda serbest radikal üretim miktarının arttığı ve buna karşılık olarak antioksidan savunma mekanizmasının yetersiz kaldığı gösterilmiştir. Fakat serbest radikal artışının bir sebep mi yoksa sonuç mu olduğu henüz net olarak bilinmemektedir [9, 10].

## **2.2. Antioksidan Maddeler**

Serbest radikallerin oluşumunu önleyen veya indirgeyen ve zararlı etkilerini engelleyip ortaya çıkabilecek hasarlara karşı vücutta doğal bir savunma mekanizması oluşturan bileşikler antioksidan olarak adlandırılmaktadır. Serbest radikal oluşumunun engellenmesi sağlayan moleküler aktiviteler başlatıcı reaktif türevlerin uzaklaştırılması,

oksijen yoğunluğunu azaltılması ve ortamdaki katalitik metal iyonları uzaklaştırılması şeklinde sıralanabilir [26].

Antioksidanlar, yağların oksidatif bozulmalarını engelleyerek besin kalitesinin korunmasında önemli rol oynamaktadır. Antioksidan maddeler sağladıkları antioksidan savunma yeteneği sayesinde; vücuttaki hücreler üzerinde etkili olarak, yaşlanma, kardiyovasküler hastalıklar, kanser ve katarakt gibi hastalıklar üzerinde etkili olan serbest radikallerin, zararlı etkilerini azaltmaktadır [27, 28]. Bu savunma mekanizması:

- Radikal metabolit üretiminin tamamen durdurulması,
- Üretilmiş olunan radikallerin temizlemesiyle, mevcut zararın engellenmesi,
- Hücrede oluşan zararların ve hasarların ortadan kaldırılması, onarılabilmesi,
- Sekonder radikal üretilmesine katkı sağlayan zincir reaksiyonlarının durdurulabilmesi,
- Endojen kapasitenin artırılması, vb. çeşitli savunma mekanizmaları mevcuttur.

Genel itibariyle antioksidanlar hücrede, serbest radikaller sonucu oluşan çeşitli reaksiyonlar ve oksidatif hasarlar kişiler üzerinde yaşlanma ile birlikte diyabet, ateroskleroz ve kansere neden olabilmektedir [29].

Antioksidan maddeler, doğal ve yapay antioksidanlar şeklinde iki ana başlıkta toplanmaktadır. Doğal antioksidanlar mikroorganizmalardan, bitkilerden ve hayvan dokularından ekstrakte edilebilen, fazla işlenmeden tüketilen gıdalarda bulunan bileşiklerdir. Yapay antioksidanlar yapay olarak üretilen bileşiklerdir. Yapay antioksidanların kullanımı daha güvenilir, daha kolay ve genellikle doğal antioksidanlardan daha uygun maliyetlidir. Bütillenmiş hidroksi anizol (BHA), bütillenmiş hidroksi toluen (BHT), oktil gallat, dodesil gallat ve metal şelatlama maddeleri (etilen) en çok kullanılan yapay antioksidanlardandır [30].

Doğal antioksidanlar; enzimatik antioksidanlar ve enzimatik olmayan antioksidanlar olmak üzere iki kısımda incelenmektedir. Süperoksit dismutaz (SOD), glutatyon redüktaz (GR), katalaz (CAT), glutatyon peroksidaz (GPx), glutatyon –stranferaz (GST) enzimleri başlıca enzimatik antioksidanlar olarak sınıflandırılabilir [22, 23, 24]. Enzimatik olmayan antioksidanlar ise endojen kaynaklı ve eksojen kaynaklı olmak



üzere iki grupta değerlendirilebilir. Enzimatik olmayan eksojen kaynaklı antioksidanların başında, askorbik asit (C vitamini), tokoferoller (E vitamini), beta-karoten ve flavonoidler gelmektedir [30].

Endojenkaynaklı başlıca antioksidanlar; Glutasyon (GSH), bilirubin, laktoferrin, albümin, ürik asit, seruloplazmin ve haptoglobin şeklinde sınıflandırılabilir [31, 32, 33, 34].

Troloks, butillendirilmiş hidroksitoluen (BHT) ve butillendirilmiş hidroksianisol (BHA) yapay antoksidanlara örnek verilebilir [30, 35].

### **2.3. Toksikoloji ve Doz Kavramı**

Zehir, canlı organizmalar üzerinde zararlı etkilere neden olan madde olarak tanımlanmaktadır. Toksikoloji ise zehir bilimidir. Uygun dozda alınmayan her madde organizmada yapısal ve biyokimyasal lezyonlara neden olan toksik etkiler yapabilmektedir. Bu yapı ve çeşitli fonksiyon değişikliklerinin belirlenmesi için de bazı toksikolojik testler yapılır [36]. Toksikite testleri, xenobiyotik maddelerin organizmalar üzerinde neden olduğu zararlı etkileri ile maddenin toksik etkisinin görülmeyeceği doz değerinin de saptanması amacıyla yapılmaktadır [37].

Kimyasal maddelerin toksik etkilerini gösterebilmeleri için canlı organizmaya bir takım yollarla absorbe olarak hedef dokularda belli konsantrasyonlara ulaşması gerekir [38]. Canlı organizmalar üzerinde öldürücü etkiye neden olan dozlar Uluslararası tanımlamada Lethal Dose (LD) olarak isimlendirilir. LD50 ise belirli bir popülasyonda, mevcut canlıların yarısının ölmesi için gerekli olan madde miktarı (ağırlık) olarak belirtilir. LC50 ise popülasyondaki canlıların yarısının ölmesi için gerekli olan derişimi (konsantrasyon) ifade etmektedir. LCt50 ise bir popülasyondaki, yeterli miktardaki derişimi ve gerekli maruz kalma süresini belirtmektedir. LD50 değerlerinin belirlenebilmesi için fare ve ratların kullanımı oldukça yaygındır. Bunlara ek olarak ise ihtiyaç duyulduğunda lepidistes balıkları da kullanılabilir [39].

Etkili konsantrasyon (Effective concentration 50 (EC50)) şeklinde ifade edilen diğer bir terim ise genel olarak olası maksimum etkinin %50'sini ortaya çıkaran konsantrasyon anlamına gelmektedir. Bir popülasyondaki belli koşullar altında tutulan ilgili test organizmalarının %50'sinin belirli bir etki vermesi beklenen konsantrasyon olarakta ifade edilebilir. Bu ifade genellikle toksikolojide ilgili bileşiğin çevreye karşı gösterdiği toksisitesinin bir ifadesidir [40].

## **2.4. Genotoksikoloji**

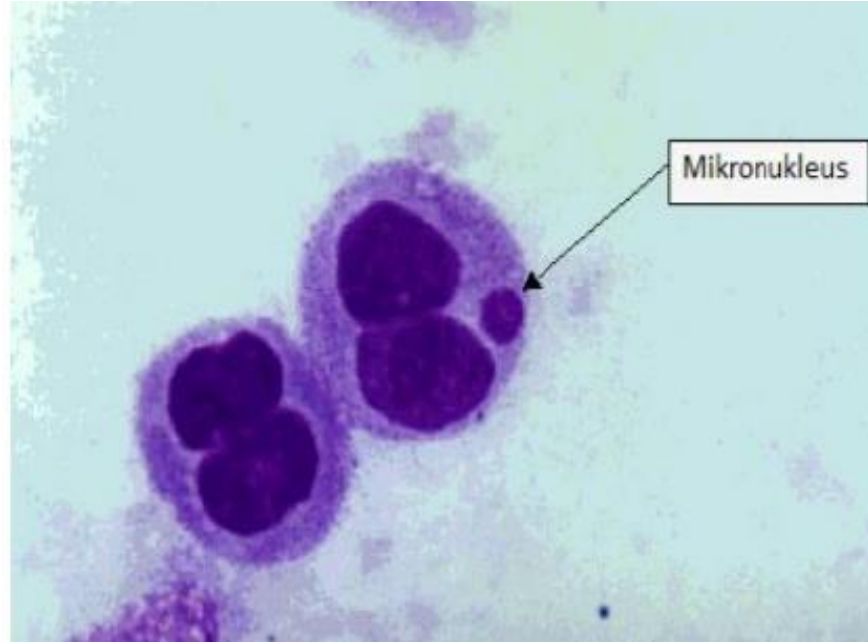
Serbest radikallerin maddelerin DNA'da bazı hasarlar meydana gelmektedir. Bu hasarlar, alkali labil bölgeler, tek ve çift zincir kırıkları, DNA katılımları ve benzeri durumlar şeklinde ortaya çıkmaktadır. Meydana gelen bu hasarlar tamir edilmediği durumda, DNA sekansında değişikliklere ve bazı kromozom aberasyonlarıyla sonuçlanan nükleotit değişikliğine bağlı olarak doku hasarı, kanser, yaşlanma, mutasyon ve rekombinasyon ortaya çıkmaktadır. Yapılan son çalışmalar, moleküler kanser genetiğindeki çoğu karsinojenlerin genotoksik olduğunu ortaya koymuştur [41].

Toksikolojinin alt bilim dallarından biri olan genetik toksikoloji, fiziksel, kimyasal veya biyolojik etkenlerin etkisiyle, kromozomlar, DNA ya da genler üzerinde meydana gelen yapısal, sayısal veya nokta mutasyonları çeşitli test bataryaları kullanarak ortaya koymaya çalışır. DNA ile genomun yapısında mutasyona sebep olan maddelere genotoksik madde, bu maddelerin meydana getirdiği hasar ise genotoksik etki olarak tanımlanmaktadır [36, 38].

Genetik toksisite testleri, direkt ya da indirekt olarak genetik materyal üzerinde hasara neden olan yanlarını belirlemek amacıyla geliştirilen in vivo ve in vitro testlerden oluşmaktadır [42].

#### 2.4.1. Serbest radikallerin neden olduğu genotoksik hasarlar sonucu mikronukleus (MN) oluşumu

Serbest radikallerin etkisiyle mitoz bölünme esnasında meydana gelebilecek, iğ ipliklerinde kopma, kinetokorlarda veya mitotik aygıtın diğ er parçalarında meydana gelen hasarlar, kromozom veya kromatit kırıkları vb. nedenlerle bir tam kromozom veya kromozom parçası kutuplara çekilerek oluşan yavru çekirdekler içerisindeki yerini alamaz. Bunun sonucunda da oluşan iki yavru çekirdeğe dâhil olmayan ve yavru çekirdeklerin en fazla 1/3'ü oranında olup etrafı çekirdek zarı ile çevrili yapılara mikronükleus adı verilir. Bu oluşumlar çoğunlukla hücre siklusundan sorumlu genlerdeki hatalardan, eksikliklerden ve kromozomal hatalardan meydana gelmektedir. Mikronükleus sayısındaki yükseliş e, bazı ajanların hücrede sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerine neden olduğu belirlenmiştir. Bu ajanlardan bazıları da, kromozom kırıkları oluşumuna sebep olarak MN oluşumunu arttırmaktadır. Günümüzde ise endüstrileşmeye bağı lı olarak, çevre kirliliğinin hızla artması ile canlılar kimyasal ajanlara daha fazla maruz kalmakla birlikte, tüm bunların toksik, mutajenik ve karsinojenik etkilerini görmek kaçınılmazdır [43].



Resim 2.1. Mikronukleuslu hücre [44]

## 2.5. Genotoksik Etkinin Belirlenmesinde Allium Testi

Genetik toksisite testleri kanserden korunmada, ilaçların piyasaya sürülmeden önce toksik etkilerinin araştırılmasında ve endüstriyel kimyasal maddelerin etkisinin araştırılmasında yaygın olarak kullanılmaktadır. 1970'den beri birçok mutajenik ve genotoksik maddenin karsinojenik potansiyelini ölçmek amacıyla in vivo ve in vitro genotoksisite testi geliştirilmiştir. Bu testler genetik materyalde hasara sebep olan bileşikler, çeşitli mekanizmalar ile direkt ya da indirekt olarak saptamaktadır [64]. Bu tez çalışmasında kullandığımız Allium test yöntemi soğan kök ucu hücrelerinde ksenobiyotiklerin meydana getirebileceği kromozom aberasyonlarını (KA) ve bunun sonucunda oluşabilecek Mikronukleusların (MN) tespit edilmesinde sıklıkla kullanılan bir test yöntemidir.

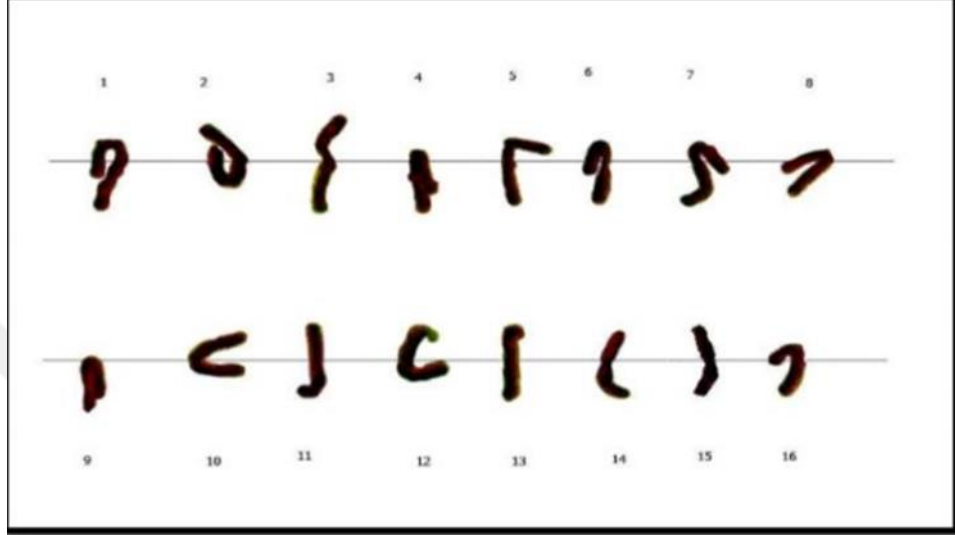
Allium Testi; prokaryotik ve ökaryotik canlılarla yapılan, mitotik indeks, çekirdek ve kromozom anomalilerini değerlendirmede kullanılan alternatif, kısa süreli, düşük maliyetli toksisite test sistemidir. Bazı kimyasalların çevre üzerinde neden olduğu genotoksik potansiyeli belirleme ve kimyasala maruz kalma sonucunda meydana gelen kromozom aberasyonları tespit edilmektedir [46].

Allium testi, ilk olarak 1938 yılında Levan tarafından mitoz bölünme sırasındaki kromozomal hasarları ve çekirdekte meydana gelen anormalliklerin belirlenmesinde kullanılmıştır. Bu test ile yapılan çalışmalar kimyasallar tarafından indüklenmiş olan kromozomlar üzerinde meydana gelen anomalilerin tespitinde oldukça önemli olduğu kanıtlanmıştır. Allium testi bilinen diğer toksisite testleriyle karşılaştırma yapıldığında yüksek oranda uyumluluk ve duyarlılık göstermektedir. Kök uçları test edilecek olan kimyasal madde ile direkt olarak temas halinde olduğu için ilgili ajanların genotoksik, sitotoksik ve fizyolojik etkilerinin belirlenmesinde oldukça önemli bir model organizmadır [47, 48].

Çok fazla tercih edilen bu yöntem ile zararlı etkenlerin belirleyici doz bulunduktan sonra kök uçlarına farklı uygulama süreleri ile birlikte kromozom hasarları, mitotik indeks ve mitotik faz tespit edilmektedir. Geniş bir kullanım alanına sahip olan *Allium*

testi ile toksik sebepler ve çevresel kimyasal ajanların analizinde oldukça önemlidir [49].

*A. cepa*, diploid ( $2n=16$ ) ve monosentrik kromozomlu bir genomu sahiptir (Şekil 2.1.).



Şekil 2.1. *Allium. cepa*'ya ait karyotip [50]

*A. cepa* testinin avantajları şu şekilde sıralanabilir:

- *A. cepa*'nın kromozom boyunun büyük, sayısının az ve yapısal olarak çeşitli olmasından dolayı sayısal ve yapısal aberasyon tespitinde kullanılmaktadır.
- Hücre döngüsü kısa sürelidir.
- Diğer test yöntemlerine göre kolay ve daha ucuzdur.
- Test edilecek olan kimyasal madde köklerle doğrudan temas halinde olduğu için *in vivo* bir materyaldir.
- Hem mayoz hemde mitoz geçirebilen ve mutasyona uğradığından her türlü mutajenin saptanmasına olanak sağlar.
- Kromozom aberasyonunun yanında mitoz da meydana gelebilecek çekirdek ile nükleollerdeki aberasyonlarda tespit edilmektedir.
- Genotoksisite değerlendirmelerinde ABD Çevre Koruma Ajansı (EPA) Gene-tox programı çerçevesinde kullanılan ilk bitki *Allium cepa*'dır.

- Ayrıca, Birleşmiş Milletler Çevre Ajansı (UNEP), Dünya Sağlık Örgütü ve Uluslararası Kimyasal Güvenlik Programı (IPCS) tarafından genotoksisite tespitinde kullanılması yönünde standart bir test olarak kabul edilmiştir [46, 51, 16].

## 2.6. *Fumaria officinalis* L.

*Fumaria officinalis* birçok ülkede yabani ot şeklinde bulunan tek yıllık bir bitkidir [52]. Batı ve Orta Avrupa'da iyi bilinen, geleneksel ve aynı zamanda *Fumaria* cinsinin bilinen en yaygın türüdür. Antik çağlardan beri bilinen bu bitki Orta Çağ bitkileri arasında yer almaktadır. Fransız Sağlık otoritelerince böbrek ile sindirim sistemi eliminasyon işlemlerinde kullanılmak üzere bitkisel ilaç olarak resmi olarak tanımlanmıştır [53].

*F. officinalis* Papaveraceae alt familyasına aittir (Tablo 2.1., Şekil 2.2.). Ülkemizde toplamda on yedi *Fumaria* türü yetişmektedir. Bu bitki aynı zamanda halk arasında “şahtere” olarak isimlendirilmektedir. Bitkinin topraküstü kısımları kurutulup, kaynatılarak destekleyici tedavide kullanılmaktadır. Şahterede etken olarak bulunan madde alkaloidlerdir (fumarin, fumarisin, fumarilin vb.). Bunun yanında glikozitler, alkaloidler, yağ asitleri, reçine, protein, tanenler, fenol, flavonoidler, saponinler, fumarik asit ve karbonhidratlar önemli bir bileşenlerindedir [54, 55, 56, 57].



Şekil 2.2. *Fumaria officinalis* (şahtere) bitkisinin genel görüntüsü [58]

Tablo 2.1. *Fumaria officinalis*(şahtere) bitkisine ait sistematik bilgiler [59]

Alem :	Bitkiler
Altalem:	Tracheobionta
Üstbölüm:	Spermatophyta
Bölüm:	Magnoliophyta
Sınıf:	Magnoliopsida
Altsınıf:	Dicotyledons
Ordo:	Papeverales
Aile:	Fumariaceae
Cins:	<i>Fumaria</i>
Tür:	<i>Fumaria officinalis</i>

*F. officinalis* bitkisinin özleri birçok hastalık ve rahatsızlığın tedavisinde etken madde olarak kullanılmaktadır. Bazı cilt rahatsızlıklarında, romatizma, mide ağrılarında etkili olduğu ve idrar söktürücü özelliği olduğu da bilinmektedir [60, 61]. Aynı zamanda birçok iltihap şikâyetli ağrılarda, hipertansiyon, hepatit ve diyabet gibi rahatsızlıklar üzerinde etkili olduğu yapılan çalışmalarda gözlemlenmiştir [62].

## 2.7. Literatür Özetleri

Bitkiler, insanoğlu var olduğu günden bugüne kadar geçen sürede oldukça büyük önem taşımıştır. İlk çağlardan bugüne kadar önemli bir besin kaynağı olmasının yanı sıra hastalık etkilerine karşı korunmak amacıyla da kullanılmıştır. Günümüzde ise insanoğlu bitkilerin artık besin ihtiyacının yanında bazı tedavilerde yaklaşım olmaktan çıkarak bilinçli bir şekilde geleneksel sağlık alanında kullanılmaktadır. Geleneksel anlamdaki sağlık uygulamalarında şifalı bitkilerin antioksidan özelliğinin önemi de oldukça iyi bilinmektedir. Şifalı olarak bilinen bitkilerin kullanım şekli ise oldukça önemlidir. Kullanım esnasında doz ayarlamasına dikkat edilmez ise toksik etki meydana gelmektedir. Bitkilerin antioksidan ve toksik özellikleri ile ilgili yapılan çalışmalar öne çıkmaktadır. Bu doğrultuda yapılan bilimsel içeriklere ise aşağıda yer verilmiştir.

Uniyal ve arkadaşları, 2003-2005 yılları arasında Himalaya'nın Chhota Bhangal bölgesinde şifalı olarak görülen tıbbi bitkilerin kullanımını belgelemek amacıyla belirledikleri 35 tür üzerinde çalışma gerçekleştirmiştir. Çalışma sonucunda, modern sağlık alt yapısının bulunmadığı bölgelerdeki insanların tıbbi açıdan bitkilere bağımlı olduğunu ortaya koymuştur. Ayrıca, bu bitkilerin birçok hastalık tedavisinde etkili olduğu belirlenmiştir [63].

Yapıcı ve arkadaşları, Siirt Kurtalan'da belirlenen 34 bitkinin yerel isimleri, etnobotanik özellikleri ve tıbbi olarak kullanımlarını belirlemek amacıyla kurutarak herbaryum örneği şeklinde değerlendirmeye almıştır. Tüm bilgiler bölgedeki aktar ve yöre halkından dinlenmiş ve bu bitkilerin kullanılan kısımları, kullanım alanları ve Latince karşılıkları belirlenmiştir. Elde edilen bulgular sonucunda raporlanan bu veriler sonucunda *F. officinalis*'in egzama ve vücuttaki çeşitli kaşıntıların tedavisinde kullanıldığı tespit edilmiştir [64].

Sarı ve arkadaşları tarafından 2010 yılında Ege ile Güney Marmara bölgelerinde gerçekleştirilen dört yıllık bir sürede yürütülen halk tarafından ilaç olarak kullanılan 608 kayıtlı bilgi toplanmıştır. Elde edilen verilerle 65 familyaya ait olmak üzere toplamda 168 tür tespit edilmiştir. Çalışma materyalini tedavi amaçla kullanılan bitkiler olmuştur. Bu proje kapsamında elde edilen bilgiler doğrultusunda bitkilerin soğuk algınlığı vb. basit şikâyetlerden, kanser hastalığı gibi zorlu rahatsızlığa karşılık olarak bu bitkilerden yararlandığı görülmüştür. Araştırma materyalleri arasında bulunan *F. officinalis*'in ise halk arasında safra kesesi rahatsızlıklarında, idrar söktürücü olarak ve kan temizleyici amacıyla kullanıldığı ortaya konulmuştur [65].

Özenç, 2011 yılında *F. officinalis* bitkisini kullanarak metanol ekstraktı ile antioksidan tayini ve içeriğinde bulunan fenolik - flavonoid madde miktarlarını demir ile bakır indirgeme gücü (FRAP ve CUPRAC), sıvı ve gaz kromatografisi, DPPH radikalini süpürme aktivitesiyle,  $\beta$ -karoten-linoleik asid metodu ile metal şelatlama kapasitesi yöntemlerini kullanarak gerçekleştirmiştir [3].



Serpi ve arkadaşları, akne rahatsızlığı üzerine yaptıkları çalışmada *F. officinalis*'in de içerisinde olduğu altı farklı bitki ekstralarını *Propionibacterium acnes* suşuna karşılık antibakteriyel aktivite tayinine tabi tutmuşlardır. Çalışma sonucunda; aslanpençesi, *F. officinalis*, melisa ve lavanta ekstraları ilgili suşun ortamda üremesini %100 önlediği belirlenmiştir [66].

Orhan ve arkadaşları, ülkemizde dâhil olmak üzere birçok ülkede geleneksel olarak karaciğer rahatsızlıkları tedavisinde kullanılan *Fumaria* türlerinden dört tanesi üzerinde çalışma yapmıştır. Yapılan üç farklı antioksidan aktivite tayin yöntemleri sonucunda karaciğer rahatsızlıklarında koruyucu etkiye sahip olduğu ortaya konulmuştur [67].

Turan, 2014 yılında ülkemizde yaygın olarak kullanılan 46 adet bitkinin yapraklarında ağır metal ve mineral içeriklerinin tayini üzerine yaptığı çalışma sonucunda; *F. officinalis*'in de içinde bulunduğu, kür amacıyla satılan bu bitkilerin incelenen dozlarda toksik miktarda insan sağlığı yönünden risk taşımadığını göstermiştir [68].

Etikan ve arkadaşları ise bitkileri farklı bir açıdan ele alarak bir çalışma gerçekleştirmiştir. Fethiye yöresine ait geleneksel olarak dokunan halı ve kilimlerin yapımında kullanılan iplikleri boyama da endemik bazı bitkiler kullanmışlardır. Dokuma ipliklerinin boyamasında; ceviz kabuğu ile yaprağı, kekik, badem yaprağı, kekik ve *F. officinalis* otu kullanarak bir boyama reçetesi oluşturmuşlardır [69].

Topçam, *F. officinalis* ekstraktı kullanarak L-NAME yardımıyla hipertansiyon oluşan sıçanlar üzerinde kan basıncının etkisini ortaya koyan bir çalışma tasarlamıştır. Yapılan çalışma sonucunda istatistiksel olarak değerlendirildiğinde L-NAME ve *F. officinalis* bir arada kullanıldığı parametrelerde sistolik kan basıncını düşürdüğü belirlenmiştir [70].

Filogh, ise *F. officinalis* otunun metanol ile sulu özütünü kullanarak gökkuşağı balıkları üzerinde yaptığı çalışma sonunda ise; *F. officinalis*'in büyüme performansını arttırdığı, büyümeyi teşvik ettiğini ortaya koymuştur [54].

### 3. BÖLÜM

#### MATERYAL VE METOT

Tez çalışması kapsamında çalışmada model organizma olarak kullanılan *Allium cepa* yumruları yerel pazarlardan alınmıştır. Ekstrakt hazırlamak için kullanılan şahtere otunun (*Fumaria officinalis*) toprak üstü kısımları aktarlardan kurutulmuş olarak temin edilmiştir. Çalışmanın ekstraksiyon hazırlama işlemleri Nevşehir Hacı Bektaş Veli Üniversitesi, Mühendislik ve Mimarlık Fakültesi, Gıda Mühendisliği laboratuvarlarında, diğer kısımları ise Fen Edebiyat Fakültesi, Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü, Genetik laboratuvarında gerçekleştirilmiştir.

#### 3.1. Çalışmada Kullanılan Cihazlar ve Kimyasallar

Tez çalışması süresince kullanılan cihazlar ve kullanım alanları tablo 3.1.'de, çalışmada kullanılan kimyasallar ve kullanım amaçları ise tablo 3.2.'de belirtilmiştir.

Tablo 3.1. Çalışmada kullanılan cihazlar ve kullanım alanları

Cihaz adı	Kullanım alanı
Hassas Terazi (Resim 3.1.)	Ölçüm tartım işlemleri
Soxhlet Ekstraksiyon Cihazı (Resim 3.2.)	Ekstraktın hazırlanması
Evaporatör (Resim 3.3.)	Ekstraksiyonda kullanılan metanolün uzaklaştırılması
Sıcak Su Banyosu	Preparat hazırlama esnasında maserasyon aşaması
+4°C Soğutucu	Preparatların hazırlanması ve saklanması
Heating Magnetic Stirrer	Çözeltilerin hazırlanması
Otomatik Pipet Takımı	Dozlama aşaması
Binoküler Mikroskop	Hazırlanan preparatların incelenmesi ve hücre sayımı
Kameralı Mikroskop	Fotoğraf çekimi

Tablo 3.2. Çalışmada kullanılan kimyasallar ve kullanım amaçları

Kimyasalın adı	Kullanım amacı
Hidrojen Peroksit (H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> )	Serbest radikal kaynağı
Metanol	Ekstrakt eldesi ve fiksatif hazırlama
Asetik Asit	Fiksatif hazırlama
1N HCl	Hidroliz
% 70'lik Alkol	Temizlik ve fiksasyon
Schiff's Reagent Boyası	Çekirdek materyalini boyama
Entellan	Daimi preparat yapımı

- **Fiksatif Hazırlanışı**

3:1 oranında hazırlanacak olan fiksatif için metil alkol ve asetik asik karıştırılarak fiksatif elde edilmiştir.

### **1N HCl Çözeltisi Hazırlanışı**

82,81 ml HCl behere alınarak, üzeri 1000ml tamamlanıp elde edilmiştir.

## **3.2. Metot**

### **3.2.1. *Fumaria officinalis* ekstraktının hazırlanması**

Kurutulmuş şekilde aktarlardan temin edilmiş olan *Fumaria officinalis* (şahtere) bitkisinin toprak üstü kısımları laboratuvarında öğütülerek toz haline getirilmiştir. Metanol ekstraktı elde etmek için öğütülerek toz haline getirilmiş 40 gram *F. officinalis*, onar gramlık, uygun filtre kâğıdından yapılmış süzme torbalarının içerisine doldurulup ağzı kapatılmıştır. Ekstraksiyon cihazına yerleştirilmiştir (Resim 3.1 ve Resim 3.2).



Resim 3.1. Çalışmada kullanılan *F. officinalis* bitkisinin tartımı



Resim 3.2. Bitki özütü eldesi için kullanılan soxhlet ekstraksiyon cihazı

250 mL hacimdeki soxhlet cihazının balon kısımlarına metanol eklererek yaklaşık 60 °C'de 4 saat süreyle ekstraksiyon işlemine devam edilmiştir. Ekstraksiyon işlemi sonucunda elde edilen bitki ekstraktının içerisindeki metanolün uzaklaştırılması için

evaporatör cihazına yerleştirilmiştir. İçerisinde bulunan metanol evaporatör aracılığıyla ortamdan uzaklaştırılmıştır (Resim 3.3.).



Resim 3.3. Bitki özütünden metanolü uzaklaştıran evaporasyon işlemi

Metanolden ayrılan özüt petri kabına alınarak ve kurumaya bırakılmıştır (Resim 3.4.).



Resim 3.4. Elde edilen şahtere özütü

Ekstraksiyon verimini belirlemek amacıyla petrilerdeki ekstrakt miktarları ölçülmüş ve ekstraksiyon veriminin % 3,9 olduğu görülmüştür.

### 3.2.2. *Allium cepa* yumrularının çimlendirilmesi

Kök uçları zedelenmeyecek şekilde kabuklarından ayrıştırılan 100 adet *Allium cepa* yumrusu steril hale getirilerek, saf su ile dolu olan 50 mL falkon tüplere kök uçları suya temas edecek şekilde yerleştirilmiştir. *Allium cepa* yumrularının kök uçlarının oluşup gelişebilmesi için 48 saat boyunca karanlık ortamda oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır (Resim 3.5. ve Resim 3.6.).



Resim 3.5. Çimlenmeye bırakılan soğanlar



Resim 3.6. 24 saat sonunda gözlenen kök ucu uzamaları

### 3.2.3. *Fumaria officinalis* ekstraktı EC50 belirleme işlemi

48 saat sonunda seçilen yeterli kök ucu uzamasına sahip olan 42 soğan seçilmiştir. *F. officinalis* ekstraktı saf su içerisinde çözdürülerek 1000 µg/mL konsantrasyonda ana stok hazırlanmıştır. Hazırlanan çözelti Heating Magnetic Stirrer cihazı yardımıyla homojen olarak elde edilmiştir. Deney esnasında kullanılacak olan deney tüpleri numaralandırılmıştır. Her bir doz grubu ve büyüme kontrol için 6 adet soğan kullanılmıştır (Resim 3.7.).



Resim 3.7. Dozlama yapılan deney düzeneği

48 saatlik çimlendirme işlemi sonunda homojen ve sağlıklı bir şekilde büyüdüğü tespit edilen 42 soğan 50 mL falkonlar kullanılarak oluşturulmuş kontrol ve doz gruplarından oluşan deney düzeneğine her bir soğanın kök ucu uzunlukları ölçülüp kaydedilerek 24 saat oda sıcaklığında inkübasyona bırakılmıştır. 24 saat sonunda inkübasyondan alınan soğanların kök ucu uzamaları kontrol edilerek ölçümleri yapılmıştır. Yapılan tüm ölçümler her doz grubunun her bir soğanı için tek tek kaydedilmiştir. Dozlama tablo 3.3.'de belirtildiği şekilde yapılmıştır.

Tablo 3.3. *Fumaria officinalis* ekstraktı EC50 belirleme işlemi doz grupları

Büyüme Kontrol Grubu	Saf su	
Deney grubu	1. Grup	1000 µg/mL konsantrasyonda <i>F. officinalis</i> ekstraktı
	2. Grup	500 µg/mL konsantrasyonda <i>F. officinalis</i> ekstraktı
	3. Grup	250 µg/mL konsantrasyonda <i>F. officinalis</i> ekstraktı
	4. Grup	125 µg/mL konsantrasyonda <i>F. officinalis</i> ekstraktı
	5. Grup	62,5 µg/mL konsantrasyonda <i>F. officinalis</i> ekstraktı
	6. Grup	31,25 µg/mL konsantrasyonda <i>F. officinalis</i> ekstraktı

#### 3.2.4. 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> ile muamele sonrası belirlenen konsantrasyonlarda *F. officinalis* ekstraktında çimlendirme aşaması

100 adet soğan ilk öncelikle dış kabuklarından arındırılmıştır. Steril edilen soğanlar 50 mL'lik içleri saf su ile doldurulmuş falkon tüplere yerleştirilmiştir. 48 saatlik inkübasyon süresi sonunda sağlıklı görünüme sahip homojen şekilde köklenmiş en iyi 48 tanesi seçilmiştir. 30 mM'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi hazırlanmıştır. Seçilen soğanlardan 24 tanesi 30 mM'lık H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi içeren tüplere yerleştirilerek 1 saat süreyle oda sıcaklığında karanlık ortamda inkübasyona bırakılmıştır. Diğer 24 soğandan oluşan grup ise aynı şartlar altında distile suda inkübe edilmiştir.

Bir saatlik inkübasyonun ardından soğanların kök ucu ölçümleri gerçekleştirilerek aşağıda belirtilen doz ve kontrol gruplarına her bir grupta altı soğan olacak şekilde aktarılmıştır. EC50 belirleme işlemi sonrasında 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e maruz bırakılan grup ile maruz bırakılmayan gruplar üzerinde, *F. officinalis* ekstraktının etkisini gözlemek amacıyla oluşturulan deney grupları tablo 3.4'de verilmiştir.



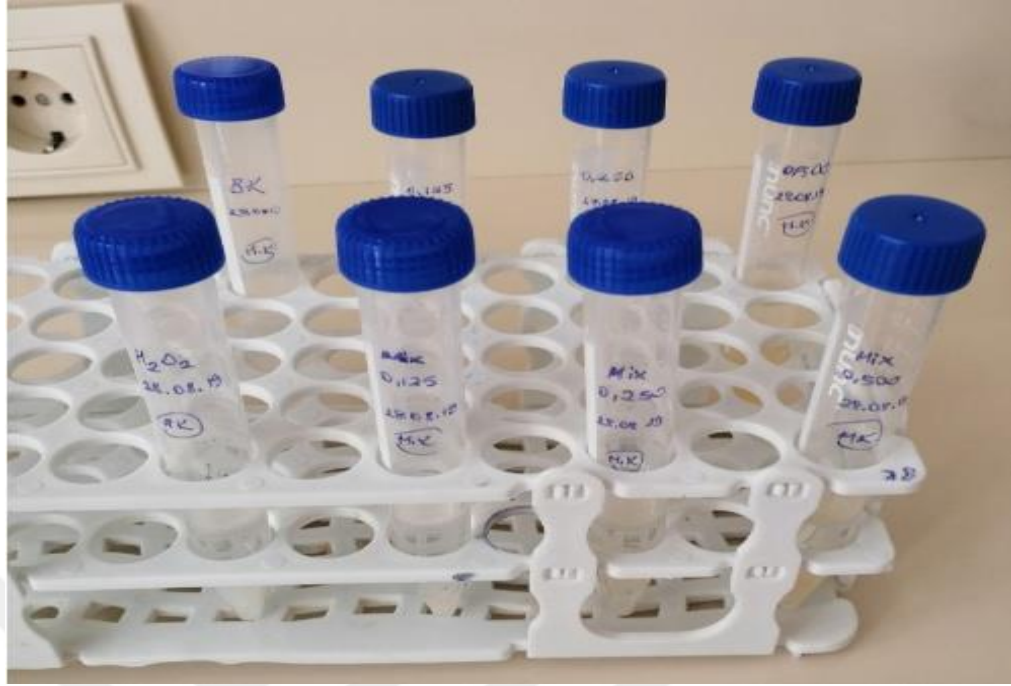
Tablo 3.4. 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e maruz bırakılan grup ile maruz bırakılmayan grupların muamele edildiği *Fumaria officinalis* ekstraktı dozları

No	Gruplar	Uygulamalar
1	Büyüme kontrol grubu	Soğanlar deney süresince sadece saf su içerisinde inkübe edilen grup
2	Pozitif kontrol grubu	1 saatlik 30mM'lık H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> muamele sonrası 24 saat saf suda inkübe edilen grup
3	Seri I: 1 saatlik 30mM'lık H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> muamele sonrası	125 µg/mL <i>F. officinalis</i> ekstraktında 24 saat inkübe edilen grup
4		250 µg/mL <i>F. officinalis</i> ekstraktında 24 saat inkübe edilen grup
5		500 µg/mL <i>F. officinalis</i> ekstraktında 24 saat inkübe edilen grup
6	Seri II: H <sub>2</sub> O <sub>2</sub> muamele edilmeksizin	125 µg/mL <i>F. officinalis</i> ekstraktında 24 saat inkübe edilen grup
7		250 µg/mL <i>F. officinalis</i> ekstraktında 24 saat inkübe edilen grup
8		500 µg/mL <i>F. officinalis</i> ekstraktında 24 saat inkübe edilen grup

### 3.3. Preparasyon Aşaması

30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'e maruz bırakılan grup ile maruz bırakılmayan grupların 24 saat süresince farklı konsantrasyonlarda *F. officinalis* ile muamele sonunda kök uçları sırasıyla distile sudan geçirilen soğanların kök ucu uzama miktarları ölçülerek not edilmiştir. Daha sonra her bir doz grubuna ait soğanların kök ucu kesilerek, her birinin içerisinde 5 mL 3:1 oranında hazırlanan fiksatif çözeltisi bulunan tüpler içerisine alınarak 24 saat bekletilmek üzere +4°C buzdolabına kaldırılmıştır.

24 saat sonunda fiksatif içerisinde bulunan kök uçları %70'lik alkol ile fiksatiften arındırılmıştır. Sonra ise tüpler içerisine %70'lik alkol konularak tekrar buzdolabına kaldırılmıştır (Resim 3.8).



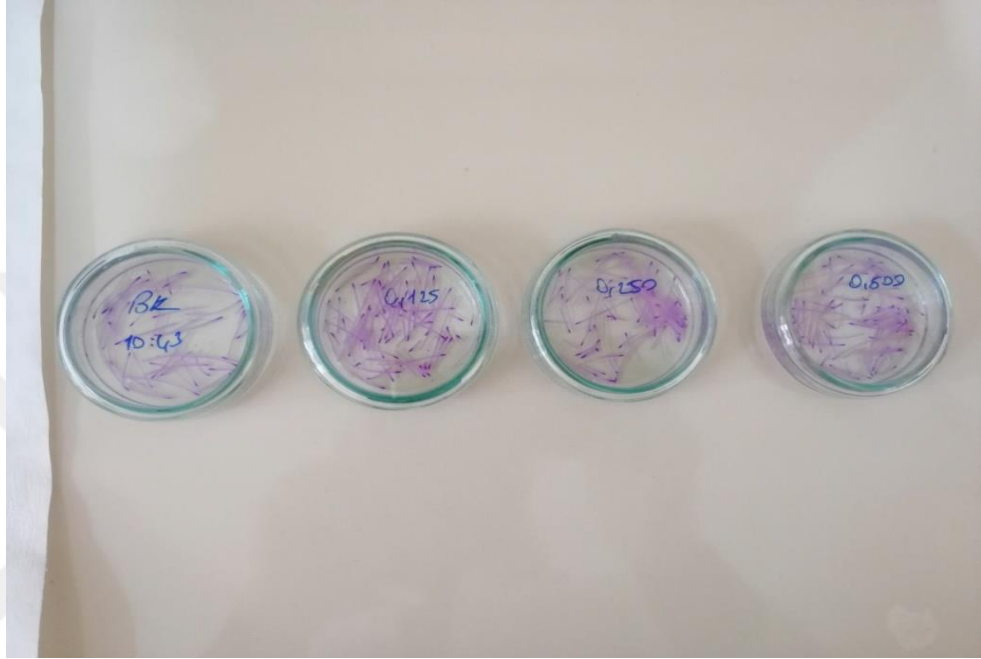
Resim 3.8. Soğan kök uçları kesitlerinin %70'lik alkol içerisindeki görüntüsü

Beklenen süre sonunda fiske edilmiş, %70'lik etil alkol içerisinde bekletilen kökler +4°C olan buzdolabından alınmıştır. Kök uçları 60°C'lik su banyosunda, 1N HCl içeren cam şaleler içerisinde 10 dakika süreyle hidroliz edilmiştir (Resim 3.9).



Resim 3.9. Preparat yapımı aşamasında kullanılan şale ve petripler

Hidroliz işleminin ardından kök uçları saf sudan geçirilmiş ve kurutma kâğıdı ile fazla suyu uzaklaştırılmıştır. Şaleden alınmış olan kök uçları etiketlenmiş petri kaplarına bırakılmıştır. Kromozomların boyanması için, kök uçlarının bulunduğu petri kaplarına Schiff's reagent boyası eklenmiştir (Resim 3.10).



Resim 3.10. Boyanan soğan kök uçları

Oda sıcaklığında 30 dakika boyunca kök uçları boya ile muamele edilmiştir. Boyanan kök uçları saf su ile yıkanmış ve kurutma kâğıdı ile kurutulmuştur. Boyayı en iyi alan kök uçları seçilerek lam üzerine bırakılmış ve temiz bir jilet yardımıyla 1-2 mm'lik uç kısımlar kesilerek ayrıştırılmıştır. 1-2 mm uzunluğundaki bu kısımların üzerine %45'lik glasiyal asetik asit çözeltisi damlatılmış ve üzeri lamel ile kapatılarak hafifçe ezilmiştir. Hazırlanan preparatlar buz üzerine bırakılarak 30 saniye kadar beklenilmiştir. Buz üzerinden alınan preparatların üzerindeki lameller lamdan ayrılmış ve lam %70'lik alkol ile yıkanarak kurumaya bırakılmıştır. Daimi preparat oluşturabilmek amacıyla havada kurutma işleminin ardından lamaların üzerine pastör pipet yardımıyla çok az entellan damlatılıp lamelle kapatılmış oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Hazırlanan preparatlar, preparat kutusuna dizilerek mikroskop incelemesi yapılmak üzere +4°C'ye kaldırılmıştır (Resim 3.11).



Resim 3.11. İncelenmek üzere +4°C'ye kaldırılan preparatlar

### 3.4. Verilerin Değerlendirilmesi ve İstatistiksel Analiz

Kontrol ve deney gruplarında, kullanılan her bir soğan yumrusunun köklerinden bir preparat olmak üzere her bir konsantrasyon için, 5 preparat hazırlanmıştır. Hazırlanan her bir preparattan 1000 hücre olmak üzere toplam 5000 hücre sayılmıştır. Sayılan her 1000 hücredeki bölünen hücre sayıları mitotik indeksin belirlenmesinde kullanılmıştır. Mitotik indeks= (Bölünen Toplam Hücre/Gözlenen Toplam Hücre)\*100 formülüyle hesaplanmıştır.

Ayrıca her bir preparattan 100 bölünen hücre olmak üzere her bir konsantrasyon için 500 bölünen hücre gözlenmiş olup, bu veriler hem faz indeksinin hemde bölünme sırasında meydana gelen kromozom anomalilerinin değerlendirilmesinde kullanılmıştır. Faz indeksi hesaplanırken her bir preparatta gözlenen 100 adet bölünmekte olan hücrenin hücre bölünmesinin hangi evresinde olduğu tespit edilerek ortaya konulmuştur. Kromozom anomalilerinin değerlendirilmesinde de her bir preparatta gözlenen 100 adet bölünmekte olan hücrelerdeki anomaliler belirlenerek hesaplanmıştır.

Verilerin analizi SPSS İstatistik 26 versiyonu ile gerçekleştirilmiştir. Sayısal değişkenlerin aritmetik ortalama, standart sapma (SS) değerleri bulunmuş ve veriler ortalama  $\pm$  SS değerleri olarak verilmiştir. Araştırmada kullandığımız faktörler normal dağılım sergilediği için ikili grupların karşılaştırılmasında Paired Sample T testi kullanılmıştır. Tüm çalışmada anlamlılık düzeyleri 0,05 ve 0,001 değerleri dikkate alarak gerçekleştirilmiş ve P değeri 0.05 ve 0,001 değerinden küçük olduğunda istatistiksel olarak anlamlı kabul edilmiştir.



## 4. BÖLÜM

### BULGULAR

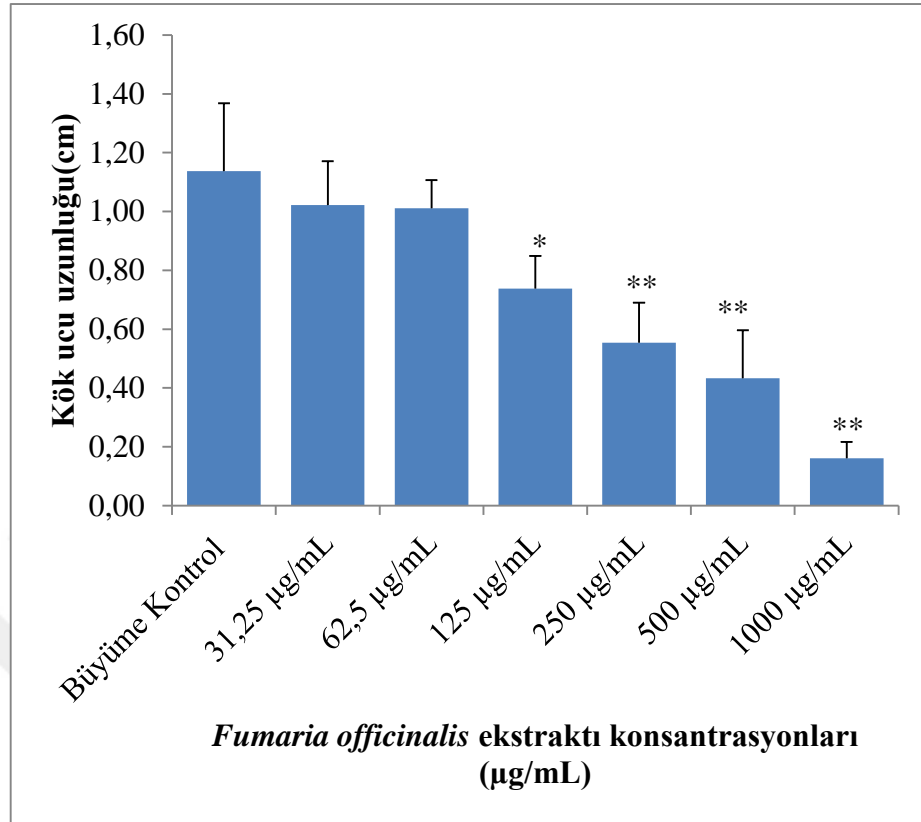
#### 4.1. *Fumaria officinalis* ekstraktının *Allium cepa* kök hücrelerindeki EC50 değerini belirleme sonuçları

*Fumaria officinalis* ekstraktının *Allium cepa* kök hücrelerindeki EC50 değerinin tespit edilmesi için büyümeyi engelleme testi uygulanmıştır. *Fumaria officinalis* ekstraktının farklı konsantrasyonları (31,25, 62.5, 125, 250, 500 ve 1000 µg/mL) ve distile su (büyüme kontrol grubu) 24 saat boyunca *A. cepa* köklerine maruz bırakılarak ortalama kök uzunlukları belirlenmiştir (Tablo 4.1., Şekil 4.1.). Kök ucu uzunluğu bakımından büyüme kontrol grubunun %50'si oranında büyüyen grup EC50 değeri olarak esas alınmıştır. *Fumaria officinalis* ekstraktının *A. cepa* kök hücrelerindeki EC50 değeri 250 µg/mL bulunmuştur.

Tablo 4.1. *Fumaria officinalis* ekstraktının *Allium cepa* kök hücrelerindeki EC50 değerini belirleme verileri (SS: Standart Sapma)

Dozlar (µg/mL)	Ortalama büyüme (cm) ± SS	%Büyüme	%Büyümede İnhibisyonu
<b>Büyüme Kontrol</b>	1,14±0,18	100	0
<b>31,25</b>	1,02±0,11	89,74	10,26
<b>62,5</b>	1,01±0,07	88,8238	11,18
<b>125</b>	0,74±0,09*	64,7877	35,21
<b>250</b>	0,57±0,11**	49,9854	50,01
<b>500</b>	0,43±0,13**	38,0674	61,93
<b>1000</b>	0,11±0,04**	9,51684	90,48

p<0,05\*, p<0,01\*\*, \*\*\*Büyüme kontrol ile karşılaştırılmıştır.



Şekil 4.1: *Fumaria officinalis* ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarının gelişimlerinin karşılaştırılması ( $p < 0,05^*$ ,  $p < 0,01^{**}$ ,  $***$ Büyüme kontrol ile karşılaştırılmıştır)

#### 4.2. Mitotik indeks ve mitotik faz frekansları

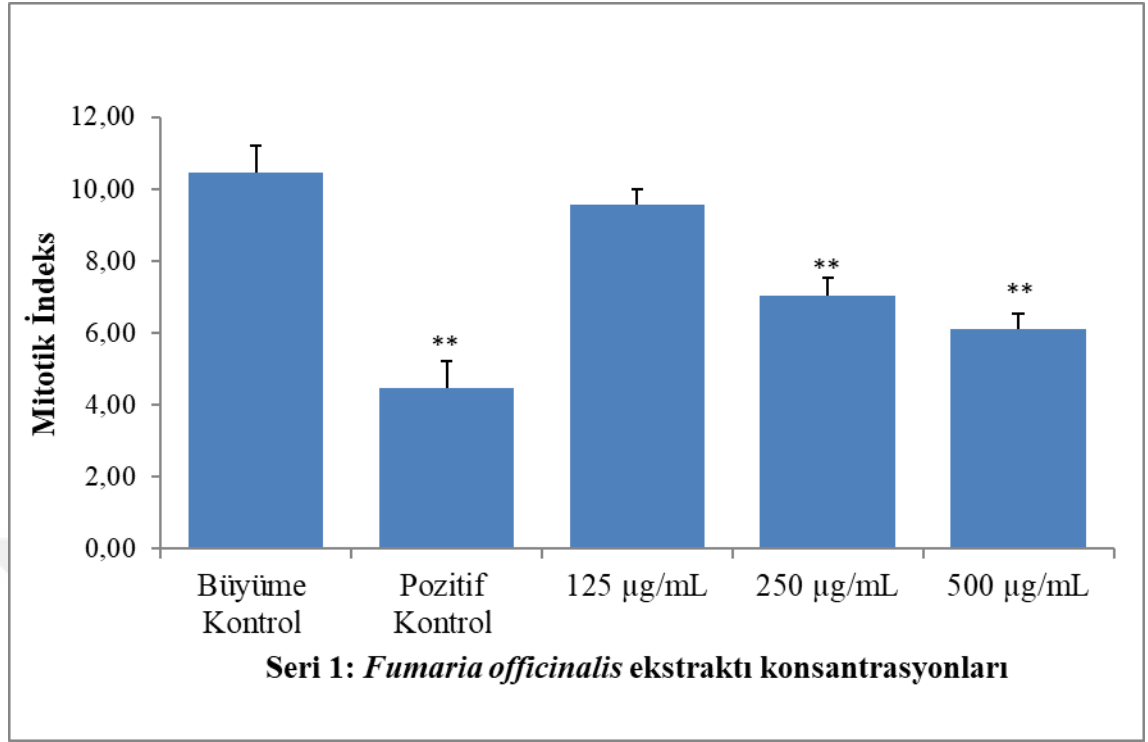
Mitotik indeks ve mitotik faz frekanslarını belirlemek için homojen olarak köklenmiş *A. cepa* yumrularından iki set oluşturulmuştur. Birinci seri kök uçları doğrudan farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen gruplar iken, ikinci seri, 30mM  $H_2O_2$  çözeltisine maruziyetten sonra farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen gruplardan oluşmaktadır. *Fumaria officinalis* ekstratı, kök ucu hücrelerine hem doğrudan, hem de bir saat süreyle 30mM  $H_2O_2$  çözeltisine maruziyette sonra farklı konsantrasyonlardaki mitotik indeks ve mitotik faz frekansları tablo 4.2 de vermiştir. Bölünen hücrelerin toplam gözlenen hücreler içindeki yüzdelik değerini belirten mitotik indeks ve yine toplam gözlenen hücreler içindeki bölünen hücrelerin mitotik faz frekanslarını belirlemek için her bir grup için preparat başı 1000 hücre olmak üzere toplamda 5000 hücre sayılmıştır.

Tablo 4.2. Farklı konsantrasyonlarda *Fumaria officinalis* ekstratlarının *A. cepa* kök ucu hücrelerindeki mitotik indeks ve mitotik faz frekanslarına etkileri (Seri 1: Sadece *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen grup, Seri 2: 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisine maruziyetten sonra *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen grup)

	Konsantrasyon (µg/mL)	Mitotik İndeks	Profaz (%)	Metafaz (%)	Anafaz (%)	Telofaz (%)
<b>Kontrol Grubu</b>	<b>Büyüme Kontrol</b>	10,46±0,66	29,83±3,5	36,23±4,23	17,46±3,69	16,47±1,98
	<b>Pozitif Kontrol</b>	4,48±0,66	20,63±1,68	46,03±2,29	18,72±0,79	14,6±1,55
<b>Seri 1</b>	<b>125</b>	9,58±0,36	28,55±2,24	33,79±3,27	20,08±2,10	17,57±3,99
	<b>250</b>	7,02±0,45	22,75±5,66	35,99±2,28	19,45±2,92	21,81±3,97
	<b>500</b>	6,1±0,37	26,51±2,33	33,50±1,34	20,27±2,46	19,71±2,87
<b>Seri 2</b>	<b>125</b>	5,18±0,43	23,05±2,09	46,67±2,27	16,12±1,60	14,53±3,69
	<b>250</b>	5,72±0,48	24,30±2,60	41,28±2,74	19,28±1,26	15,13±2,71
	<b>500</b>	6,02±0,73	25,38±2,55	42,04±6,24	16,13±2,61	13,40±3,41

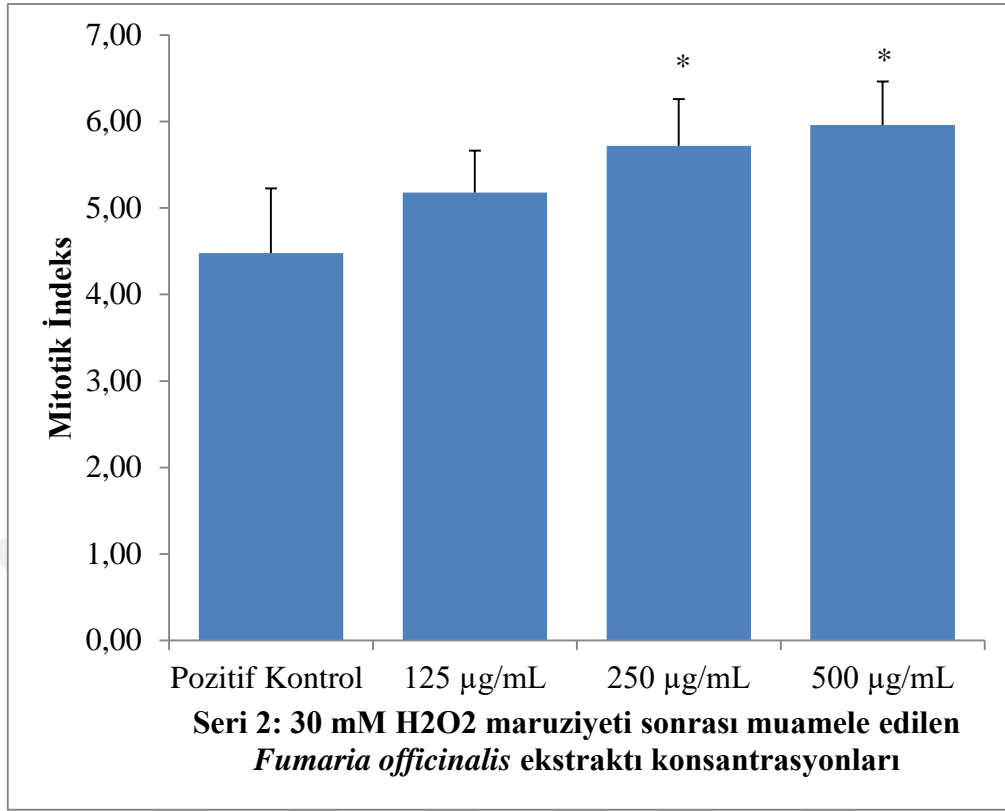
Mitotik indeks kontrol grubunda 10,46±0,66 iken, sadece farklı konsantrasyonlarda *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen 1. seride ise doz artışına bağlı olarak mitotik indeks 125 µg/mL konsantrasyonda 9,58±0,36, 250 µg/mL konsantrasyonda 7,02±0,45, 500 µg/mL konsantrasyonda 6,1±0,37'ye kadar düştüğü gözlenmiştir. Kök uçlarının doğrudan farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen gruplardan oluşan birinci seride doz artışa bağlı olarak mitotik indeks azaldığı saptanmıştır (P≤0,05) (Şekil 4.2.).





Şekil 4.2: *Fumaria officinalis* ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarında mitotik indeks ( $p < 0,05^*$ ,  $p < 0,01^{**}$ ,  $***$ Büyüme kontrol ile karşılaştırılmıştır)

Çalışmada pozitif kontrol olarak adlandırılan ve 30mM  $H_2O_2$  çözeltisine bir saat maruziyetten sonra  $dH_2O$  içerisinde 24 saat inkübasyona bırakılan kök uçlarındaki ortalama mitotik indeks  $4,48 \pm 0,66$  iken, yine aynı şekilde 30mM  $H_2O_2$ 'e maruziyet sonrası 24 saat süreyle farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen ikinci seride ise doz artışına bağlı olarak mitotik indeks 125 µg/mL konsantrasyonda  $5,18 \pm 0,43$ , 250 µg/mL konsantrasyonda  $5,72 \pm 0,48$ , 500 µg/mL konsantrasyonda  $6,02 \pm 0,73$  olarak gözlenmiştir. Pozitif kontrol grubu ile 30mM  $H_2O_2$ 'e maruziyet sonrası 24 saat süreyle farklı konsantrasyonlarda *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen gruplar arasında ortalama mitotik indeks bulguları istatistiksel olarak değerlendirildiğinde 250 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonda *Fumaria officinalis* ekstraktı ile muamele edilen gruplar arasındaki fark anlamlı bulunmuştur. ( $P \leq 0,05$ ) (Şekil 4.3.).



Şekil 4.3: 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maruziyeti sonrası *Fumaria officinalis* ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarında mitotik indeks (p<0,05\*, p<0,01\*\*, \*\*\*Pozitif kontrol ile karşılaştırılmıştır)

*Fumaria officinalis* ekstratının sırasıyla 125 µg/mL, 250 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonlarının hem normal hücrelerde meydana getirdiği genotoksik etkiler hem de 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisine maruz kalan kök uçlarında meydana gelen oksidatif hasarın onarılmasındaki etkisini belirlemek amacıyla elde edilen veriler tablo 4.3. te verilmiştir.

Mikronükleus sayısı bakımından, doğrudan farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen gruplar içerisinde doz artışına bağlı olarak anlamlı bir farklılık görülmemiştir (p≥0,05). H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi ile muamele sonrası farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratı ile muamele edilen gruplarla pozitif kontrol grubu mikronükleus sayısı bakımından değerlendirildiğinde, 250 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonlarda *Fumaria officinalis* ekstratı ile muamele edilen gruplarda MN sayısında istatistiksel olarak anlamlı düzeyde bir azalma meydana geldiği görülmüştür (P≤0,05).

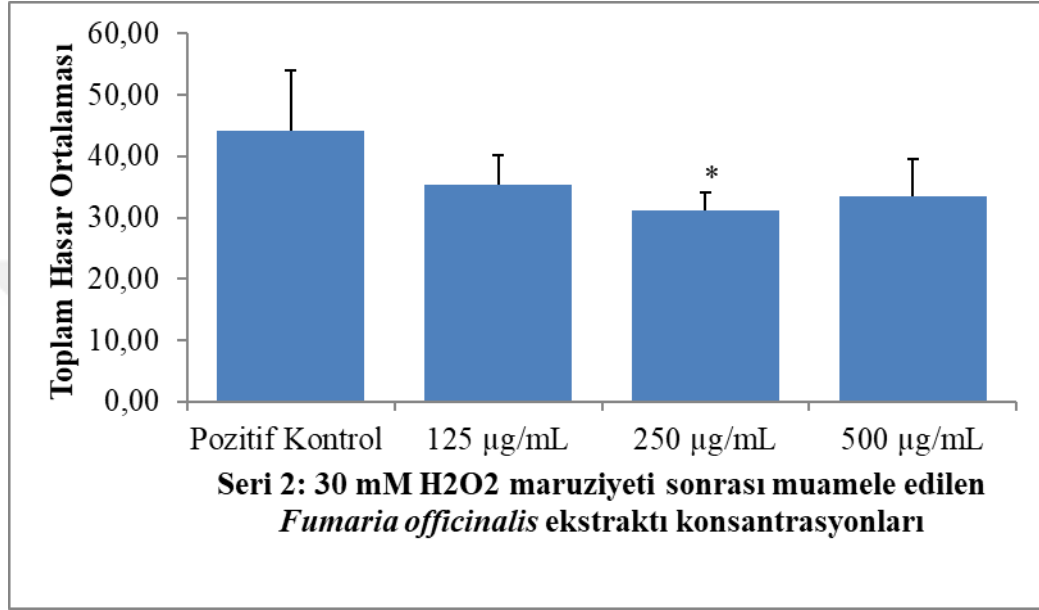
Tablo 4.3. *Fumaria officinalis* ekstratının farklı konsantrasyonlarının genotoksik ve antioksidan etkileri

	Kontrol grubu		Seri 1			Seri 2		
	Büyüme Kontrol	Pozitif Kontrol	125 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL	125 µg/mL	250 µg/mL	500 µg/mL
Anormalliler (Ortalama ±SS)								
Mikronükleus Sayısı	0,6±0,5	5,4±1,0	0,8±0,7	1,0±0,6	1,0±0,6	4,2±0,7	2,2±0,7	3±0,6
Yapışıklık Sayısı	2,6±1,4	9,4±3,3	3,4±0,5	4,8±1,2	5,2±1,6	6,6±1,0	6,6±1,2	7,0±1,8
İleri Gitmiş Kromozom Sayısı	1,6±1,0	2,2±1,2	1,6±1,0	1,2±0,4	1,2±0,4	2,0±1,1	2,0±1,1	2,0±0,6
Geri Kalmış Kromozom Sayısı	0,8±0,7	2,0±1,4	0,6±0,5	0,6±0,5	1±0,6	1,4±1,0	1,2±0,7	1,2±0,7
Kutup Kayması Sayısı	0,8±0,7	2,8±1,3	0,8±0,7	1,2±0,7	1,2±0,7	2,4±1,0	2,8±0,7	1,8±1,8
Anafazda Köprü Oluşumu	2,6±1,0	5,8±1,7	4,0±0,6	4,8±0,8	4,6±0,7	4,8±1,5	5,2±1,0	5,0±1,4
Fragment Sayısı	0,4±0,4	2,0±1,4	0,6±0,5	1,0±0,9	1,2±0,7	1,2±1,1	0,6±0,4	1,2±0,7
c-Mitoz Sayısı	1,2±0,7	4,8±1,5	1,0±0,6	2,6±1,0	2,6±0,9	4,2±0,7	2,8±0,7	2,8±0,7
Düzensiz Metafaz Sayısı	5,8±2,8	9,8±1,7	4,4±0,5	6,0±1,4	6,6±1,5	8,6±1,0	7,6±1,0	9,2±1,8
<b>Toplam</b>	16,4±5,6	44,2±8,8	17,2±2,1	23,2±2,0	24,6±2,8	35,4±4,3	31,2±2,5	33,4±5,6

Seri 1: Kök uçları doğrudan farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen gruplar. Seri 2: 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisine maruziyette sonra farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen gruplar

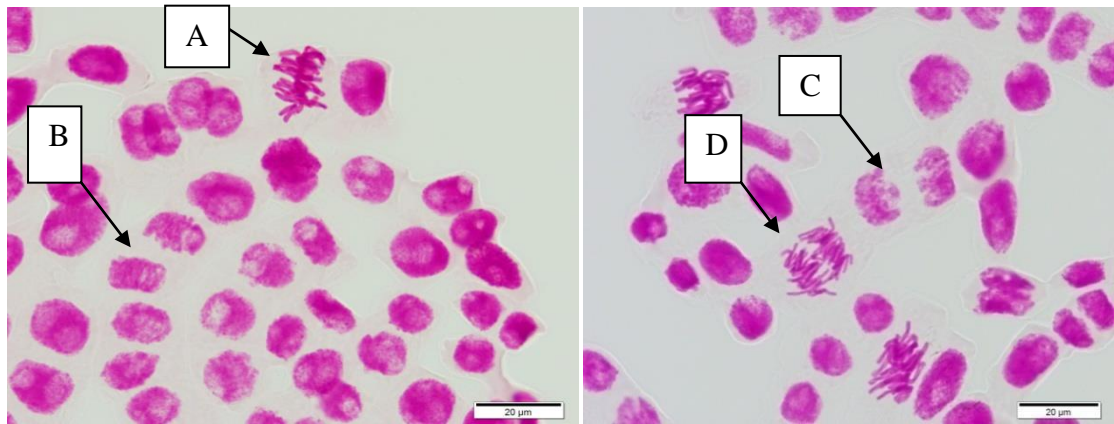
Yine toplam anomaliler bakımından gruplar kıyaslandığında 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisi ile muamele edilen grup ile diğer grup arasındaki fark anlamlı bulunmuştur (P≤0,05). 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisine maruziyetten sonra farklı konsantrasyonlardaki *Fumaria officinalis* ekstratları ile muamele edilen ikinci seride doz artışına bağlı olarak hem mikronükleus sayısında hemde toplam anomali miktarı bakımından bir azalma görülmektedir. 30mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltisine maruziyetten sonra distile suda 24 saat inkübe edilen pozitif kontrol grubunda toplam anomali sayısı ortalama 44,2±8,8 iken 30mM

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> çözeltilisine maruziyetten sonra *Fumaria officinalis* ekstratının 125 µg/mL, 250 µg/mL ve 500 µg/mL konsantrasyonlarında inkübe edilen kök uçlarındaki toplam anomali sayısı sırasıyla 35,4±4,3; 31,2±2,5; 33,4±5,6 olarak tespit edilmiştir (Şekil 4.4.).

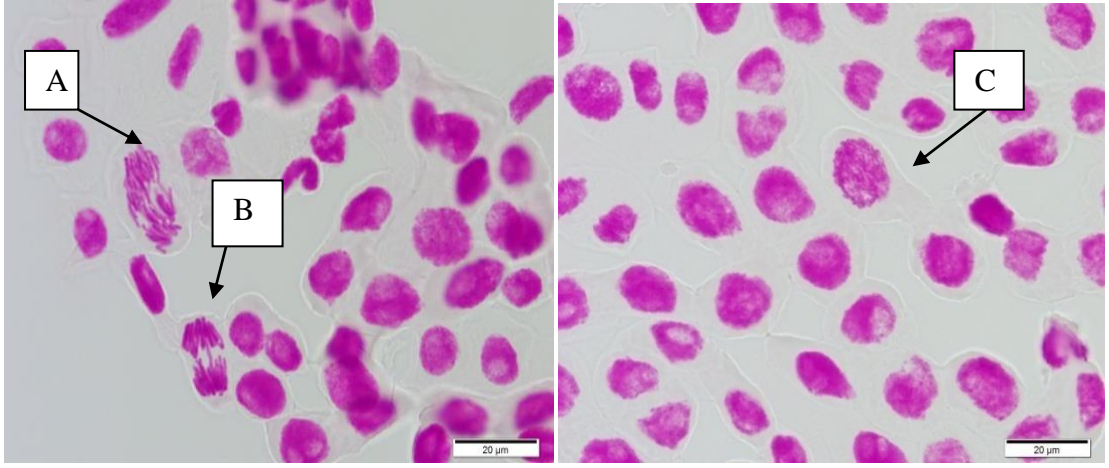


Şekil 4.4. 30 mM H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> maruziyeti sonrası *Fumaria officinalis* ekstratının farklı konsantrasyonlarıyla 24 saat boyunca muamele edilen kök uçlarında toplam hasar oranı (p<0,05\*, p<0,01\*\*, \*\*\*\*Pozitif kontrol ile karşılaştırılmıştır)

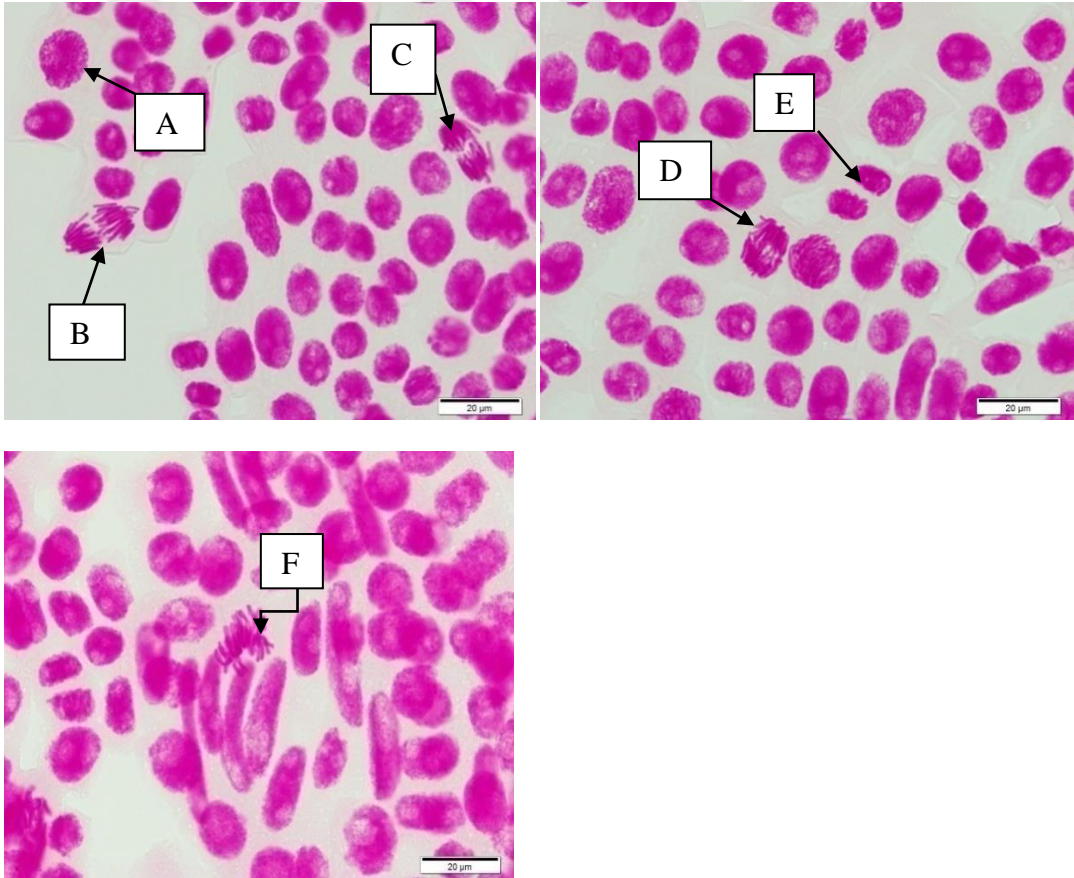
Yapılan dozlamalar sonucu *Allium cepa* kök uçlarından elde edilen preparat görüntüleri resim 4.1., 4.2., 4.3., 4.4., 4.5, 4.6., 4.7. ve 4.8.'de verilmiştir.



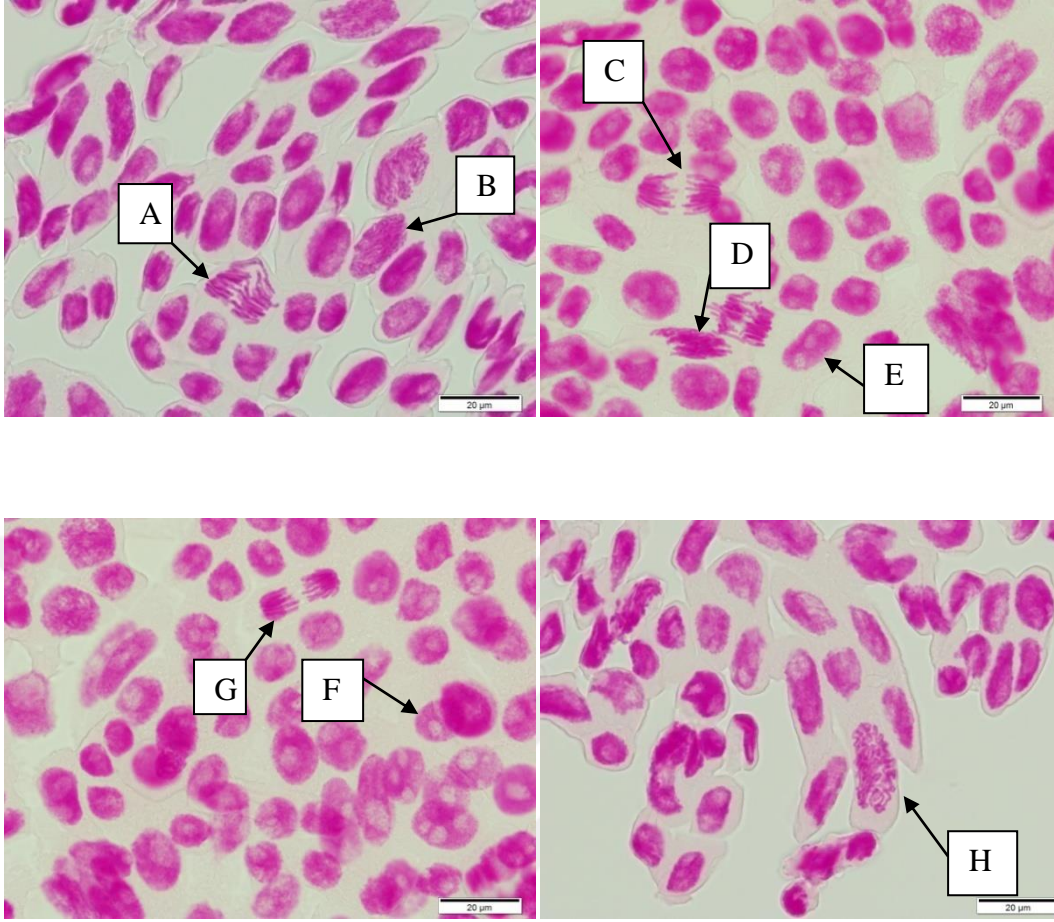
Resmi 4.1. A: Normal metafaz, B-C: Normal telofaz, D: Anafaz'da ileri gitme, (Normal-BK preparatlarına ait görüntüler)



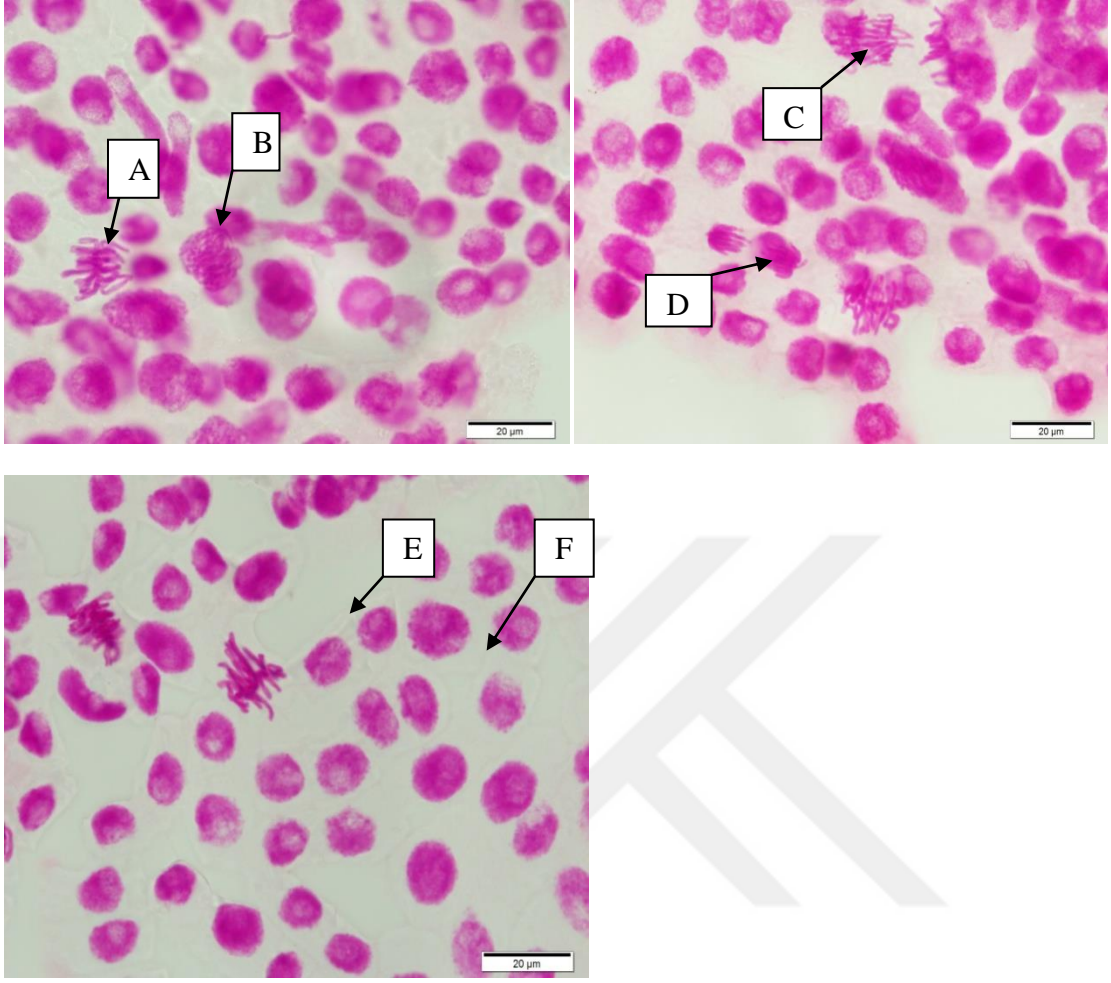
Resmi 4.2. A: Anafaz'da kutup kayması, B: Anafaz'da köprü oluşumu ve multipolarite, C: Normal profaz (Normal-BK preparatlarına ait görüntüler)



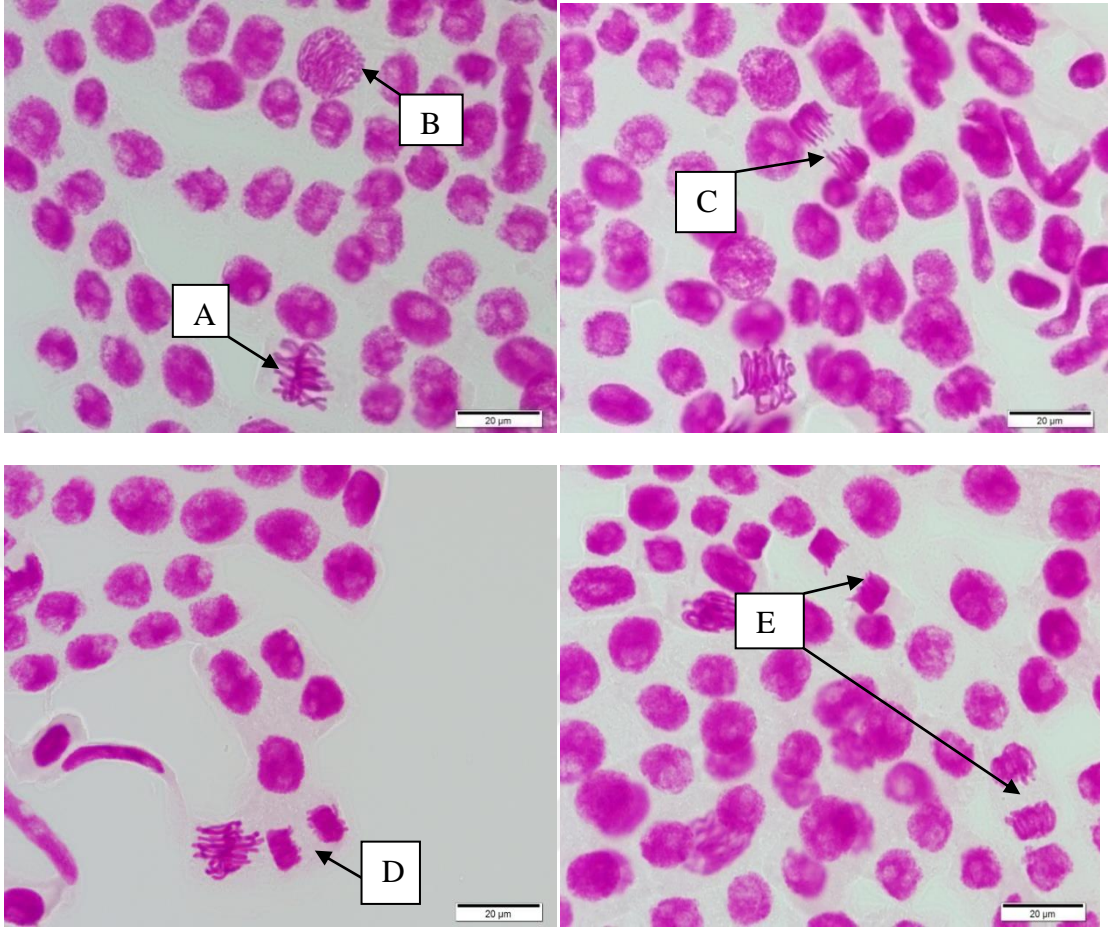
Resim 4.3. A: Normal profaz, B-C: Anafaz'da ileri gitme, D: Anafaz'da köprü oluşumu, E: Normal telofaz; F: Normal metafaz (Normal-0,125 dozuna ait preparat görüntüleri)



Resim 4.4. A: Kromozom kırığı, B-H: Normal profaz, C-G: Normal anafaz, D: Yapışıklık, E-F: Binükleat ( Normal-0,250 dozuna ait preparat görüntüleri)

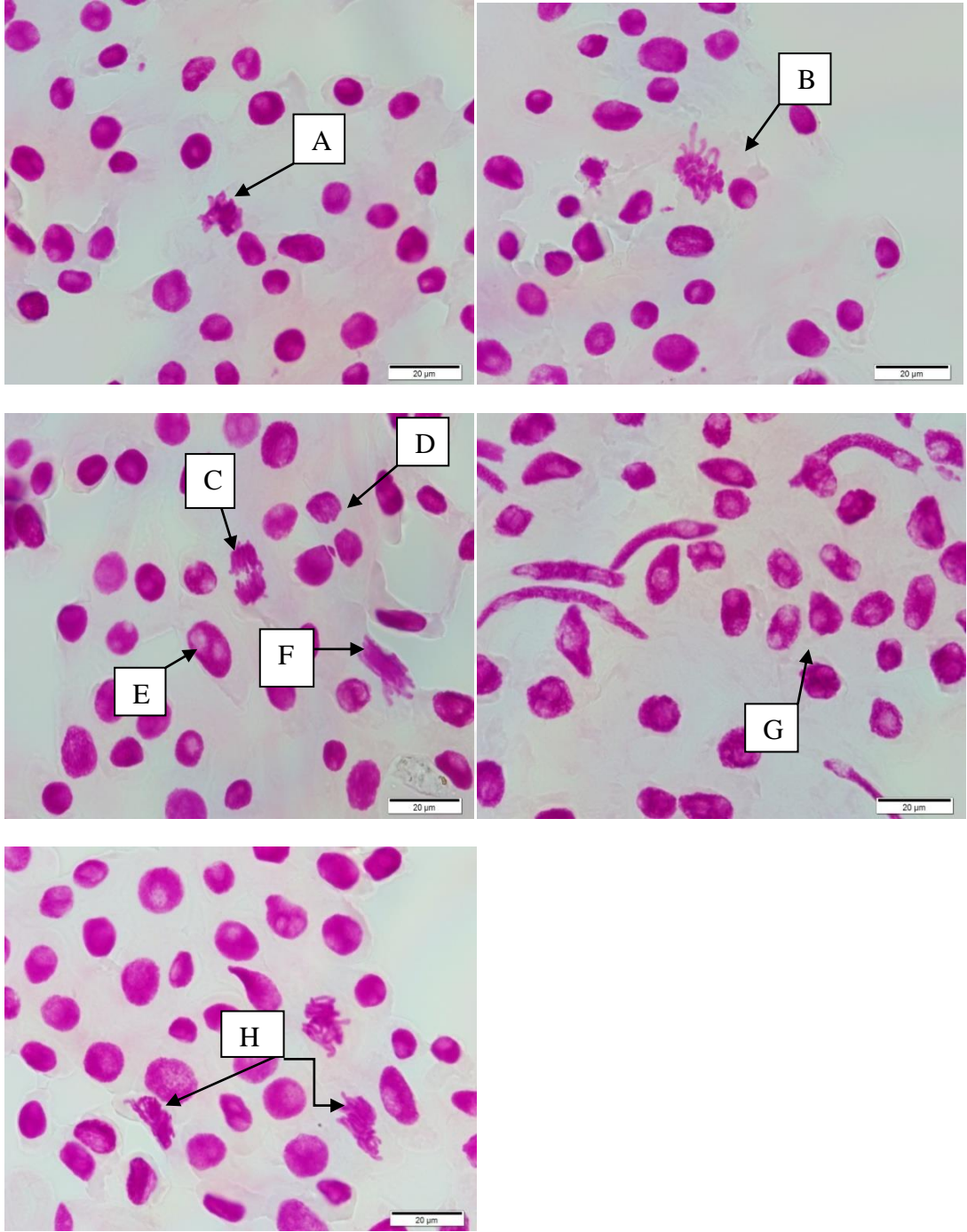


Resim 4.5. A-E-F: Normal metafaz, B: Profaz, C: Anafaz'da ileri ve geri gitme, multipolarite ve köprü oluşumu D: Normal anafaz (Normal- 0,500 dozuna ait preparat görüntüleri)

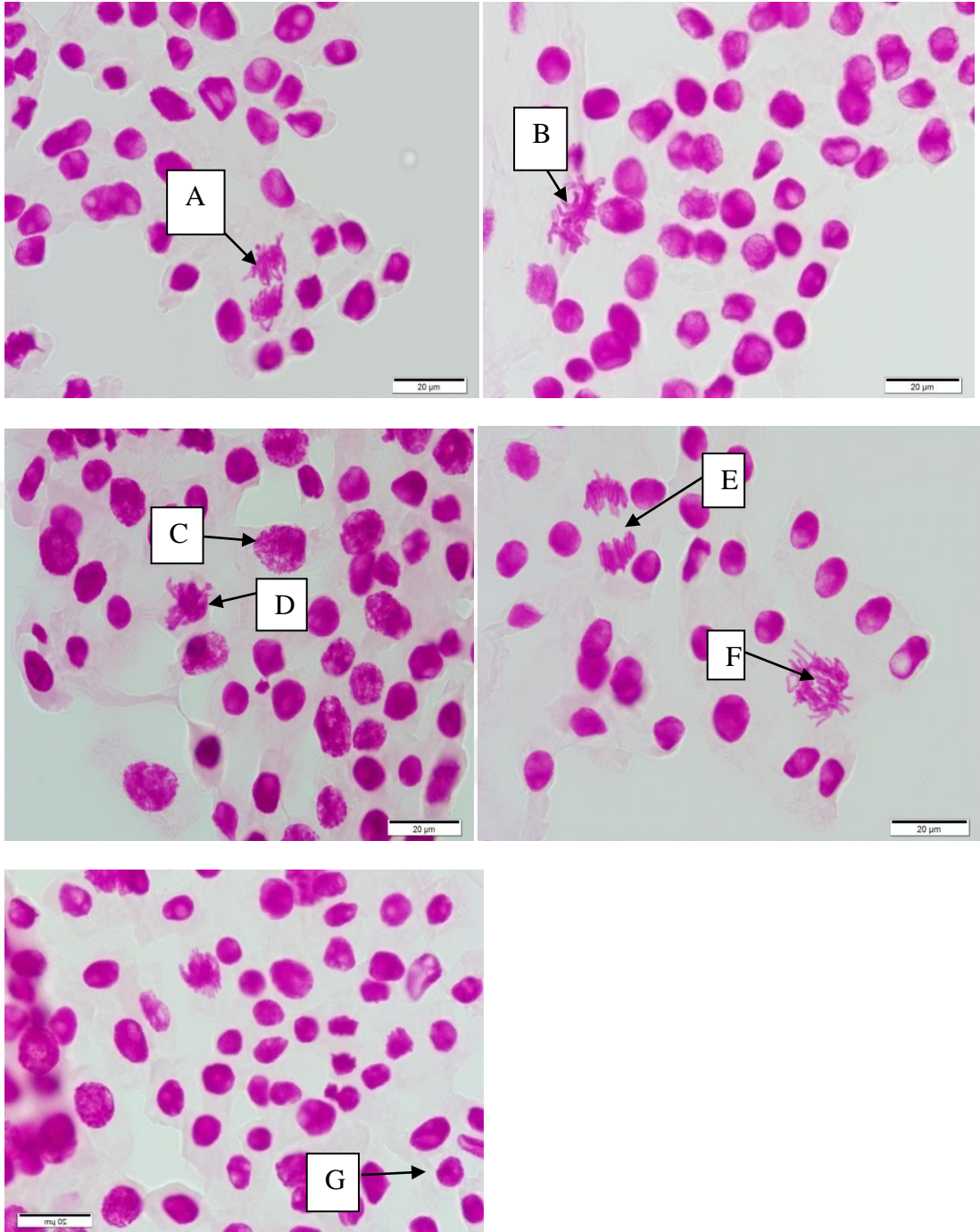


Resim 4.6. A: Metafaz, B: Profaz, C: Anafaz, D-E: Telofaz (Mix-BK dozuna ait preparat görüntüleri )

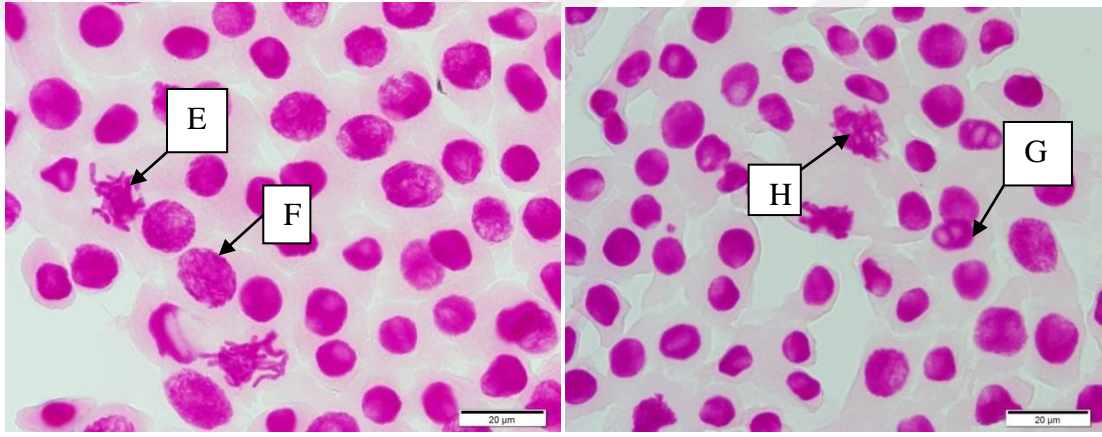
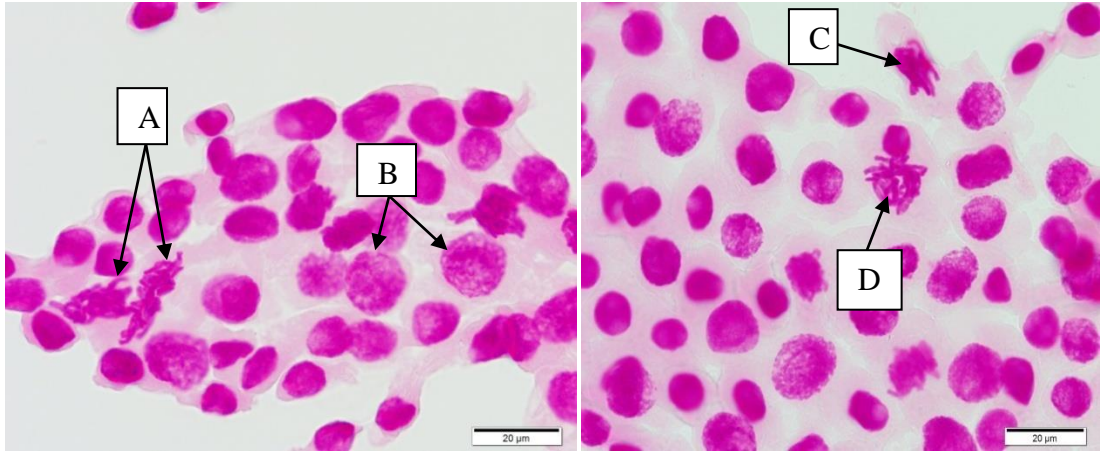




Resim 4.7.A-F-H: Yapışıklık, B: Genetik materyal kaybı, C: Anafaz'da köprü oluşumu, D: Telofaz, E-G: Binükleat ( Mix-0,125 dozuna ait preparat görüntüleri )



Resim 4.8. A: Anafaz'da kutup kayması ve ileri gitme, B: C-metafaz, C: Profaz, D: Yapışıklık, E: Normal telofaz, F: Yapısı bozulmuş anafaz, G: Binükleat (Mix-0,250 dozuna ait preparat görüntüleri)



Resim 4.9. A-C-D-E: Yapışıklık, B-F: Profaz, H: Yapısı bozulmuş anafaz ve yapışıklık, G: Binükleat (Mix-0,500 dozuna ait preparat görüntüleri)

## 5. BÖLÜM

### TARTIŞMA ve SONUÇ

Serbest radikallere karşı savunma işlevi gören maddeler antioksidanlar olarak tanımlanabilir ve oksidasyon reaksiyonunu inhibe ederek hücreyi korurlar. Bu öneminden dolayı günümüze kadar potansiyeli yüksek olan antioksidan bileşik kaynakları, baharatlar, tahıl bitkileri, meyveler, tohumlar, yağlı sebzeler, yapraklar, kökler, ham bitki ilaçları, kabuklar, otlar gibi birçok bitki materyali araştırmaya konu olmuştur [71].

İnsanlardaki antioksidan savunma sistemi uzun yıllardır çalışılmış ve bu sistemin zararlı bir oksijen ortamında var olan yenilenebilir enzim ve bileşikleri içerdiği bilinmektedir. Bu özelliğe rağmen antioksidan sistemlere, antioksidan bileşikleri içeren besinlerle ilave destek verilmesi oldukça önemlidir [72]. Böylece, doğal gıda maddelerinin doğal antioksidan bileşik içeren bileşenleri, sentetik antioksidanlara tercih edilmesini sağlamaktadır. Ayrıca doğal gıda ürünlerinin insan sağlığı üzerinde herhangi bir risk oluşturmadığı ve antioksidan etkilerinin varlığının tespiti önemli hale gelmiştir [73, 74]. *Fumaria officinalis*'in de aktarlarda kolayca bulunabilmesi ve yöre halkı tarafından sıklıkla kullanılması bu bitkinin antioksidan etkisinin araştırılmasında önemli olmuştur.

Papaveraceae familyası, özellikle aporfin, benzofenantridin, protoberberin ve protopin türleri olmak üzere izokinolin alkaloidleri açısından çok zengindir. *Fumaria officinalis*, protopin içinde ifade edilen izokinolin alkaloidleri içermektedir. Böylece, geleneksel tıpta idrar söktürücü, müshil olarak, cilt hastalıkları, sistit, romatizma, artrit ve karaciğerin tedavisi için kullanılmaktadır[75].

Yapılan literatür araştırmalarında *Fumaria officinalis*'in antioksidan özelliklerinin *Allium testi* kullanılarak araştırıldığı bir çalışmaya rastlanılmamıştır ancak kimyasal yöntemlerle antioksidan aktivite ve bitki içeriğindeki maddelerin tespit edildiği ve aynı familyada yer alan *Fumaria* cinsine ait farklı türlerde antioksidan aktivitenin varlığı gösterilmiştir [75]. Bu türlere örnek olarak *Fumaria jankae*, *Fumaria vailantii*, *Fumaria schleicheri*, *Fumaria rostellata*, *Fumaria capreolata* *Fumaria thuretii*,

*Fumaria kralikii*, *Fumaria rostellata* ve *Fumaria schrammii* verilebilir [75, 76]. Yapılan çalışmalarda bu bitkilerin tümünde antioksidan etkinin varlığı saptanmıştır. Çalışmamızda *F. officinalis*'in hidrojen peroksit etkisinde bırakılan soğan yumrularının allium testi ile antioksidan etkisi belirlenmiştir. Bu sonuç, önceki çalışmalarla uyumlu verilerin elde edildiğini göstermektedir.

Çalışmamızda *Fumaria officinalis* ekstraktı, belirlenen dozlarda soğan kök uçlarına uygulanmış ve EC50 değeri belirlenmiştir. Uygulanan dozlarda genetik hasarın oluşum miktarında anlamlı bir artış gözlenmemiştir. Ancak H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>'ye maruziyet sonrasında distile su içerisinde inkubasyona bırakılan soğanlar ile hidrojen peroksit muamelesi sonrasında artan dozlarda *Fumaria officinalis* ekstraktına maruz bırakılan gruplar karşılaştırıldığında, artan dozlarda *Fumaria officinalis* ekstraktı uygulamasına bağlı olarak mitotik indekste bir artış tespit edilmiştir. Bu durum bitkide bulunan çeşitli sekonder metabolitlerin etkisi ile açıklanabilir.

Metot olarak, hidrojen peroksitin uygulanış şekli ön muamele ya da geç muamele şeklinde olabilmektedir. Ön muameledeki amaç, hasar oluşturarak uygulanacak bitki ekstraktının genetik hasar onarımına katkısını incelemektir. Geç muameledeki amaç ise, önce uygulanan bitki ekstraktının hidrojen peroksitin olumsuz etkisini ortadan kaldırmaya çalışan protektif etkisini ortaya çıkarmaktır. Buna göre ön muamelede sonuç olarak serbest radikal önleme aktivitesi, DNA gibi moleküllerin korunması, antioksidan enzim sentezinin uyarılması ve antioksidan kapasitesinin artırılması meydana gelebilir. Geç muamele, uygulanan ekstraktın genetik hasarı onarabilme yeteneği hakkında bilgi sağlar. Ayrıca bu uygulamanın, oksidatif strese yanıtta rol oynadığı sonucuna ulaşılmaktadır [77]. Çalışmamızda, geç muamele uygulanmıştır. 48 saat süreyle köklenmeye bırakılan soğan yumruları, bir saat süresince 30 mM hidrojen peroksit maruz bırakıldıktan sonra *Fumaria officinalis* ekstraktının artan dozlarına maruz bırakılarak ekstraktın oksidatif stresin meydana getirdiği genetik hasarı onarabilme etkinliği gösterilmiştir. Hidrojen peroksit muamelesi sonrasında artan dozlarda *Fumaria officinalis* ekstraktına maruz bırakılan gruplarda hidrojen peroksit tarafından meydana getirilen genetik hasarın azaldığı saptanmıştır.

Endojen kaynaklı hidrojen peroksit, hücresel solunum gibi çeşitli fizyolojik ve patolojik süreçlerle üretilmekte ve çok sayıda genotoksik etkinin oluşumundan sorumludur. Hidrojen peroksitin verdiği genetik hasar tipleri arasında DNA tek iplik kırıkları, kromozom aberasyonları ve gen mutasyonları sayılabilir [78].

Çalışmamızda kullanılan *Fumaria officinalis* ekstraktının hidrojen peroksitin oluşturduğu oksidatif strese karşı onarıcı etkisi belirlenmiştir. Sonuç olarak, ileri çalışmalarda bitki ekstraktının içeriğinin belirlenmesi ve içeriği oluşturan moleküllerin hasarı onarmadaki ana yolların tespiti önerilebilir.



## KAYNAKLAR

1. Tulukcu, E., Sağdıç, O., “Konya’da aktarlarda satılan tıbbi bitkiler ve kullanılan kısımları”, *Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 27(4), 304-308, 2011.
2. Macar, O., Macar, T., “Tıbbi bitkilerin genotoksisitesinin *Allium cepa* testi kullanılarak belirlenmesi”, *Fen ve Matematik Bilimleri Teori, Güncel Araştırmalar ve Yeni Eğilimler*, s.21, 2020.
3. Özenç, B., “*Fumaria officinalis*’ un antioksidan aktivitesinin belirlenmesi”, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.1-9, Konya, 2011.
4. Topçu, S., “L-name ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda *Fumaria officinalis* ekstraktının kan basıncına etkisi”, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.1-2, Aydın, 2017.
5. Kutluer, F., Çavuşoğlu K., Yalçın, E., “Deltametrin’in *Allium cepa L.*’daki fizyolojik, anatomik ve genotoksik etkilerinin araştırılması”, *Düzce Üniversitesi Bilim ve Teknoloji Dergisi*, 7, s.961-972, 2019.
6. Velayutham, M., Hemann, C., Zweier, J. L., “Removal of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and generation of superoxide radical: Role of cytochrome c and NADH”, *Free Radical Biology and Medicine*, 51, 1, 160-170, 2011.
7. Aruoma, O., “Free radicals, oxidative stress, and antioxidants in human health and disease”, *J Amer Oil Chem Soc*, 75(2):199-212, 1998.
8. Obeagu, E. I., “A Review on Free Radicals and Antioxidants”, *Int. J. Curr. Res. Med. Sci.*, 4(2): 123-133, 2018.
9. Alkadi, H., “A Review on Free Radicals and Antioxidants”, *Infectious Disorders - Drug Targets*, 20(1), 16-26, 2020.
10. McCord, J.M., “Human Disease, Free Radicals and the Oxidant/Antioxidant Balance”, *Clin. Biochem.*, 26, 351–357, 1993.
11. Özcan, O., Erdal, H., “Oxidative stres and its impacts on intracellular lipids, preteins and DNA”, *Journal of Clinical and Experimental Investigations*, 6(3), 331-336, 2015.
12. Lushchak, V.I., “Free radicals, reactive oxygen species, oxidative stress and its Classification”, *Chemico-Biological Interactions*, 224, 164–175, 2014.

13. Smiljic, S., Vojkan, N., “Modulatory role of nitric oxide in cardiac performance”, *Medicinski pregled*, 67 (9-10), 345-352, 2014.
14. Uguzlar, H., “Antalya’da yetişen *Araceae arum*’un antioksidan aktivitesi ve toplam fenolik madde tayini, *Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, 1-28, 45-49, 70-73, 2009.
15. Küçük, L., “Yaprak kıvrılmasının düzenlenmesinde dehidrin seviyesi ile hidrojenperoksit ve süperoksit arasındaki ilişkinin araştırılması”, *Karadeniz Teknik Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.16-17, Trabzon, 2019.
16. Hilooğlu, M., “*Cladonia foliacea* liken ekstraktının H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> tarafından hasar görmüş *Allium cepa* kök ucu hücreleri üzerindeki koruyucu rolü”, *Yozgat Bozok Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü*’s.1, Yozgat, 2019.
17. Özkan, M., Kırca, A., “Applications of hydrogen peroxide in foods”, *Gıda*, 26(1), s.17-24, 2001.
18. Horvathova, E., Eckl, P.M., Bresgen, N., Slamenova, D., “Evaluation of genotoxic and cytotoxic effects of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> and DMNQ on freshly isolated rat hepatocytes; protective effects of carboxymethyl chitin-glucan”, *Neuro Endocrinol Lett.*, 29(5),644-648, 2008.
19. Karabulut, H., Gülay, M.Ş., “Serbest Radikaller”, *Mehmet Akif Ersoy Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 4(1), 50-59, 2016.
20. Aksoy, Y., “The Role of Glutathione in Antioxidant Mechanism”, *T. Klin J. Med Sci*, 22, 442-448, 2002.
21. Şener, G., Yeğen, B., “İskemi Perfüzyon Hasarı”, *Klinik Gelişim*, 22(3), 5-13, 2009.
22. Lobo, V., Patil, A., Phatak, A., Chandra, N., “Free radicals, antioxidants and functional foods: Impact on human health”, *Pharmacogn Rev.*, 4(8):118-126, 2010.
23. Akpoyraz, M., Durak, İ., “Serbest radikallerin biyolojik etkileri”, *Ankara Tıp Mecmuası (The Journal of the Faculty of Medicine)*, 48, 253-262, 1995.
24. Uysal, M., “Serbest radikaller, lipid peroksidleri ve organizmada prooksidan dengeyi etkileyen koşullar”, *Klinik Gelişim*, 11(1-2), 336-41, 1998.
25. Konukoğlu, D., “Serbest radikaller ve önemleri”, *Aile Hekimliği Dergisi*, 1(4), 197-200, 1997.



26. Lü, J.M., Lin, P.H., Yao, Q., Chen, C., “Chemical and molecular mechanisms of antioxidants: experimental approaches and model systems”, *J Cell Mol Med.*, 14(4):840-860, 2010.
27. Baran, F., “Diyetisyenden destek alan bireylerin antioksidan konusundaki bilgi durumları ve antioksidan içeriği zengin gıdaların tüketilme durumlarının değerlendirilmesi”, *Gazi Üniversitesi Eğitim Bilimleri Enstitüsü*, s.11-26, Ankara, 2019.
28. Azab, A.E., Adwas, A.A., Elsayed, A.S.I., Quwaydir, F.A., “Oxidative stress and antioxidant mechanisms in human body”, *J Appl Biotechnol Bioeng.* 6(1):43-47, 2019.
29. Sezen, C., “Karaman bölgesinde üretilen balların bazı antioksidan ve mineral madde içeriklerinin araştırılması”, *Karamanoğlu Mehmetbey Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Fen Bilimleri ve Teknolojileri Anabilim Dalı, Yüksek Lisans Tezi*, s.27-29, Karaman, 2020.
30. Mbah, C.J., Orabueze, I., Okorie, N. H., “Antioxidants Properties of Natural and Synthetic Chemical Compounds: Therapeutic Effects on Biological System”. *Acta Scientific Pharmaceutical Sciences*, 3(6), 28-42. 2019.
31. Mayer, M., “Association of Serum Bilirubin Concentration with Risk of Coronary Artery Disease” , *Clinical Chemistry*, 46(11), 1723-1727, 2000.
32. Alkın, E., “Laktoferrin ve Gıdalarda Kullanımı”, *Gıda ve Yem Bilimi Teknolojisi*, 10, 31-35, 2008.
33. Quinlan, G.J., Martin, G.S., Evans T.W., “Albumin: Biochemical properties and therapeutic potential”, *Hepatology*, 41(6), 1211-1219, 2005.
34. Hellman, N.E., Githin, J.D., “Ceruloplasmin Metabolism and Function”, *Annual Review of Nutrition*, 22, 439-458, 2002.
35. Ross, L., Barclay, C., “Partitioning and antioxidant action of the water-soluble antioxidant, trolox, between the aqueous and lipid phases of phosphatidylcholine membranes: C tracer and product studies”, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1237, 77-85, 1995.
36. Şekeroğlu, Z., Şekeroğlu, V., “Genetik Toksikite Testleri”, *Tübav Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229, 2011.

37. Saygı, Ş., “Deneysel Toksikolojide Toksikite Testleri ve Test Sonuçlarının Önemi”, *Gülhane Tıp Dergisi*, 45(3), 291-298, 2003.
38. Vural, N., “Toksikoloji”, *Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları*’, 73, 20-104,2005.
39. Uysal, İ., “Akrep Zehirinin Balık Üzerinde Median Lethal Doz (LD<sub>50</sub>) Oranının Belirlenmesi”, *Gaziantep Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.9-11, Gaziantep, 2014.
40. Jiang, X., Kopp-Schneider, A., “Summarizing EC50 estimates from multiple dose-response experiments: a comparison of a meta-analysis strategy to a mixed-effects model approach”, *Biometrical Journal*, 56(3), 493-512, 2014.
41. Nagarathna, P.K.M., Wesley, M. J., Reddy, P. S., Reena, K., “Review on Genotoxicity, its Molecular Mechanisms and Prevention”, *Int. J. Pharm. Sci. Rev. Res.*, 22(1), 236-243, 2013.
42. Demircigil, G.C., Emerce, E., Ulutas, O.K., “Genotoxicity Tests from Biomarker Studies to the Regulations: National Perspective”, *FABAD J. Pharm. Sci.*, 34, 217–232, 2009.
43. Demirel, S., Zamani, A., “Mikronükleus tekniği ve kullanım alanları”, *Genel Tıp Dergisi*, 12(3), s.123-127, 2002.
44. Topal, T., Öter, Ş., “Melatonin ve Kanserle İlişkisi”, *Genel Tıp Dergisi*, 19(3), 137-143, 2009.
45. Kasurka, C., “Antihistaminik ilaç olarak kullanılan Feksofenadin etken maddesinin insan periferel lenfositleri üzerindeki genotoksik etkileri”, *Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.11-13, Ordu, 2010.
46. Khanna, N., Sharma, S. “Allium Cepa Root Chromosomal Aberration Assay: A Review”, *Indian J. Pharm. Biol. Res.*, 1 (3),105-119, 2013.
47. Fiskesjö, G., “The Allium test as a standard in environmental monitoring”, *Hereditas*, 102(1):99–112, 1985.
48. Barbério, A., Voltolini, J.C., Mello, M.L.S., “Standardization of bulb and root sample sizes for the Allium cepa test”, *Ecotoxicology*, 20:927–935, 2011.
49. Özkan, S., “Penoksulam’ın *Allium cepa L.* kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik ve genotoksik etkileri”, *Uşak Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.24, Uşak, 2019.

50. Tütüncü, E., “*Allium cepa L.*’ da bir karbamat insektisit metiokarb’ın toksik etkilerinin araştırılması”, *Giresun Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.7, Giresun, 2019.
51. Çıldır, D.S., “İmazalilin *Allium cepa L.* kök meristem hücreleri üzerine sitogenetik ve genotoksik etkileri”, *Uşak Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.24, Uşak, 2020.
52. Akbar, S., “*Fumaria officinalis L.*”, *Handbook of 200 Medicinal Plants*, s.947-953, 2000.
53. Seyed, S., Shain, A., “Ethno-botanical, Bioactivities and Medicinal Mysteries of *Fumaria officinalis*”, *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Sciences*, 5(11), s.857-862, 2015.
54. Fıloğh, A., “Şahtere otunun gökkuşağı alabalığının (*Oncorhynchus mykiss*) büyüme performansı, kan parametreleri, immün sistem ve antioksidan enzimler üzerine etkisi”, *Kastamonu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi*, s.32-34, Kastamonu, 2019.
55. Şener, B., “Türkiyede yetişen *Fumaria L.* Türleri ve bu türlerin alkaloidleri üzerinde araştırmalar”, *Ankar a Ecz . Fak. Mec .*, 12, s.83-85, 1982.
56. Özer, H., Çoban, F., “Doğu Anadolu Bölgesinin Önemli Tıbbi-Aromatik Bitkileri”, *Erciyes Tarım ve Hayvan Bilimleri Dergisi*, 3(1), s.16-23, 2020.
57. Sharma, U. R., Surendra, V., Jha, S.K., Chauhan, N. S.,Prakash T., Goli, D., “Evaluation of Ant-inflammatory Activity of *Fumaria Officinalis* Linn. Herb Extract on Experimental Animal”, *International Journal of Pharmagenesis*, 1(1), 107-111, 2010.
58. Aveen, N., “Cytotoxicity and apoptosis induction by *Fumaria officinalis* extracts in leukemia and multiple myeloma cell lines”, *Journal of Ethnopharmacology*, 266, 2020.
59. Al-Snafi, A., “Constituents and Pharmacology of *Fumaria officinalis*-A Review”, *IOSR Journal of Pharmacy*, 10(1), s.2319-4219, 2020.
60. Shaheedha, S., “In vitro cellular reprogramming and antioxidant potential of herbal drug: *Fumaria officinalis*”, *Current Trends in Biotechnology & Pharmacy*, 2, s.16-17, 2020.

61. Hentschel, C., Dressler, S., “*Fumaria officinalis*-clinical applications”, *National Library of Medicine*, 113(19), s.291, 1995.
62. Dutta, R., Mukesh K., “Phytochemical and in vitro antioxidant assay of *Fumaria officinalis* leaf extract”, *Journal of Advanced Scientific Research*, 11(3), s.176-182, 2020.
63. Uniyal, S., Singh, K., “Traditional use of medicinal plants among the tribal communities of Chhota Bhangal, Western Himalaya”, *Journal of Ethnobiology and Ethnomedicine*, 14(2), s.1-8, 2006
64. Yapıcı, Ü., Hoşgören, H., “Kurtalan (Siirt) ilçesinin etnobotanik özellikleri”, *Dicle Üniversitesi Ziya Gökalp Eğitim Fakültesi Dergisi*, 12, 191-196, 2009.
65. Sarı, A.O., Oğuz, B., Bilgiç, A., “Ege ve Güney Marmara Bölgelerinde Halk İlacı Olarak Kullanılan Bitkiler”, *Anadolu*, 20(2), s.5-21, 2010.
66. Serpi, M., Özdemir, Z., Salman, Y., “Bazı bitki ekstraktlarının *Propionibacteriu acnes* üzerine antibakteriyel etkilerinin araştırılması”, *KSÜ Doğa Bilimleri Dergisi*, 15(1), s.7-11, 2012.
67. Orhan, İ., Şener, B., Musharraf, S.G., “Antioxidant and hepatoprotective activity appraisal of four selected *Fumaria* species and their total phenol and flavonoid quantities”, *Experimental and Toxicologic Pathology*, 64(3), s.205-209, 2012.
68. Turan, Ş., “Ülkemizde yaygın olarak kullanılan bazı tıbbi bitkilerin yapraklarında ağır metal ve mineral besin element içeriklerinin tayini”, *Marmara Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.194-200, İstanbul, 2014.
69. Etikan, S., Ölmez, F.N., “Fethiye’de Bitkisel Boyamacılık Geleneği ve Günümüzdeki Durumu”, *Kalemişi-Türk Sanatları Dergisi*, 2(4), s.54-71, 2014.
70. Topçam, S., “L- name ile hipertansiyon oluşturulan sıçanlarda *fumaria officinalis* ekstraktının kan basıncına etkisi”, *Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Yüksek Lisans Tezi*, s.28-31, Aydın, 2017.
71. Kocabaş S., “Yayla üvezi (*Sorbus subfusca* (Ledeb. Ex Nordm.) Boiss.) ekstraktlarının antioksidan kapasitelerinin belirlenmesi”, *Gümüşhane Üniversitesi / Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Gümüşhane, 2021.
72. Davies, K.J.A., “Oxidative stress, antioxidant defenses, and damage removal, repair, and replacement systems”, *International Union of Biochemistry and Molecular Biology Life*, 50, 279-289, 2000.

73. Shahidi, F., Wanasundara, U., “Effect of natural antioxidants on the stability of canola oil”, *Developments in Food Science*, 37, 469-479, 1995.
74. Shahidi, F., Ambigaipalan, P., “Phenolics and polyphenolics in foods, beverages and spices: Antioxidant activity and health effects-A review”, *Journal of Functional Foods*, 18, 820-897, 2015.
75. Păltinean, R., Mocan, A., Vlase, L., Gheldiu, A.M., Crisan, G., Ielciu, I., Voștinaru, O., Crisan, O., “Evaluation of polyphenolic content, antioxidant and diuretic activities of six *fumaria* species”, *Molecules*, 22(4), 639, 2017.
76. Ivanov, G.I., Vrancheva, R.Z., Marchev, A.S., Petkova, N.T., Aneva, I.Y., Denev, P.P., Georgiev, V.G., Pavlov, A.I., “Antioxidant activities and phenolic compounds in Bulgarian *Fumaria* species”, *Int.J.Curr.Microbiol.App.Sci*, 3(2), 296-306, 2014.
77. Tuncay, B., “Vermikompostun genotoksik ve antigenotoksik etkilerinin bitki doku kültüründe allium testi ile incelenmesi”, *Gazi Üniversitesi, Fen Bilimleri Enstitüsü Yüksek Lisans Tezi*, Ankara, 2021.
78. Aprotosoiaie, A. C., Luca, V. S., Trifan, A., and Miron, A., “Antigenotoxic potential of some dietary non-phenolic phytochemicals”, *In Studies in natural products chemistry*, 60, 223-297, 2019.