

**İNDÜKLENMİŞ DNA HASARINA KARŞI
Momordica charantia EKSTRESİNİN
ETKİLERİ**

Emre ÖZGÜL

DANIŞMAN

Doç.Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Temmuz, 2014

AFYON KOCATEPE ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

YÜKSEK LİSANS TEZİ

İNDÜKLENMİŞ DNA HASARINA KARŞI

***Momordica charantia* EKSTRESİNİN ETKİLERİ**

Emre ÖZGÜL

DANIŞMAN

Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

BİYOLOJİ ANABİLİM DALI

Temmuz 2014

TEZ ONAY SAYFASI

Emre ÖZGÜL tarafından hazırlanan “**İNDÜKLENMİŞ DNA HASARINA KARŞI *Momordica charantia* EKSTRESİNİN ETKİLERİ**” adlı tez çalışması lisansüstü eğitim ve öğretim yönetmeliğinin ilgili maddeleri uyarınca 15/07/2014 tarihinde aşağıdaki jüri tarafından oy birliği/oy çokluğu ile Afyon Kocatepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü **Biyoloji Anabilim Dalı’nda YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Danışman : Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Başkan : Doç. Dr. Safiye Elif KORCAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,

Üye : Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,

Üye :Yrd. Doç. Dr. Ömer HAZMAN
Afyon Kocatepe Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi,

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü Yönetim Kurulu’nun

...../...../..... tarih ve

.....sayılı kararıyla onaylanmıştır.

Prof. Dr. YILMAZ YALÇIN

Enstitü Müdürü

BİLİMSEL ETİK BİLDİRİM SAYFASI

Afyon Kocatepe Üniversitesi

**Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım
bu tez çalışmasında;**

- Tez içindeki bütün bilgi ve belgeleri akademik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
- Görsel, işitsel ve yazılı tüm bilgi ve sonuçları bilimsel ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
- Başkalarının eserlerinden yararlanılması durumunda ilgili eserlere bilimsel normlara uygun olarak atıfta bulunduğumu,
- Atıfta bulunduğum eserlerin tümünü kaynak olarak gösterdiğimi,
- Kullanılan verilerde herhangi bir tahrifat yapmadığımı,
- Ve bu tezin herhangi bir bölümünü bu üniversite veya başka bir üniversitede başka bir tez çalışması olarak sunmadığımı

beyan ederim.

15/07/2013

Emre ÖZGÜL

ÖZET

Yüksek Lisans Tezi

İNDÜKLENMİŞ DNA HASARINA KARŞI

Momordica charantia EKSTRESİNİN ETKİLERİ

Emre ÖZGÜL

Afyon Kocatepe Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı

Danışman: Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

Bu çalışmada, in vivo şartlarda ökaryotik hücrelerden *Saccharomyces cerevisiae*'de hidrojen peroksit (H₂O₂) ile indüklenmiş DNA hasarına karşı Fitoterapide yaygın olarak kullanılan *Momordica charantia* (kudret narı) ekstreleri (MCE)'nin koruyucu ve onarıcı etkilerinin belirlenmesi amaçlandı. Bu amaçla haploid *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 (*MATa his 3Δ1 leu2 Δ0 met15Δ0 ura3Δ0*) suşu kullanıldı. Kullanılan etken maddenin koruyucu ve hasar tamir induksiyon etkileri alkali tek hücre jel elektroforezi (comet assay) yöntemi kullanılarak belirlenirken antioksidatif özellikleri, total antioksidan seviye (TAS) ve total oksidan seviye (TOS) seviyelerinin ölçümü ile analiz edildi. *Momordica charantia* ekstresi *S. cerevisiae* hücrelerine 1/16, 1/32 ve 1/64 'lık dilüsyonlarında uygulandı. Sonuçlarımız hidrojen peroksit (H₂O₂) ile *S. cerevisiae* de oluşturulan DNA hasarına karşı MCE'nin bu hücreleri koruduğunu göstermiştir. Uygulama sonucunda, etken maddenin 1/16 lık dilüsyonunda, hücrede koruyucu etki gösterdiği belirlendi. MCE'nin 1/16, 1/32 ve 1/64 dilüsyonlarının DNA hasarı tamirinde yetersiz kaldığı sonucuna varıldı.

Anahtar sözcükler: Oksidatif DNA hasarı, comet assay, *Saccharomyces cerevisiae* *Momordica charantia* (Kudret narı)

2014, viii + 72 sayfa

ABSTRACT

M.Sc Thesis

EFFECTS OF *Momordica charantia* EXTRACT AGAINST INDUCED DNA DAMAGE

Emre ÖZGÜL

University of Afyon Kocatepe

Institute of Science

Department of Biology

Supervisor: Assoc. Prof. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ

In this study, it is aimed to define protective and restorative effects of *Momordica charantia* (bitter melon) extracts (MCE), which are commonly used in phytotherapy against DNA damage induced with hydrogenperoxide, in *Saccharomyces cerevisiae*, from eucaryotic cells, in vivo conditions. In this purpose, haploid *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 (*MATa his 3Δ1 leu2 Δ0 met15Δ0 ura3Δ0*) strains were used. While protective and restorative induction effects of the active substance utilized were defined by using alkaline single cell gel electrophoresis (comet assay) method, antioxidative effects were analyzed by measuring total antioxidant status (TAS) and total oxidant status (TOS). MCE was applied to *S. cerevisiae* cells in of 1/16, 1/32 and 1/64 dilutions. Our results showed that MCE protects cells against DNA damage formed with hydrogenperoxide (H₂O₂) in *S. cerevisiae*. It is found as a result of the application that the active substance has a protective effect on the cell in 1/16 dilution. MCE in dilutions of 1/16, 1/32 and 1/64 was found to be insufficient in restoring DNA damage.

Key words: Oxidative DNA damage, comet assay, *Saccharomyces cerevisiae*, *Momordica charantia* (bitter melon)

2014, viii + 72 pages

TEŞEKKÜR

Tez konumu belirleyen ve alışmalarımın her aşamasında beni destekleyen ve hiçbir yardımını esirgemeyerek bana hocalıktan ziyade ağabeylik yapan çok değerli hocam sayın Doç. Dr. İbrahim Hakkı CİĞERCİ' ye sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Hayallerimi ve ideallerimi gerçekleştirmem uğruna benden hiçbir desteği esirgemeyen eğitim ve oğretim hayatımda bana sonuna kadar destek olan başta ablam Ayin PİRAZ olmak üzere merhum babam Ahmet ÖZGÜL'e, annem Fadime ÖZGÜL, ablam Melike TUTUK'a ve eğitim hayatım boyunca psikolojik anlamda beni devamlı motive eden ayrıca maneviyatıyla ailemiz için ayrılmaz bir insan olan dayım Kemal EMEKLİ'ye sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Son olarak lisans ve Yüksek Lisans eğitimim boyunca moral ve motivasyon ile hep yanımda olan ve sevgisini daima hissettiren hayat arkadaşım Gül DENİZ'e en derin kalbi duygularımla teőekkürlerimi sunarım.

Emre ÖZGÜL

AFYONKARAHİSAR, 2014

İÇİNDEKİLER DİZİNİ

Sayfa

ÖZET.....	i
ABSTRACT.....	ii
TEŞEKKÜR.....	iii
İÇİNDEKİLER DİZİNİ.....	iv
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
1. GİRİŞ.....	1
2. LİTERATÜR BİLGİLERİ.....	5
2.1. DNA.....	5
2.2 DNA Hasarı.....	8
2.2.1 DNA Hasarına Neden Olan Etmenler.....	11
2.3. DNA Tamir Mekanizmaları.....	13
2.3.1.Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi.....	14
2.3.2 Eksizyon (Kesip-Çıkarma) Tamiri.....	15
2.3.3 Rekombinasyonel Tamir.....	17
2.3.4. SOS Tamiri.....	17
2.3.5 DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri.....	17
2.3.6. Serbest Uçların Homolog Olmayan Şekilde Bağlanması (Non-Homolog And Joining) (NHEJ).....	18
2.3.7. Homolog Rekombinasyon (HR).....	18
2.4. Serbest Radikaller.....	18
2.4.1. Serbest Radikallerin Kaynakları.....	21
2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri.....	23
2.6. Oksidatif Stres ve DNA Hasarını Önlemede Fitokimyasallar.....	26
2.7. <i>Momordica charantia</i> Bitkisi.....	27
2.8. DNA Hasarını Belirlemede Kullanılan Yöntemler.....	30
2.8.1 Mutajenite ve Genotoksisite Testleri.....	30
3. MATERYAL ve METOT.....	33
3.1 Materyal.....	33

3.1.1 Kullanılan Araç ve Gereçler	33
3.1.2. Kullanılan Test Mikroorganizması.....	33
3.1.3. Test İçin Kullanılan Bitki Materyali	33
3.1.4. Kullanılan Çözeltiler	34
3.2. Metot	37
3.2.1. <i>Saccharomyces cerevisiae</i> Suşunun Saklanması ve Üretilmesi	37
3.2.2. Maya Hücrelerinde Comet Yöntemi ile <i>Momordica charantia</i> 'nın DNA Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi.....	38
3.2.3. Maya Hücrelerinde Comet Yöntemi ile <i>Momordica charantia</i> 'nın DNA Hasarı Üzerine Tamir Edici Etkisi	39
3.2.4. Total Oksidan ve Antioksidan Seviyelerin Ölçülmesi	40
4. BULGULAR	43
4.1. Total Oksidan Ve Antioksidan Seviye (TOS ve TAS).....	43
4.2. Farklı Konsantrasyonlardaki <i>Momordica charantia</i> ekstresi'nin H ₂ O ₂ İle Oluşturulan DNA Hasarına Karşı Koruyucu Özelliğine İlişkin Bulgular.....	45
4.3. Farklı Konsantrasyonlardaki <i>Momordica charantia</i> 'nın H ₂ O ₂ İle Oluşturulan DNA Hasarına Karşı Tamir İndüksiyonuna İlişkin Bulgular	47
5. TARTIŞMA ve SONUÇ	50
6. KAYNAKLAR	55
ÖZ GEÇMİŞ	72

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Simgeler

dk:	Dakika
dL:	Desilitre
gr:	Gram
<:	Küçüktür
µL:	Mikrolitre
mL:	Mililitre
mg:	Miligram
mM:	Milimolar
mA:	Miliamper
M:	Molar
nm:	Nanometre
°C:	Santigrat derece
V:	Volt
%:	Yüzde

Kısaltmalar

AP:	Apirimidinik / Apürinik bölge
Rpm:	Dakikadaki dönüş hızı
DNA:	Deoksiribonükleik asit
KH ₂ PO ₄ :	Dihidrojen potasyum fosfat
DMSO:	Dimetil sülfoksit
K ₂ HPO ₄ :	Dipotasyum fosfat
LMPA:	Düşük erime noktalı agar
EDTA:	Etilen diamin tetra asetik asit
AU:	Görsel skorlama tekniği
G-C:	Guanin-Sitozin
H ₂ O ₂ :	Hidrojen peroksit
HCl:	Hidroklorik asit
OH:	Hidroksil
HR:	Homolog rekombinasyon
KKD:	Kardeş kromatid değişimi
MDA:	Malondialdehit
CH ₃ :	Metil
MC:	<i>Momordica charantia</i>
MCE:	<i>Momordica charantia</i> ekstresi
NMPA:	Normal erime noktalı agar
N7-meG:	N7-metilguanin
mG:	O6-Metilguanin
OD:	Optik yoğunluk
KCl:	Potasyum Klorür
ROS:	Reaktif oksijen türleri
RNA:	Ribonükleik asit
NaCl:	Sodyum klorür
NaOH:	Sodyum hidroksit

SH:	Standart hata
ssDNA:	Tek iplikli DNA
SSBs:	Tek iplik kırıklıkları
TUNEL:	Terminal deoksinükleotidil transferaz aracılığıyla dUTP son uç etiketlemesi
T-A:	Timin-Adenin
UV:	Ultraviyole
YPD:	Yeast Pepton Dextrose
8-OHdG	8-hydroxydeoxyguanosine

ÇİZELGELER DİZİNİ

Sayfa

Çizelge 4.1 <i>Momordica Charantia</i> ekstrelerinin total antioksidan, oksidan seviyeleri ve oksidatif stres indeksi değerleri	44
Çizelge 4.2 Farklı dilüsyonlardaki MCE' nin, 1 mM H ₂ O ₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu özelliğinin değerlendirilmesi	46
Çizelge 4.3 Farklı dilüsyonlardaki MCE' nin, 5 mM H ₂ O ₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu özelliğinin değerlendirilmesi	47
Çizelge 4.4 1 mM H ₂ O ₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı farklı dilüsyonlardaki MCE'nin, tamir edici özelliğinin değerlendirilmesi	48
Çizelge 4.5 5 mM H ₂ O ₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı farklı dilüsyonlardaki MCE'nin, tamir edici özelliğinin değerlendirilmesi	49

1. GİRİŞ

Bir canlıya ait tüm genetik bilgiyi taşıyan DNA molekülü doğal olarak veya çevresel faktörlerin etkisiyle sürekli hasara maruz kalmaktadır. Hasar kaynakları eksojen veya endojen olabilir. Eksojen kaynaklar içerisinde, X-ışınları, ultraviyole radyasyon, radon bozunumundan kaynaklanan iyonize radyasyon, kimyasal bileşikler, yanmış tütün ve birçok kemoterapiyi sayabiliriz. Endojen kaynaklara örnek olarak, oksidatif metabolizma, metabolik yan ürün olarak ortaya çıkan serbest radikaller, DNA'nın spontan değişimleri, immünolojik çeşitliliği oluşturan V(D)J rekombinasyon mekanizmasını verebiliriz (Bütüner ve Kantarcı 2006).

Bu etkenler, DNA'nın yapısını ve dahası diğer nesillere aktarılan genetik bilgiyi değiştirebilirler. DNA üzerinde meydana gelen tüm bu değişikliklere "DNA hasarı" adı verilir (de Boer and Hoeijmakers 2000).

Bu değişimler ölümcül sonuçlara neden olabilecek kadar zararlı olabilir. Bu nedenle, bütün canlı hücreleri, yaşam süreçleri boyunca nesillere değişmeden aktarılması gereken DNA molekülünü koruma mekanizmaları geliştirmişlerdir (Hoeijmakers *et al.* 1993).

DNA tamir mekanizması, canlı hücrelerde tek bir mutasyonla başlayıp, hasarlı DNA oluşumu ve kanserle sonuçlanabilen bir süreçte, hücreyi muhafaza eden önemli bir sistemdir. Değişik biyokimyasal imkanları kullanan birçok DNA tamir mekanizmaları DNA hasarının birçok çeşidini tamir eder. Küçük hasarlar genellikle DNA tamir sistemleri tarafından onarılır. Bu sayede organizma kendini korumuş olur. Orta derecedeki hasarların birikimi ise mutasyonlara neden olur. Yüksek düzeydeki hasarlar apoptozisi uyararak "hücre ölümüne" yol açar. Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile cevap verir. İleri seviyedeki DNA hasarları hücrenin apoptozis yolunu aktive ederek hücreyi ölüme götürür. Hücre, DNA hasarlarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı ikileşme sırasında onarılmaz ise mutasyona ve sonuç olarak genomik kararsızlığa, erken yaşlanmalara ve kansere neden olur (Müftüoğlu 2003).

Canlı organizmalarda serbest radikallerin meydana gelme hızı ve bunların ortadan kaldırılma hızı denge halindedir. Bu duruma da “oksidatif denge” adı verilir. Serbest radikallerin oluşum hızındaki herhangi bir artış ya da serbest radikallerin ortadan kaldırılma hızındaki bir azalış oksidatif dengenin bozulmasına neden olur. Bu dengenin bozulmasına “ oksidatif stres“ adı verilir (Zhou *et al.* 2004).

Oksidatif stres, birçok hastalık, yaşlanma ve hücre ölümü ile yakından ilgilidir. DNA’da oksidatif hasar sonucunda meydana gelen modifiye bazlar, mutajenik özelliklerinden dolayı hücreyi tehdit edici bir etkiye gösterir. Organizma, kendini bu oksidatif hasarın etkilerini minimuma indirerek ya da meydana gelmiş olan lezyonları tamir ederek korur. Farklı nedenlerle organizmanın maruz kaldığı ROS (reaktif oksijen ürünleri), antioksidanlar ve antioksidan enzimler ile nötralize edilir. Oksidatif DNA hasarına karşı diğer bir savunma yolu, DNA tamir mekanizmasıdır. Hasara uğramış biyomoleküller tamir edilir ya da yerlerine yenileri konulur. Tamir, DNA’da kodlanan genetik bilginin doğru bir biçimde devam edebilmesi için çok önemli bir faktördür (Fraga 1990).

Serbest radikallerin genetik materyali tahrip edici etkilerini önlemek için, organizmalarda antioksidanlar olarak adlandırılan çeşitli antioksidan savunma sistemleri gelişmiştir. Antioksidanlar, serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi durumundadırlar. Antioksidanlar kendisine bağlanan iki serbest radikali birleştirip, nötralize edebilme yeteneğine sahip bir enzime taşıyana kadar radikalle stabil bir yapı oluştururlar (Halliwell and Gutteridge 2005).

Günümüzde tıbbi bitkiler birçok hastalığa karşı kullanılabilen bileşimlerin doğal kaynağıdır (Vital *et al.* 2010). Birçok bitki, insanlar üzerinde biyolojik etkisi azımsanamayacak kadar önemli çeşitliliğe sahip kimyasal madde içerir (Njume *et al.* 2009). Bitkilerin sentezlemiş olduğu flavonoidler, alkaloidler, terpenoidler, taninler, berberinler, kininler ve emetinler gibi kimyasallar enfeksiyon hastalıklarının tedavisinde yaygın şekilde kullanılmaktadır (Hussain 2011). Doğal olarak yetişen bitkilerin gövde, yaprak, tohum ve köklerinden birçok mikroorganizmanın çoğalmasını inhibe eden maddeler izole edilmiştir (Ertürk ve Demirbağ 2003). Bitkilerin, antioksidan, Patrakar vd. (2010), antihipertansif, Patrakar vd. (2010),

antimikrobiyal, Patrakar vd. (2010) ve antitümör, Patrakar vd. (2010) aktivitelerine sahip oldukları belirtilmektedir.

Dünya sağlık örgütü tıbbi amaçlı kullanılan yaklaşık 20.000 bitki türü olduğunu bildirmektedir (Maregesi *et al.* 2008). Türkiye florası içerdiği tür sayısı ve endemik bitkiler açısından dünyada önemli bir gen merkezi konumundadır. Bütün Avrupa 12 bin bitki türü içermesine karşın, ülkemiz tek başına 9 bin civarında türe sahip olup bunları 3 bin kadarı endemiktir (Nalbantbaşı ve Gölcü 2009). Ülkemizde tıbbi amaçlı kullanılan bitkilerin sayısı kesin olarak bilinmemekle beraber bu sayının tahmini 500-1.000 civarında olduğu tahmin edilmektedir (Tarakçı 2006).

Momordica charantia, kabakgiller familyasından olup birden fazla isimle anılmasına karşın genellikle kudret narı ya da acı kavun olarak bilinir. Tıbbi alanda kullanılan tropik bir meyvedir ve genellikle Doğu Afrika, Asya ve Güney Amerika'da üretimi yaygındır. Üretimi için en uygun alanlar sıcak bölgeler olmasına rağmen iklimin geniş bir varyasyon gösterdiği yerlere de adapte olabilir (Asubaie and Garawany 2004).

Bitki anatomik olarak incelendiğinde tek yıllık ince hatlı, uzun sapları olan tırmanıcı bir bitkidir. Meyveleri ilk oluşumda yeşil olgunlaşınca kırmızı renkli 10-20 cm uzunluğunda geniş bir mekik şeklinde olup üzerleri girinti, çıkıntılı ve pürtüklüdür. Bitkinin tamamı acı tattadır. Çeşitli kullanım alanları olup gıda maddesi ve tedavi edici olarak da kullanılmaktadır (Jalaluddin and Islam 2004).

Momordica charantia'nın kimyasal bileşiminde; antioksidantlar, askorbik amino asitler – aspartik asit, serin, glutamik asit, treonin, alanin, g-amino bütirik asit ve luteolin içerdiği bildirilmiştir. Ayrıca demir, Vitamin A ve yüksek antioksidan etki gösteren vitamin C içermektedir (Horax *et al.* 2005).

Momordica charantia bitkisi tıbbi alanda tümörlerde, deri hastalıklarında, ekzamada, uyuzda, romatizmada, sıtmada, adet problemlerinde, şeker hastalığında, kolikde ve bağırsak kurtlarına karşı kullanıldığında olumlu sonuçlar vermiştir (Taylor 2005, Beloin and Devanand 2011, Ullah *et al.* 2011).

Klinik çalışmalardaki deneyler sonucundabitkinin, hipoglisemik (Jayasooriya 2000, Panagariya 2004), anti-hiperglisemik (Ahmed 2001, Grover 2002), antiülser (Gürbüz 2000), antioksidan (Horax 2005, Kubola 2008, Liu 2010, Wua 2008), antidiabetik (Krawinkel 2006, Reyes 2006), hipolipidemik, antikanserojen, hipokolestrolemik, antivirüs (Ahmed 2001, Nerurkar 2006), antibakteriyel (Braca 2008, Roopashree 2008), böcek öldürücü (Cheng 2004), trigliserit düşürücü (Senanayake 2004), antimutajenik (Sumanth 2010), immünoestimülan, antitümör, antibiyotik, antiinflamatuvar (Taylor 2002), antimikrobiyal, abortisit, antifertility ve antihelmintik (Paul 2010) etki gösterdiği belirlenmiştir.

DNA hasarı belirleme yöntemlerinden biri olan comet yöntemi, maya hücrelerinde de başarıyla kullanılmaktadır. Bu yöntemin *Saccharomyces cerevisiae* hücrelerinde kullanılması çoğu avantajı beraberinde getirir. *S. cerevisiae*' nin gerek hızlı üreyip gelişmesi, gerekse kolay kültüre edilebilmesi, bu organizmanın tercih edilme sebeplerindedir. Yüksek ökaryotlar ile mayalar arasında transkripsiyon, translasyon, replikasyon ve DNA onarım mekanizmaları bakımından benzerlikler mevcuttur (Silva *et al.* 2005).

Bu çalışmada fitoterapide yaygın olarak kullanılan *Momordica charania* bitki ekstrelerine ait farklı konsantrasyonların, hidrojen peroksit ile indüklenmiş *Saccharomyces cerevisiae*' de, oksidatif DNA hasarına karşı koruyucu ve tamir edici özelliğinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

2. LİTERATÜR BİLGİLERİ

2.1. DNA

1868 yılında İsviçreli bilim adamı Friedrich MIESHER, balık spermleri üzerinde yaptığı çalışmalarda, balık spermlerinin çekirdeklerini ve akyuvar çekirdeklerini izole ederek bu hücrelerin çekirdeklerinin asit özelliği gösterdiğini fark etmiştir ve bu moleküllere çekirdekte bulunan asit anlamına gelen “nükleik asit” adını vermiştir. Günümüz kaynaklarına göre, nükleik asitler bütün canlılarda bulunan organik moleküllerdir. Çünkü organik moleküller canlılar tarafından sentezlenebilen ve canlının yapısını oluşturan moleküllerdir. Tüm canlı organizmalarda veya hücrelerde iki çeşit nükleik asit vardır: Ribonükleik asit (RNA) ve deoksiribonükleik asit (DNA). İstisna olarak sadece virüsler ya DNA ya da RNA içerirler.

DNA ve RNA fosforca zengin organik moleküller olup, organizmanın genetik bilgi deposudur. Nükleik asitlerin kimyasal yapısında C (karbon), H (hidrojen), O (oksijen), N (azot) ve P (fosfor) elementleri bulunur. Nükleik asitlerin biyolojik fonksiyonu genetik informasyonun saklanması, çoğaltılması, çeşitlendirilmesi ve nesilden nesile aktarılması şeklinde sıralanabilir. Tüm nükleik asitler polimerik yapılar olup birçok farklı büyüklüklerde bulunabilirler (1 milyondan 1 milyara kadar değişik moleküler büyüklükte). Transfer RNA'lar (tRNA) en küçük moleküllerdir (25,000 dalton kadar) (Lodish 2003).

Kimyasal olarak DNA, nükleotit olarak adlandırılan basit birimlerden oluşan iki uzun polimerden oluşur. Bu polimerlerin omurgaları, ester bağları ile birbirine bağlanmış şeker ve fosfat gruplarından meydana gelir. Bu iki iplik birbirlerine ters yönde uzanırlar. Her bir şeker grubuna baz olarak adlandırılan dört tip molekülden biri bağlıdır (Alberts 2002).

DNA'nın omurgası boyunca bu bazların oluşturduğu dizi, genetik bilgiyi kodlar. Protein sentezi sırasında bu bilgi, genetik kod aracılığıyla okununca proteinlerin amino asit dizisini belirler. Bu süreç sırasında DNA'daki bilgi, DNA'ya benzer yapıya sahip başka bir nükleik asit olan RNA'ya kopyalanır. Bu işleme transkripsiyon denir (Ghosh 2003).

Hücrelerde DNA, kromozom olarak adlandırılan yapıların içinde yer alır. Hücre bölünmesinden evvel kromozomlar eşlenir, bu sırada DNA ikileşmesi gerçekleşir. Ökaryot canlılar DNA'larını hücre çekirdeği içinde bulundururken prokaryot canlılarda DNA, hücre sitoplazmasında yer alır. Kromozomlarda bulunan kromatin proteinleri (histonlar gibi) DNA'yı sıkıştırıp organize ederler. Bu sıkışık yapılar DNA ile diğer proteinler arasındaki etkileşimleri düzenleyerek DNA'nın hangi kısımlarının okunacağını kontrol eder.

Canlılarda DNA genelde tek bir molekül değil, birbirine sıkıca sarılı bir çift molekülden oluşur. (Watson, Crick 1953, Berg and Bansal 2002). Bu iki uzun iplik sarmaşık gibi birbirine sarılarak bir çift sarmal oluşturur. Nükleotit birimler bir şeker, bir fosfat ve bir bazdan oluşurlar. Şeker ve fosfat DNA molekülünün omurgasını oluşturur, baz ise çifte sarmaldaki öbür DNA ipliği ile etkileşir. Genel olarak bir şekere bağlı baza nükleozit, bir şeker ve bir veya daha çok fosfata bağlı baza ise nükleotit denir. Birden çok nükleotidin birbirine bağlı haline polinükleotit denir (Ghosh 2003).

DNA ipliğinin omurgası almalıklı şeker ve fosfat artıklarından oluşur (Ghosh 2003). DNA'da bulunan şeker 2-deoksiribozdur, bu bir pentozdur (beş karbonlu şekerdir). Bitişik iki şekerden birinin 3 numaralı karbonu ile öbürünün 5 numaralı karbon atomu arasındaki fosfat grubu, bir fosfodiester bağı oluşturarak şekerleri birbirine bağlar. Fosfodiester bağı asimetrik olması nedeniyle DNA ipliğinin bir yönü vardır. Çifte sarmalda bir iplikteki nükleotitlerin birbirine bağlanma yönü, öbür ipliktekilerin yönünün tersidir. DNA ipliklerinin bu düzenine antiparalel denir. DNA ipliklerinin asimetrik olan uçları 5' (beş üssü) ve 3' (üç üssü) olarak adlandırılır, 5' uç bir fosfat grubu, 3' uç ise bir hidroksil grubu taşır. DNA ve RNA arasındaki başlıca farklardan biri, içerdikleri şekerdir, RNA'da 2-deoksiriboz yerine başka bir pentoz şeker olan riboz bulunur (Berg and Bansal 2002).

DNA, ökaryotlarda doğrusal kromozomlar, prokaryotlarda ise dairesel kromozomlar içinde bulunur. Kromozomlarda bulunan genler DNA yapısındadır. Her canlı bireyin ve neslinin hayat planı hücre hafızasını meydana getirir. DNA molekülleri şifrelerle kodlanmıştır. DNA'nın yapısına giren bazların (A,T,G,C) her biri şifre sembolü olarak kullanılır. Çift sarmalı iki ipliğe bağlı bazlar arasındaki hidrojen

bağları DNA'yı stabilize eder. DNA'a bulunan dört baz, adenin (A olarak kısaltılır), sitozin (C), guanin (G) ve timin(T) , şeker-fosfata bağlanarak bir nükleotit oluşturur. Bazlar iki tip olarak sınıflandırılırlar: adenin ve guanin, pürin türevleridir, bunlar beş ve altı üyeli halkaların kaynaşmasından oluşmuş heterosiklik bileşiklerdir; sitozin ve timin ise pirimidin türevleridir, bunlar altı üyeli bir halkadan oluşur. Bir diğer baz olan urasil (U), sitozinin yıkımı sonucu seyrek olarak DNA'da bulunabilir. Kimyasal olarak DNA'ya benzeyen RNA'da timin yerine urasil bulunur. İki sarmal iplik DNA omurgasını oluşturur. Bu iplikler arandaki boşluklar takip edilerek iki tane hayali boşluk veya oyuk daha bulunabilir. Bu oyuklar baz çiftlerine bitişiktir ve onlara bağlanmak için bir yer oluşturabilirler. Bu oyuklar birbirlerinin tam karşısında olmadıkları için büyüklükleri aynı değildir. Bunlardan büyük oyuk (majör oyuk) olarak adlandırılanı 22 Å genişliğinde, küçük (minör) oyuk ise 12 Å genişliğindedir. Küçük oyukun darlığı nedeniyle bazların kenarlarına erişmek büyük oluktan daha kolaydır. Bu nedenle, DNA'daki belli baz dizilerine bağlanan, transkripsiyon faktörü gibi proteinler büyük oyuktan bazların kenarlarına temas ederler (Pabo and Sauer 1984).

DNA'nın bir ipliğindeki bir baz tipi, öbür iplikten tek bir baz tipi ile bağ kurar. Buna tümleyici (komplemanter) baz eşleşmesi denir: pürinler pirimidinler ile hidrojen bağı kurar, A yalnızca T'ye bağlanır, C'de yalnızca G'ye bağlanır. Çift sarmalda karşıdan karşıya birine bağlı iki baza bir baz çifti denir. Çift sarmalı kararlı kılan ayrıca hidrofobik etki ve pi istiflenmesi vardır, bunlar DNA dizisinden bağımsızdır (Ponnuswamy and Gromiha 1994).

Hidrojen bağları kovalent bağlara göre daha zayıf olduklarından kolayca kopup yeniden oluşabilir. Bu nedenle DNA'daki iki iplik ya mekanik güç ile ya da yüksek sıcaklıkta bir fermuar gibi kolayca birbirinden ayrılabilir. Komplemanterliğin bir sonucu olarak DNA sarmalındaki iki iplikli dizideki tüm bilgiler ipliklerin her birinde kopyalanmış durumdadır, bu da DNA kopyalanması için gerekli bir özelliktir (Clausen 2000). Aslında komplemanter baz çiftleri arasındaki spesifik ve tersinir etkileşimler DNA'nın işlevlerini yerine getirebilmesi için olmazsa olmaz bir özelliktir (Alberts *et al.* 2002).

Protein ve diğerk işlevsel RNA molekülleri kodlayan bilgi, gen adı verilen DNA parçalarının dizisinde yer alır. Genlerdeki genetik bilginin aktarılması baz eşleşmesi ile gerçekleşir. Örneğin, transkripsiyon sırasında bir DNA dizisinin ona komplementer bir RNA dizisi olarak kopyalanması, DNA ile doğru RNA nükleotitler arasındaki çekim ile mümkün olur. Protein çevrimi (translasyon) denen süreç sırasında bu RNA dizisine kaşılık gelen bir protein sentezlenirken, RNA nükleotitleri arasında gen ile baz eşleşmesi olur. DNA hücre bölünmesinin hazırlıkları sırasında kendi kopyasını yapar. Kromozomların ikiye bölünmesi sırasında DNA molekölü kendisinin bir kopyasını yapar, buna replikasyon veya duplikasyon denir. Bu olay yavru kromozomda aynı kısımların bulunabilmesi için gereklidir. DNA'nın kendini eşlemesi esnasında, iki sarmal ipliğı bir arada tutan hidrojen bağları adeta bir fermuar gibi açılır.

Açıkta kalan pürin ve pirimidin nükleotitlerin uçları, hücrede önceden sentezlenmiş nükleotitlerle tamamlanır. Böylece birbirinin aynı olan iki DNA meydana gelmiş olur. Hücre bölünmesinde her biri bir hücreye gider. Hücre mekanizması DNA'nın ikili zincirini ayırıp her iki DNA ipliğini de yeni birer iplik sentezlemek için şablon olarak kullanma yeteneğindedir. Yeni üretilen iplikler öncekilerle neredeyse aynıdır, ancak mutasyon adı verilen hatalar oluşabilir. Hücrenin bu özelliğini laboratuvar ortamında gerçekleştiren işleme de polimeraz zincirleme tepkimesi (PCR) adı verilir (Steenken *et al.* 1989).

2.2 DNA Hasarı

DNA genetik yapıyı oluşturur. Yaşayan organizmanın hücrelerinde DNA hasarı sürekli oluşmakta ve bir yandan da tamir edilmektedir. DNA'da yıllar boyunca süren bu hasar etkisi sonunda hücreyi, dokuyu, organı bozmakta; yaşlanmaya ya da hücre ölümüne neden olmaktadır. Bunun nedeni olarak da en çok kabul gören teori serbest radikal/oksidasyon teorisidir (Geçkil 2012).

Serbest radikaller en dış elektron yörüngesinden bir elektron kaybeden ve dolayısıyla bu elektronihtiyacını karşılayabilmek amacıyla başka atomların elektronlarını ele geçirmeye meyilli atomlardır. Serbest radikaller insanlarda ve oksijen kullanan bütün hayvanlarda doğal olarak meydana gelir. Vücut hücresinde meydana gelip, hücre zarını, hayati proteinleri, yağları ve DNA'yı hasara uğrattır.

Oksijenli solunum yapan organizmlalarda oksijen kullanımının bir neticesi olarak reaktif oksijen metabolitleri (ROM) meydana gelir. Başta mitokondriyal elektron transportu olmak üzere ksenobiyotik metabolizması, fagositik aktivasyon, çeşitli sentez ve degradasyon reaksiyonlarında ROM oluşmakta ve prooksidan/antioksidan dengenin prooksidanlar lehine kayması sonucunda gelişen oksidatif stres, çeşitli mekanizmalar ile biomoleküllere hasar vermektedir. Stabil bir molekül olan DNA da lipidler, karbohidratlar ve proteinler gibi kendiliğinden kimyasal oksidatif hasara uğrayabilir. Oksidatif hasar neticesi DNA'da, tek ve çift zincir kırıkları, pürin kaybı, baz modifikasyonları, riboz hasarı meydana gelebilir. DNA'da oksidatif hasarın oluşumunu açıklayan iki önemli hipotezden biri "Fenton Kimyası" reaksiyonlarıdır. Buna göre, hidroksil radikalleri DNA'da hasar oluşturur. Reaktivitesi çok fazla olan radikali hücre içinde çekirdeğe geçebilir. Olası mekanizma membranı kolayca geçebilen H₂O₂'in nükleusta Fe-Cu iyonları ile reaksiyona girerek hidroksil radikallerini oluşturması ile sonuçlanır. Diğeri de Haber-Weiss reaksiyonudur: Hidroksil radikalleri en reaktif serbest radikallerdir ve vücuttaki serbest radikal hasarının en önemli sorumlularıdır (Geçkil 2012).

Hücreler UV ışımına maruz kaldığında DNA hasarı iki şekilde ortaya çıkabilmektedir. UV ışını H₂O₂'e etki ederek 'OH radikalini meydana getirebilir ya da doğrudan doğruya pirimidinlerin kovalent çapraz bağlanmasına ve pirimidin dimerlerinin oluşumuna sebep olabilir. Serbest radikaller DNA'ya etki eder. Ayrıca iyonize radyasyonun suyun hemolizine neden olarak, 'OH radikallerini oluşturduğu ve bu yolla mutajenik ve karsinojenik etki gösterdiği bilinmektedir. İyonize radyasyonun suyun hemolizine neden olarak, 'OH radikallerini meydana getirdiği ve bu yolla mutajenik ve karsinojenik etki gösterdiği bilinmektedir (Dizdaroğlu 1991). DNA üzerinde meydana gelen olumsuz değişiklikler kendisinden sonra gelen nesillere aktarılan genetik bilgi üzerinde de değişiklik gösterebilir. Canlıların içinde bulunduğu ortamda meydana gelen olumsuz durumlar, canlıya ait olan DNA moleküllerinde tahribata, meydana gelen tahribatlar onarılamadığı durumlarda ise kontrollü hücre ölümlerine veya kansere kadar gidebilen çeşitli hastalıklara neden olabilmektedir (Couladis *et al.* 2003).

DNA üzerinde oluşan hasarlar her zaman kanserle sonuçlanmaz. Düşük düzeylerde meydana gelen hasarlar etkili bir şekilde tamir mekanizmaları ile onarılırken, yüksek düzeyde oluşan oksidatif hasarlar ise hücre ölümüne neden olurlar. Orta düzeyde meydana gelen hasarların ise maligniteye yol açma ihtimali oldukça yüksektir (Floy *et al.*1990).

DNA hasarı çeşitli etmenler tarafından ortaya çıkmaktadır. Bunları genel olarak aşağıdaki gibi sıralanabilir.

1. Spontan veya kalıtsal oluşan gen mutasyonları

2. Çevresel faktörler

Ultraviyole Işık

İyonize radyasyon

Elektromanyetik dalgalar

Kimyasal ajanlar: Aflotoksin, benzopren, kemoterapi ilaçları, alkilleyici ajanlar, vinil klorid, v.b

Sigara alkol kullanımı

Hava kirliliği

Kötü beslenme alışkanlığı

3. Doğal hücrel metabolizmadan kaynaklanan faktörler

Mitokondriden enerji üretim esnasında oluşan Serbest Radikaller

Enflamasyon

Etoksifikasyon işlemleri

Hücre tüm bu DNA hasarlarına farklı metabolik yollar ile yanıt verir. Yüksek DNA hasarı hücrenin apoptozis yolunu harekete geçirerek hücreyi ölümle sonuçlandırır. Hücre, DNA hasarını "DNA tamir mekanizmaları" ile tamir edebilir. DNA hasarı ikileşme sırasında tamir edilemezse mutasyonla ve sonuç olarak genomik kararsızlıkla daha ileri seviyede ise kanser ve yaşlanmayla sonuçlanır (Bektaş *et al.* 2010).

2.2.1 DNA Hasarına Neden Olan Etmenler

Mutajen, DNA yapısını veya dizisini değiştirebilen, doğal veya insan yapımı (fiziksel ya da kimyasal) bir etkindir. DNA onarımındaki hatalar da DNA'ya hasar veren etkenlere karşı duyarlılığı artırır.

2.2.1.1. Kimyasal Mutajenler

a. Baz Analogları

Yapısal olarak pürin veya pirimidinlere benzeyen ve replikasyon esnasında normal bazların yerine geçerek DNA yapısına katılan kimyasallardır. (Bromourasil, aminopürin) Transisyonel mutasyona ve spontan tautomerizasyona neden olurlar.

b. Bazların Yapısını Ve Eşleşme Özelliklerini Değiştiren Kimyasallar:

Nitröz asit, deaminasyonile C-U, C-T, A- hipoksantin dönüşümüne ve transisyonel mutasyona neden olur. Nitrozoguanidin, metil metansülfonat, etil metansülfonat, bazlarla reaksiyona girerek, bazlara metil ya da etil grupları eklerler. Alkillenen baz, degradasyona uğrayarak DNA'da baz içermeyen bir bölge oluşturur, DNA replikasyonu esnasında rekombinasyona ya da hatalıeşleşmeye neden olur (Delebeç et al. 2006).

c. İnterkalasyon Etkenleri:

DNA bazlarının arasına girerek sarmalın gerilmesine ve DNA polimerazın hata yaparak fazladan nükleotid eklemesine neden olan moleküllerdir. Örneğin; akridin oranj, proflavin, etidyum bromür. Sonuçta çerçeve kayması (frameshift) mutasyonu olur.

d. DNA Yapısını Değiştiren Etkenler

Bunlar, bazlara bağlanan büyük moleküller (NAAAF), DNA zincirleri arasında çapraz bağlar oluşturan etkenler (psoralenler), DNA çift zincir kırıklarına neden olan kimyasallar (peroksitler) dir. Bu etkenler doğrudan mutasyona neden olmazlar, mutajenik onarım işlemlerini indüklerler.

2.2.1.2. Radyasyon

a) İyonize Radyasyon

Gamma ışınları ve X ışınları, biyolojik moleküllerle reaksiyona girdiklerinde reaktif iyonlar oluştururlar. Baz hasarına ve kaybına, tek veya çift zincir kırıklarına (rekombinasyonu uyarır, baz delesyonu, kromozom kayıpları görülür), DNA'nın kendisiyle ya da proteinlerle çapraz bağlar oluşturmaya neden olurlar.

b) Uv Işınları:

DNA tarafından kuvvetlice absorblanan UV-C (~260 nm.) ve UV-B ışınları, DNA ve diğer biyolojik moleküllerle reaksiyona girer ve pirimidin dimerleri (T-T, T-C) oluştururlar, bu dimerler de replikasyonu ve transkripsiyonu bloke eder (Beranek DT. 1990, Christmann 2003, Evans 1994).

2.2.1.1. Baz Modifikasyonu

a) Deaminasyon

Nükleik asitlerin primer amino grupları stabil değildir. Bir memeli hücresinde, günde, haploid genom başına 100 urasil oluşur. Diğer deaminasyon reaksiyonları:

adenin → hipoksantin, guanin → ksantin, 5-metil sitozin → timin

b) Kimyasal Modifikasyon

Nükleik asitler kimyasal etkenler tarafından meydana getirilen birçok modifikasyona karşı duyarlıdır. Örneğin, normal oksidatif metabolizma sırasında oluşan hiper-reaktif oksijen sonucunda, timin oksidasyonu ile oluşan timin glikol tipik bir örnektir. Kimyasallar alkilasyon ile de DNA bazlarını modifiye edebilirler.

c) Uv Hasarı

Nükleik asit bazlarının UV ışığı absorblaması sonucu kimyasal değişiklikler meydana gelebilir. Sıklıkla yakın pirimidin bazlarının birer zincirleri arasındaki bağ oluşumu sonucu dimerler oluşur (siklobütan pirimidin dimerleri). Dimerler aynı zamanda

yakın iki primidin 6 ve 4 pozisyonları arasında kovalent bağ oluşumu sonucu da meydana gelebilir.

2.2.1.3. Replikasyon Hataları

DNA replikasyonu esnasında, hatalı eşleşme, küçük baz girişleri veya çıkışları olabilir. DNA polimerazın doğru çalışma oranının yüksek olmasına rağmen, ayrıca oluşan hataları düzelten bir hata okuma (proofreading) mekanizması varlığına karşın, replikasyon işlemi mükemmel değildir. Replikasyon işleminde oluşan hataları tamir mekanizmaları düzeltir (Delebeç et al. 2006).

2.2.1.4. Zincirler Arası Çapraz Bağlar

İyonize radyasyon, UV, psoralen gibi alkilleyici etkenler ve kansere karşı kullanılan kemoterapötikler, her iki zincirdeki bazlara bağlanarak, zincirler arasında çapraz bağlar oluştururlar.

2.2.1.5. DNA-Protein Arası Çapraz Bağlar

DNA topoizomerazlar, enzimatik aktiviteleri esnasında, kendileri ve substratları olan DNA arasında geçici kovalent bağlar oluştururlar. Bu bağlar bazen alkilleyici etkenler ve radyasyon gibi etkenler sonucu stabil hale gelir.

2.2.1.6. Zincir Kırıkları

Tek veya çift zincir kırıkları, topoizomerazlar, nükleazlar, replikasyon çatalı, onarım işlemleri gibi normal DNA metabolizması esnasında düşük sıklıkta oluşurlar. İyonize radyasyon ve bazı kimyasalların etkisiyle normal durumun dışında da zincir kırıkları oluşur (Christmann 2003, Friedberg 2003).

2.3. DNA Tamir Mekanizmaları

Hücre, DNA hasarlarına karşı farklı metabolik yollar ile cevap verir. DNA hasarı ve onarım mekanizmalarındaki bozukluklar ile kanser, yaşlanma ve birçok genetik hastalık arasında nedensel bir ilişkinin varlığı birçok deneysel ve epidemiyolojik veri ile gösterilmiştir. DNA onarım mekanizması, genomik kararlılığın korunması

ve hücrenin yaşamını sürdürebilmesi için gerekli olan moleküler biyolojik mekanizmalardan birisidir (Onur *et al.* 2009).

Prokaryotik ve ökaryotik organizmalar DNA'larını korumak için çeşitli DNA tamir mekanizmalarına sahiptir. Memeli hücrelerinde farklı DNA hasarları farklı DNA tamir yolları ile tamir edilmektedir. DNA tamir sisteminde 100' den fazla gen rol oynamaktadır. Bu genlerin kodladığı proteinler DNA tamir mekanizmalarında görev alırlar (Zhang *et al.* 2009).

2.3.1.Direkt Tamir ya da Hasarın Geri Döndürülmesi

2.3.1.2. Fotoreaktivasyon

DNA hasarının geri döndürülmesi onarım için en kolay yol gibi görünmesine karşın çoğu durumda termodinamik ve kinetik nedenlerden dolayı pek mümkün değildir. Bazı durumlarda enzim aracılığı (Fotolizaz ve O-6-Metil-DNA-alkiltransferaz) ile gerçekleşen tek adımlı reaksiyonlar ile hasar onarılır. Siklobütan pirimidin dimerleri (CPDs), fotolizaz enzimi tarafından ayrılarak hasar giderilir. Reaksiyona fotoreaktivasyon denir (Debeleç *et al.* 2006).

UV ile oluşan pirimidin dimerlerine spesifiktir. Sadece pirimidin dimerlerini kırıdıklarından hata olasılığı yoktur (Geoffrey 2006).

2.3.1.3. O6-Metilguanin Tamiri

O-6-metilguanin, alkilleyici ajanlar varlığında oluşur ve yüksek oranda mutajeniktir. O6 Metilguanin-DNA metiltransferaz (MGMT) normal dokularda bulunan hücresel DNA tamir proteinidir. Bu protein, DNA'daki yanlış metillenen bazların CH₃ gruplarını kendi sistein rezidüelerine transfer ederek normal guanin oluşumunu sağlar. MGMT proteini, Guanin'in O6 pozisyonundaki alkilasyonunu (metilasyonu) hızla geri çevirerek alkilleyici ajanların sitotoksik etkisini azaltır. Tümör hücrelerinde MGMT ekspresyonu alkilleyici ajanlarla tedaviye rezistans ile ilişkilidir (Sciuscio *et al.* 2011).

2.3.1.2. Basit Tek Zincir Kırıklarının Ligasyonu

Peroksidler ya da X ışınları gibi çeşitli ajanlar DNA zincirleri üzerinde basit kırıklara neden olabilmektedir. Oluşan bu basit kırıklar DNA ligaz enzimi sayesinde hemen onarılmaktadır. Enzim, enerji gerektiren bir reaksiyon ile 3'OH grubu ile 5'fosfat grubu arasındaki bağı oluşturarak onarımı gerçekleştirirler (William and Michael 2002).

2.3.2 Eksizyon (Kesip-Çıkarma) Tamiri

Bu onarım tüm prokaryot ve ökaryot organizmalarda bulunan çok önemli bir onarım sistemi olup 3 temel basamak içerir. Eksizyon onarım mekanizmasında DNA'daki hasarlı bazın oligonükleotid parçaları çıkartılıp bu bölgenin doğru bazlarla doldurulması ve oluşan çentiğin ligasyonla kapatılması ana prensiptir (Kulaksız ve Sancar 2007).

Eksizyon tamiri sırasında kimyasal olarak değişmiş, yanlış eşleşmiş veya uygun olmayan (DNA'daki urasil gibi) bazlar genomdan kesilerek yerlerine doğru dizideki bazlar konur. Eksizyon tamiri, BER ve NER olmak üzere ikiye ayrılır.

2.3.2.1. Baz Eksizyon Tamiri (Ber) (Base Excision Repair) ve Nükleotid Eksizyon Tamiri (Ner) (Nucleotide Excision Repair)

BER sırasında hasarlı bazlar serbest baz olarak kesilir ve çıkartılır, NER de ise hasarlı bazlar oligonükleotid fragmanları olarak kesilir. BER ile iyonize edici radyasyon, reaktif oksijen türleri ve mono fonksiyonel alkilleyici ajanlar ile oluşan baz hasarları tamir edilir. NER ise siklobütan pirimidin dimerleri gibi büyük DNA adüktlerinin tamirinde görev alır (De Boer 2000, Balajee 2000).

NER mekanizması en az 20 proteinin görev aldığı bir kesme ve yapıştırma mekanizmasıdır. NER'in ilk aşaması, DNA'daki hasarın tanınması ve hasarlı zincirin 24 - 32 bazlık kısmının oligonükleotid olarak çıkartılmasıdır. Bu aşamayı, DNA zincirinin DNA polimeraz I ile uzatılarak boşluğun doldurulması ve ligasyon basamağı izler. NER iki kısımdan meydana gelir. Birincisi genel genom tamir (GGR) yolu; transkribe olan ve olmayan DNA zincirindeki DNA hasarını tamir

eder. Aktif olarak transkribe olan genlerin transkribe edilmiş zincirindeki hasarlar, diğer bir yol olan transkripsiyona kenetlenmiş tamir (TCR) yolu ile tamir edilir (Bohr 1985, Sancar 1996).

2.3.2.2. Yanlış eşleşme (mismatch) eksizyon onarımı (MER)

Yanlış eşleşme onarımı normal şekilde eşleşmesi gereken bazların hatalı eşleşmesinden kaynaklanan, DNA replikasyonu sırasında meydana gelen ve çift zincirde anormal boyutlara sebep olan hataları düzeltir. *E. coli*' yi örnek aldığımızda, 7 proteinden meydana gelen bir sistem tarafından hatalı eşleşmenin belirlendiğini görürüz. Bu proteinler mutL, mutS, mutH, uvrD, ekzonükleaz I, SSB ve DNA polimeraz III' tür. *E. coli* DNA'sına bakılırsa, (5') GATC dizisindeki adeninlerin özel bir metilaz olan "Dam Metilaz" tarafından metillendiği belirlenir. Replikasyon sırasında kalıp zincir metillenmiş olmasına rağmen yeni sentezlenen zincir birkaç dakikalık gecikme ile metillenir. Bu zaman zarfında mutS, yeni zincirde hatalı eşleşen bazları belirler. Sırasıyla mutL, ve mutH bir kompleks oluşturmak için sisteme katılırlar, DNA boyunca çift yönlü olarak metillenmemiş bir GATC bulununcaya kadar hareket ederler. MutH' deki endonükleaz fonksiyonu metil grubunun karşısındaki metillenmemiş zincire bir çentik atmak için aktive olur. Metillenmemiş zincir, SSB, endonükleaz I ve uvrD helikaz'ın birlikte hareketi sayesinde uzaklaştırılır. DNA polimeraz III doğru DNA zincirini yeniden oluşturur ve ligasyon ile tamir sona erer. GATC bölgesi ile hatalı olan eşleşmenin arasındaki uzaklık en fazla 1000 baz çifti olabilir. Bu yüzden yanlış eşleşme tamiri etkili bir tamir mekanizması değildir.

Ökaryotlar, *E. coli*' de bulunan mut proteinlerine homolog olan proteinlere sahiptirler. Fakat yeni sentezlenen zinciri ayırmak için *E. coli*'ye özgü metilasyon işlemi yerine kullanılan mekanizma henüz tam olarak anlaşılmamıştır. Yanlış eşleşme tamir mekanizması genlerinde mutasyon olan bireylerin kalıtsal nonpolipozal kolon kanserine (HNPCC) yatkın oldukları tespit edilmiştir (Schofield and Hsieh 2003, Stojic *et al.* 2004).

2.3.3 Rekombinasyonel Tamir

DNA'nın zarar gören parçasının değiştirilmesinde kalıp olarak kullanılacak tamamlayıcı ipliğin bulunmadığı durumda kullanılan ve replikasyondan sonra aktif olan bir tamir mekanizmasıdır. Timin dimeri gibi bir lezyonu içeren DNA replike olurken DNA polimeraz önce lezyonda duraklar ve yeni sentezlenen zincir boyunca bir boşluk bırakarak lezyonun üzerinden atlar. Bu boşluğa bir yanıt olarak RecA proteini rekombinasyonel bir değiş-tokuş işlemi ile başlangıçta hasarsız komplementer dizide bulunan bir segmenti bu boşluğa sokup onu tamamlar. Bu işlem "verici" zincirde bir boşluk bırakır. Bu boşluk daha sonra doldurulur.

2.3.4. SOS Tamiri

DNA hasarının ileri seviyede olduğu ve diğer tamir mekanizmalarının yeterli olamadığı durumlarda devreye giren acil cevap sistemidir. Hücrelerde önemli derecedeki DNA zararlarına karşı acil yanıt olarak DNA tamir enzimlerindeki sayının artmasıdır. DNA sentezi esnasında, bir lezyonun üzerinden atlamak yerine, sistem, DNA polimerazın lezyon karşısındanda replikasyonu devam ettirmesini sağlar. Fakat replikasyonun doğruluğundan fedakârlık edilir. Bu nedenle bu onarım sistemine hataya meyilli sistem de denir (William and Michael 2002, Geoffrey et al. 2006).

2.3.5 DNA Çift Zincir Kırıklarının Tamiri

DNA'daki çift zincir kırıklarının kaynakları arasında topoizomerez inhibitörleri (etoposid, adriamisin) deiyonize radyasyon ve V(D)J rekombinasyonu sayılabilir. DNA çift zincir kırıkları, DNA hasarlarının en yıkıcı şeklidir. Bu kırıklar tamir edilmezse kromozomların kırılmasına ve hatta hücre ölümüne neden olabilir. Yanlış tamir edilmesi durumunda ise kromozom translokasyonuna ve kansere sebep olur. DNA çift zincir kırıkları iki şekilde tamir edilir (Haber 2000).

1. Serbest uçların homolog olmayan şekilde bağlanması (non-homolog and Joining) (NHEJ)
2. Homolog rekombinasyon (HR)

2.3.6. Serbest Uçların Homolog Olmayan Şekilde Bağlanması (Non-Homolog And Joining) (NHEJ)

Homolog bir kromozomdan faydalanılmadan DNA uçlarının bağlanmasının biyokimyasal bir yoldur. Çünkü kırık DNA uçları bağlanabilir durumda olmayabilir ve bu yol bazen genetik bilgide kayıba da neden olur. Homolog olmayan uç bağlanmasındaki hatalar iyonize radyasyon duyarlılığına ve immün yetersizliğe neden olur. X ışınları ve peroksitler gibi bazı kimyasallar DNA omurgasında kırıklara neden olurlar. Tek zincirdeki basit kırıklar DNA ligaz tarafından onarılır. Ancak, DNA ligaz, sadece, 5'-fosfat ve 3'-hidroksil gruplarına sahip uçları birleştirebilir (Christmann *et al* 2003).

2.3.7. Homolog Rekombinasyon (HR)

DNA'daki çift zincir kırıkları, homolog DNA ile rekombinasyon aracılığı ile ve ayrıca genetik bilgi korunarak, tamir edilir. Mayada bu metod çift zincir kırıklarının onarımında baskın olarak kullanılır. İnsanlarda homolog olmayan uç bağlanması ile de eşit öneme sahiptir (Haber 1999, 2000).

2.4. Serbest Radikaller

Serbest radikaller insan vücudunun hem normal metabolik faaliyetleri sırasında oluşabilen, hem de pestisitler, gıda katkı maddeleri, ilaçlar, endüstriyel kimyasallar, radyasyon, alkol, sigara, stres, virüsler, ağır metaller gibi pek çok dış kaynaklı etkenlerle oluşabilen reaktif moleküllerdir (Saraç 2005).

Serbest radikaller, kısa ömürlü, kararsız, molekül ağırlığı düşük ve çok etkin moleküller olarak tanımlanırlar (Mercan 2004). Serbest radikallerin yüksek düzeyde reaktif bileşikler olmaları, en dış yörüngelerinde eşleşmemiş elektron taşımalarından ve bu nedenle kolayca diğer organik ve anorganik moleküllerle reaksiyona girmelerinden kaynaklanmaktadır (Saraç 2005). Yani serbest radikaller, atomik ya da moleküler yapılarında çiftleşmemiş bir veya daha fazla elektron taşıyan ve başka moleküller ile kolayca elektron alışverişine giren moleküllerdir (Halliwell 1991a Çavdar *et al.* 1997, Anderson 1996, Akkuş 1995). Bu moleküllere “oksidan moleküller” veya “Reaktif Oksijen Partikülleri” (ROP) adı da verilmektedir.

Canlı hücrelerdeki serbest radikallerin kaynağı ve radikal reaksiyonlarının asıl başlatıcıları, dünya atmosferindeki oksijen molekülleridir. Atmosferde %20 civarında bulunan oksijen, bütün aerobik organizmalarda solunum ve diğer oksidatif reaksiyonlar için gerekli hayat kaynağıdır. Ancak aerobik organizmalarda oksijen kullanımının doğal sonucu olarak, moleküler oksijenin indirgenmesi sırasında reaktif oksijen türleri oluşur (Anderson 1996, Burçak ve Andican 2004). Bu nedenle biyolojik sistemlerdeki en önemli serbest radikaller, oksijenden oluşan radikallerdir (Mercan 2004).

Oksijenin elektronları öyle bir şekilde dağılmışlardır ki bu elektronlardan iki tanesi eşleşmemiştir. Bu yüzden oksijen bazen bir diradikal olarak da değerlendirilir. Oksijenin bu özelliği, onun diğer serbest radikallerle kolayca reaksiyona girmesini sağlar. Radikal olmayan maddelerle ise daha yavaş reaksiyona girer. Oksijen en son suya indirgenir. Bu arada, kısmi redüksiyonla çok sayıda yüksek derecede reaktif ürünler de oluşabilir (Akkuş 1995).

Organizmada çeşitli reaksiyonlarla pek çok türde reaktif oksijen partikülleri oluşabilir.

Reaktif Oksijen Partikülleri

1 - Radikaller:

Süperoksit radikal ($O_2^{\cdot-}$)

Hidroksil radikal (OH^{\cdot})

Alkoksil radikal (RO^{\cdot})

Peroksil radikal (ROO^{\cdot})

2 - Radikal olmayanlar:

Hidrojen peroksit (H_2O_2)

Lipid hidroperoksit (LOOH)

Hipoklorik asit (HOCl)

3 - Singlet (tek) oksijen

Serbest radikaller pozitif yüklü, negatif yüklü veya elektriksel olarak nötral olabilirler, ayrıca organik veya inorganik moleküller şeklinde olabilirler. Cu^{2+} , Fe^{3+} , Mn^{2+} ve Mo^{5+} gibi geçiş metallerinin de ortaklanmamış elektronları olduğu halde

serbest radikal olarak kabul edilmezler. Fakat bu iyonlar reaksiyonları katalize etmelerinden dolayı serbest radikal oluşumunda önemli rol oynarlar. Membranlardan kolaylıkla geçip hücreler üzerinde bazı fizyolojik etkilere sahip olabilen hidrojen peroksit ise çiftleşmemiş elektrona sahip olmadığından bir serbest radikal değildir. Bu nedenle reaktif oksijen partikülleri (ROP) terimi, süperoksit gibi radikaller, ayrıca hidrojen peroksit gibi radikal olmayanlar için ortak olarak kullanılan bir terimdir. Serbest oksijen radikali biyokimyasında anahtar rolü oynayan maddeler oksijenin kendisi, süperoksit, hidrojen peroksit, geçiş metallerinin iyonları ve hidroksil radikalidir. Bunlardan ilk dördünün çeşitli reaksiyonları ile hidroksil radikali meydana gelir (Akkuş 1995).

Bir proton ve bir elektron içeren hidrojen radikali ($H\cdot$) 5 en basit serbest radikaldir. Diğer moleküllerden hidrojen radikalının taşınması ile genellikle zincir reaksiyonu başlatılır, örneğin lipid peroksidasyonu sırasında (Anderson 1996). Böylece serbest radikaller en sık olarak lipid yapılarında oluşur. Doymamış yağ asitlerinin alil grubundan bir hidrojen çıkarsa lipid radikali meydana gelir. Oluşan lipid radikali oksijen ile reaksiyona girer ve lipid peroksi radikalini oluşturur. Lipid peroksi radikali lipidlerle zincir reaksiyonu başlatır ve lipid hidroperoksitler oluşur. Ortamda bulunan demir ve bakır iyonları bu reaksiyonları hızlandırır ve lipid peroksidasyonu olarak bilinen bu reaksiyonlar zincir reaksiyonu şeklinde sürekli devam eder. Lipid radikaller yüksek derecede sitotoksik ürünlere de dönüşebilir. Bunlar arasında en çok bilinen ürün aldehit grubundan malondialdehittir (MDA) (Çavdar *et al.* 1997).

Oluşan MDA, hücre membranlarından iyon alışverişine etki ederek, membrandaki bileşiklerin çapraz bağlanmasına yol açar ve iyon geçirgenliğinin ve enzim aktivitesinin değişimi gibi olumsuz sonuçlara neden olur. MDA, DNA'nın azotlu bazları ile de reaksiyona girebilir. Bundan dolayı mutajenik, hücre kültürleri için genotoksik ve kanserojendir (Mercan 2004).

Oksijen molekülü, orbitalinde çiftleşmemiş elektron taşıyorsa süperoksit radikali olarak adlandırılır. Nötrofilleri, monositleri, makrofajları ve eozinofilleri içeren aktif fagositler, yabancı maddeleri yok ederken, büyük miktarda süperoksit oluştururlar. Böylece organizmadaki normal koruyucu mekanizmanın kendisi de hasar verici olabilir. Diğer bir reaktif oksijen türü ise, normal oksijenden çok daha hızlı bir

biyolojik molekül olan ve yapısında iki adet çiftleşmemiş elektron taşıyan singlet oksijendir. Singlet oksijen hücre membranındaki poliansatüre yağ asitleri ile reaksiyona girerek lipid peroksidlerin oluşumuna yol açar (Çavdar ve ark. 1997).

Bir başka fizyolojik serbest radikal nitrik oksittir ($\text{NO}\cdot$). Nitrik oksit aşırı miktarlarda oluştuğunda toksik olabilir. Süperoksit, hidroksil radikalleri oluşturmak üzere bakır ve demir iyonları ile reaksiyona girebilir veya nitrik oksit ile kombine olabilir. $\text{NO}_2\cdot$, $\text{OH}\cdot$ veya $\text{CCl}_3\text{O}_2\cdot$ gibi reaktif radikaller, membranlarda veya lipoproteinlerde doymamış yağ asidi zincirlerinden bir hidrojen atomu çıkarırlar. Bu işlem, karbon üzerinde eşleşmemiş elektron bırakır. Karbon radikali oksijen ile reaksiyona girer ve oluşan peroksil radikali bitişindeki yağ asidi zincirlerine saldırır ve yeni karbon radikalleri oluşturur; böylece zincirleme bir reaksiyon devam eder. Tek bir reaktif 6 serbest radikal atağı bütün yağ asidi zincirini okside edebilir ve membran proteinlerine zarar verebilir. Bu durum membranı hasarlı hale getirir ve membran parçalanmalarına yol açar (Çavdar et al. 1997).

2.4.1. Serbest Radikallerin Kaynakları

Serbest radikaller, iyonize radyasyonun etkisi gibi nadir durumlar dışında, hücrelerde genellikle elektron aktarımı reaksiyonlarıyla oluşurlar. Bu reaksiyonlar, ya enzimlerin etkisiyle ya da non-enzimatik olarak geçiş metalleri iyonlarının redoks kimyası aracılığı ile gerçekleşir (Akkuş 1995).

Hücrelerde en büyük serbest radikal kaynağı, mitokondrilerdeki elektron taşıma zincirinden elektron sızmasıdır. Mitokondri iç zarında yer etmiş olan oksidatif fosforilasyon zinciri bileşenleri büyük oranda indirgendiği zaman, mitokondriyal süperoksit radikali üretimi de artmış olur. Serbest radikal üretiminin kaynağı, endoplazmik retikulum ve çekirdek zarında, zara bağlı sitokromların oksidasyonudur. Mitokondrilerdeki oksijenli solunumda olduğu gibi, birçok anabolik ve katabolik işlemler sırasındaki reaksiyonlarda moleküler düzeyde elektron çıkışları olur ve bu esnada $\text{RO}\cdot$ 'lar oluşur. Hücrelerde serbest radikal üretimi, bazı yabancı toksik maddeler tarafından büyük oranda artırılabilir. Bu maddeler ya doğrudan serbest radikal üretirler veya antioksidan aktiviteyi düşürürler. Bu tip maddeler 4 grupta toplanabilir. Birincisi toksinin kendisi bir

serbestradikal olabilir. Kirli havanın koyu rengini veren azot dioksit (NO₂) gazı böyle bir maddedir. İkinci olarak, toksin bir serbest radikale metabolize olabilir. Üçüncü olarak, toksinin metabolizması sonucu serbest oksijen radikali oluşabilir. Bu duruma örnek olarak paraquat verilebilir. Özellikle karaciğerde biriken paraquat, bir serbest radikale indirgendikten sonra, tekrar yükseltgenerek rejenere edilirken beraberinde oksijen indirgenir. Böylece bol miktarda süperoksit meydana çıkmış olur. Dördünü durumda ise toksin, antioksidan aktiviteyi düşürebilir. Örneğin, parasetamolün karaciğerde sitokrom P-450 tarafından metabolize edilmesiyle, glutatyonla reaksiyona giren ve miktarını azaltan bir ürün meydana gelmektedir (Akkuş *et al.* 1995).

Reaktif Oksijen Partiküllerinin Kaynakları

I - Normal biyolojik işlemler

- 1 - Oksijenli solunum
- 2 - Katabolik ve anabolik işlemler

II - Oksidatif stres yapıcı durumlar

- 1 - İskemi - hemoraji - travma - radyoaktivite -intoksikasyon
- 2 - Ksenobiotik maddelerin etkisi
 - a-) İnhale edilenler
 - b-) Alışkanlık yapan maddeler
 - c-) İlaçlar
- 3 - Oksidan enzimler
 - a-) Ksantin oksidaz
 - b-) İndolamin dioksigenaz
 - c-) Triptofan dioksigenaz
 - d-) Galaktoz oksidaz
 - e-) Siklooksigenaz
 - f-) Lipooksigenaz
 - g-) Monoamino oksidaz
- 4 - Stres ile artan katekolaminlerin oksidasyonu
- 5 - Fagositik inflamasyon hücrelerinden salgılanma
- 6 - Uzun süreli metabolik hastalıklar
- 7 - Diğer nedenler: Sıcak şoku, güneş ışını, sigara

III - Yaşlanma süreci

(Carroll 1987, Çavdar *et al.* 1997).

2.5. Antioksidan Savunma Sistemleri

Reaktif oksijen türlerinin seviyesini ve indükledikleri hasarı sınırlandırmak için vücutta antioksidan savunma sistemleri görev yapmaktadır. Canlı hücrelerde bulunan protein, lipit, karbonhidrat ve DNA gibi okside olabilecek maddelerin oksidasyonunu önleyen veya azaltan maddelere antioksidanlar ve bu olaya antioksidan savunma denilmektedir (Çavdar ve ark. 1997). Antioksidanlar, hem direkt hem de dolaylı olarak ksenobiyotiklerin, ilaçların, kanserojenlerin ve toksik radikal reaksiyonlarının istenmeyen etkilerine karşı hücreleri korurlar (Mercan 2004).

Serbest radikallerin DNA'da meydana getirdiği hasar oldukça önemlidir. DNA'yı etkileyip mutasyona ve hatta ölüme neden olurlar. Hidroksil radikali (OH•) bazlar ve deoksiribozla kolaylıkla reaksiyona girer ve değişikliklere sebep olur. Aktifleşmiş nötrofillerden kaynaklanan H₂O₂ membranlardan kolayca geçerek hücre çekirdeğine ulaşarak DNA hasarına, hücre disfonksiyonuna ve hatta hücre ölümüne neden olabilir (Mathers *et al.* 2004).

Antioksidanlar serbest radikaller için kolay bir elektron hedefi oluştururlar. Eğer serbest radikaller, istedikleri elektronu antioksidanlardan sağarlarsa başka bir yapıya zarar vermezler. Böylece antioksidanlar, serbest radikallerin etkilerini nötralize ederek onların neden oldukları dejeneratif hastalıklar ve erken yaşlanma süreçlerini başlatan zincirleme reaksiyonlarını engellerler. Antioksidan savunma sistemleri, reaktif oksijen radikallerini daha az toksik ürünlere dönüştüren enzim sistemleri (katalaz, süperoksit dismutaz, glutatyon peroksidaz gibi) veya radikalleri yakalayıp nötralize eden antioksidan maddeler (melatonin, lipoik asit, vitamin A, E ve C gibi) olarak ayrılmaktadır. Antioksidanlar, doğal (endojen) kaynaklı ve dış (eksojen) kaynaklı antioksidanlar olmak üzere başlıca iki ana gruba ayrılabilirdiği gibi, serbest radikalın meydana gelişini önleyenler ve mevcut olanları etkisiz hale getirenler şeklinde de ikiye ayrılabilirler. Ayrıca enzim olan ve enzim olmayanlar şeklinde de sınıflandırılırlar (Akkuş 1995).

Antioksidanlar, oksidan moleküllere karşı etkilerini, çeşitli mekanizmalar ile gösterirler. Bunlar serbest oksijen radikallerini etkileyerek onları tutma veya daha zayıf yeni bir moleküle çevirme işlemi şeklinde “toplayıcı” veya “süpürücü” (scavenging) bir etki, serbest radikallerle etkileşip onlara bir hidrojen katarak aktivitelerini azaltan veya inaktif hale getiren “bastırıcı”, “giderici” (quencher) bir etki, serbest radikalleri kendilerine bağlayarak zincirleme olarak devam eden reaksiyonları belli yerlerinde kırarak “zincir kırıcı” (chain breaking) bir etki ya da “onarıcı”, “tamir edici” (repair) bir etki şeklinde gerçekleşebilmektedir. Antioksidan enzimler ve küçük moleküller toplayıcı etki gösterirken; vitaminler, flavanoidler, trimetazidin ve antosiyanoidler bastırıcı etki gösterirler. Hemoglobinin, seruloplazmin ve mineraller ise zincir kırıcı etki göstermektedirler (Halliwell and Gutteridge 1989, Akkuş 1995).

Antioksidanlar, mekanizmalarına göre birincil ve ikincil antioksidanlar olmak üzere iki kısma ayrılırlar. Birincil antioksidanlar; mevcut radikallerle reaksiyona girerek bunların daha da zararlı formlara dönüşmelerini ve yeni serbest radikallerin oluşumunu engelleyen bileşiklerdir. İnsanda belli başlı hücre içi antioksidanlar süperoksit dismutaz (SOD), katalaz (CAT) ve glutatyon peroksidaz (GPx) enzimleridir. SOD’un yapısında bakır, çinko ve manganez; GPx’de ise selenyum iyonu bulunduğu için bu enzimler metaloenzim olarak da adlandırılır. Hücre içi ortamın aksine, hücre dışı ortamda ikincil antioksidanlar olan oksijen radikalini yakalayan ve radikal zincir reaksiyonlarını kıran C vitamini, E vitamini, ürik asit, bilirubin ve polifenoller ve benzeri gibi olan bileşiklerdir (Ou *et al.* 2002, Halliwell, 1991b, Çavdar *et al.* 1997).

Antioksidan savunma elemanları hücre içi ve hücre dışı ortamda farklıdır. Bazı antioksidanlar yalnız hücre içinde görev yapar. Örneğin, tamir enzimleri serbest radikal hasarını DNA’da okside bazları çıkararak yapar (Breimer1991, Ames 1989) ve membranlardan okside yağ asitlerini uzaklaştırır (Maiorino *et al.*, 1991). Bu reaksiyonlar intrasellülerdir (Anderson 1996). Bazı antioksidan savunmalar ise ekstrasellülerdir, örneğin plazma taşıma proteini transferrin ve demir bağlayıcı protein laktoferrin. Demir bu protein ile bağlandığında serbest radikal hasarını katalizleyemez (Halliwell and Gutteridge 1989). Bu proteinler gözyaşı gibi vücut

salgılarında bulunur (Anderson 1996). Albumin de bakır iyonlarını bağlar ve bu şekilde çeşitli radikal reaksiyonlarını engelleyebilir (Halliwell and Gutteridge 1989).

Antioksidan savunma sistemlerinden bazıları da hem intrasellüler hem de ekstrasellüler olarak bulunur. α -Tokoferol membranlarda ve lipoproteinlerde meydana gelir. α -Tokoferol, ara peroksil radikalini yok ederek lipit peroksidasyonunun zincir reaksiyonunu engeller. C vitamini, komşu yağ asidi zincirlerine saldırmada daha az reaktif olan tokoferol radikalini, α -tokoferole çevirir. α -Tokoferol kardiovasküler hastalıklara ve nörodejenerasyona karşı korumada önemlidir (Muller and Goss 1990). İndirgenmiş glutatyon, ozon ve sigara dumanındaki serbest radikaller gibi oksidatif toksinleri ve nitrik oksidi yok ettiği solunum yolu haricinde vücutta çok az miktarlarda bulunur (Slade *et al.* 1993). Ürat, pürin metabolizmasının son ürünüdür ve serbest radikalleri yok eder (Kaur and Halliwell 1990).

Askorbat, α -tokoferol, GSH ve su, serbest radikaller ile nonkatalitik olarak doğrudan reaksiyona girerek onları uzaklaştırırlar (Anderson 1996). Bitkiler lipit peroksidasyonunu ve lipooksijenazları inhibe eden flavonoidler gibi birçok fenolik bileşikler içerirler (Laughton 1991). Yağ alımının azaltıldığı, sebze, meyve, yemişler ve tohumlarca zengin bir diyet kardiovasküler hastalıklar ve kanseri de kapsayan birçok hastalığa karşı koruyucu olarak görülmektedir (Ames 1983, Coglan 1991, Caragay 1992).

E vitamininin diyetle artan alımı miyokardial enfarktüstünlümleri azaltmaktadır (Byers 1993). Serum antioksidanları ve diyet üzerine epidemiyolojik çalışmalar, E vitamini ve β -karoten seviyesinin artmasının akciğer ve kolon kanserinden ölümleri azalttığını göstermektedir (Menkes *et al.* 1986). Vücutta daima belirli bir düzeyde bulunan doğal antioksidan moleküller, yine belirli bir düzeye kadar olabilen oksidan molekül artışını etkisiz hale getirebilmektedir. Böylece sağlıklı bir organizmada, oksidan düzeyi ve antioksidanların bunları etkisizleştirme gücü bir denge içinde kalmaktadır. Ancak oksidanlar belirli düzeyin üstünde oluşur veya antioksidanlar yetersiz olursa, yani denge bozulursa, oksidatif stres denilen durum ortaya çıkar ve söz konusu oksidan moleküller organizmanın yapı elemanları olan proteinleri,

lipitleri, karbonhidratları, nükleik asitleri ve yararlı enzimleri bozarak zararlı etkilere yol açarlar (Halliwell 1991b, Çavdar *et al.* 1997).

2.6. Oksidatif Stres ve DNA Hasarını Önlemede Fitokimyasallar

Toksistenin olası bir mekanizması olarak özellikle son yıllarda pek çok araştırmanın odağı haline gelen “oksidatif stres” kısaca, serbest radikallerin hücrede aşırı miktarda oluşmaları şeklinde tanımlanmaktadır (Mercan 2004). Oksidatif stres, temelde, normal biyolojik reaksiyonlarda dahi sürekli oluşum içinde olan serbest radikaller ile bu moleküllerin etkilerini ortadan kaldırmaya çalışan antioksidan savunma sistemi arasındaki dengenin bozulmasıyla ortaya çıkar (Boyunağa ve Çelik 1996). Oksidatif stres, tüm hücre bileşenleri (karbonhidratlar, proteinler, yağlar, nükleik asitler) üzerinde tahrip edici etkiye sahiptir ve çeşitli mekanizmalar ile bu biyomoleküllere hasar vermektedir (Cooke *et al.* 2003, Evans ve Cooke 2004, Burçak ve Andican 2004). Oksidatif stres sonucu oluşan hidroksil radikali başta olmak üzere birçok serbest radikal, genetik materyalimiz olan DNA’daki bazların değişimine ve DNA zincirinde kırılmalara sebep olarak kanser oluşumu, hücre yaşlanma ve hücre ölümüne kadar giden süreçleri başlatıp, ilerletebilmektedir (Boyunağa ve Çelik 1996).

Son zamanlarda insanların bitkisel ilaçlara ve doğal bileşiklere olan ilgisi, giderek artmaktadır. Tamamlayıcı ya da alternatif tıbbın kullanımı, bu bitkilerin faydalarına inanan çok sayıda insanla birlikte son derece büyük oranda bir artış göstermiştir. Şifalı bitkiler dünya çapındaki reçeteli ilaçların %40’ ının temelini oluşturmaktadır (Zheng and Wang 2001).

Epidemiyolojik çalışmalar meyvelerin, sebzelerin ve tüm tahılların düzenli olarak tüketilmesinin böylece fitokimyasalların kanser, koroner kalp hastalığı, diyabet, yüksek kan basıncı, enflamatuvar, viral ve parazitik hastalıklar, psikotik bozukluklardaki yararlı etkileri ortaya konmuştur (Pada 1995, Dillar and German 2000, Silva *et al.* 2005, Tosetti *et al.* 2009).

Oksidatif hasarlar değişik mekanizmalarla birlikte tümör oluşumunda rol oynarlar. DNA hasar görürse ve onarılmazsa mutasyonlar, tek veya çift zincir kırıkları,

kromozom kırıkları ve kopan parçaların farklı yerlere yapışması gibi durumlar gözlenebilir. Serbest radikallerin ortaya çıkardığı oksidatif stresin engellenmesi ve etkisinin en aza indirilmesi amacıyla yeterli miktarda antioksidan tüketilmelidir (Liu 2003).

Tıbbi bitkilerde bulunan etken maddeler insan sağlığı açısından önem taşıdığından bu maddelerin sentetik yolla elde edilmesine eskiden beri çalışılmaktadır. Yapılan araştırmalar sonucu bunlardan bazılarının sentetik olarak elde edilmesi zamanla tıbbi bitkilerin kullanım alanlarını geriletmiştir. Ancak bu bitkilerdeki etken maddelerin yeni kullanım alanlarının bulunması bu bitkilerin değerini arttırmıştır. Bugün, yaşama standartlarına göre kullanılma ve üretim amaçları değişiklik göstermektedir (Yılmaz *et al.* 1998).

Dünya Sağlık Örgütü (WHO) dünya nüfusunun %60'ının sentetik ilaçları hiç kullanmadığını dörtte üçünün ise kendi geleneksel kültürlerindeki bitkisel kaynaklı olan ilaçlara güvendiğini ve bunları kullanmaya devam ettiklerini göstermiştir (Çubukçu *et al.* 2002). Bu tedavilerin birçoğu bitki ekstrelerinin ya da onların aktif bileşenlerini kullanmaya dayanır (Craig 1999).

2.7. *Momordica charantia* Bitkisi

Cucurbitaceae (kabakgiller) familyasına ait otsu ve sarılıcı bir bitki olan *Momordica charantia* çok eski çağlardan beri tüm dünyada ampirik ilaçların yapımında kullanılan bir bitkidir. Bitkinin orjini Afrika olup tropik iklim bölgelerinde, Amazon havzası, Doğu Afrika, Güney Asya, Güney Amerika, Hindistan ve Karayip yerli nüfusu arasında diyabete bağlı durumların tedavisi için kullanılan popüler bir bitkidir. Peru, Nikaragua, Çin, Küba, Malezya, Haiti, Galapagos adaları ve Yeni Ginede ampirik tıpta yaygın olarak kullanılmaktadır (Cefalu 2008, Cousens 2008).

Tek yıllık, tırmanıcı, sarmaşık formunda bir bitki olan, yaz aylarında çiçek açar. Yaprakları, yelpaze şeklinde, loplu, kenarları dişlidir. Sarı renkli küçük çiçekleri, erkek veya dişi olarak, ayrı sapsız üzerindedir. Meyveleri önce yeşil, olgunlaşınca turuncu-kırmızı renkte, 10-20 cm uzunluğunda, geniş bir mekik şeklinde olup, üstleri girintili çıkıntılı ve pürüklüdür. Meyve olgunlaşınca, kabuğu 3 ayrı parça

halinde, geriye bükülerek çok sayıda, kırmızı-kahverengi veya beyaz renkli çekirdekleri ortaya çıkar. Çekirdekleri 7-10 mm boyunda, yassı ve pütürlüdür. Latince'de *Momordica* ısırma anlamına gelir, yapraklarının adeta yenik gibi durmasından dolayı bu isim verilmiştir. Bitkinin bütün kısımları ve öz suyu çok acıdır (Sakono *et al.* 2000).

Özellikle Filipinlerde şifalı olduğuna inanılarak, çok yetiştirilen bir bitkidir. Acımsı tadına karşın, birçok Filipin yemeğinde kullanılmaktadır. Filipinlerde yerel adı Ampalaya'dır. Batı ülkelerinde, acı kavun (bitter melon), acı kabak (bitter gourd), Afrika hıyarı (African cucumber), balsam elması (balsam apple) veya balsam armudu (balsam pear) olarak adlandırılır. Filipinlerde'nin faydalı olduğu birçok hastalık olduğuna inanılmaktadır (Chao 2003).

Bitki çeşitli biyolojik olarak etkin olan bileşikler içerir. Bunlar momordicin I ve momordicin II ve cucurbitacin B dir. MC'nin Yaprak, meyve ve tohum için kalori değerleri sırasıyla 213,26, 241,66 ve 176,61 Kcal/100 g olup kalorisi çok düşük bir bitkidir. Bununla birlikte içeriğinde aktif olan kimyasal maddeler: diyet lif, mineraller, vitaminler ve antioksidanlardır. Meyve yüksek miktarda vitamin C, vitamin A, vitamin E, vitamin B1, B2 ve B3 ve vitamin B9 (folat) içerir (Bakare 2010). Vitamin-C, güçlü doğal antioksidanlardan biridir ve vücuttaki zararlı serbest radikallerin kanser oluşturmasını önler. Bitki ayrıca β -karoten, α -karoten, lutein ve zeaxantin gibi sağlıklı flavonoidler içerir (Singhet *al.*1998).

Buna ek olarak, bitkisel niasin (vitamin B-3), pantotenik asit (vitamin B-5), piridoksin (vitamin B-6), alkaloidler, charantin, charine, kriptoksantin, cucurbitin, cucurbitacin, cucurbitanlar, sikloartenol, diosgenin, elaeostearik asit, eritrodiol, galakturonik asit, gentisik asit, goyaglikositler, goyasaponinler guanilatsiklaz inhibitörleri, gypsogenin, hidroksitriptamin, karounidiol, lanosterol, laurik asit, linoleik asit, linolenik asit, momorcharasid, momorcharin, momordenol, momordisilin, momordisin, momordicinin, momordicosides, momordin, momodolo, multiflorenol, miristik asit, nerolidol, oleanolik asit, oleik asit, oksalik asit, pentadecan, peptidler, petroselinik asit, polipeptitler, proteinler, ribozomu inaktive edici proteinler, rosmarinik asit, rubixanthin, spinasterol, steroidal glikozit, stigmasta-diol, stigmasterol, taraxerol, tregaloz, tripsin inhibitörleri, urasil, vacine,

v-insulin, verbascoside, vicine, zeatin, zeatin riboside, zeaxantin amino asit, aspartik asit, serin, glutamik asit, alanin, g-amino bütirik asit ve pipekolik asit, ascorbigen, b-sitosterol-d-glucozit, citrulline, elasterol, flavocrome, lutein, likopen, pipekolik asit, peptin demir, çinko, potasyum, manganez ve magnezyum gibi mineral içinde önemli bir kaynaktır (Kumar *et al.* 2010).

Brezilya'da, tümörlerde, yaralarda, romatizmada, sıtmada, adet problemlerinde, şeker hastalığında, kolikde, ateşli durumlarda ve barsak kurtlarına karşı kullanılmaktadır. Ayrıca çocuk düşürmek ve afrodisyak (cinsel iştahı arttırıcı), deri hastalıkları, ekzama, uyuzda da kullanılmaktadır (Li *et al.* 2009).

Kanser tedavisinde etkili olduğu yönünde bulgular vardır. MAP-30 ismiyle patent alan prostat tümörü tedavisinde kullanılan bir proteini bulunmaktadır. Brezilya halk tıbbında tümörler, yaralar, romatizma, malarya, vajinal rahatsızlıklar, inflamasyonlar, diabet, kolik, menstural problemler ve barsak parazitleri tedavisinde kullanılmakta ve bitkin bütün kısımlarından faydalanılmaktadır (Nerurkar *et al.* 2008)

Meksika'da bitkinin bütün kısımları şeker hastalığında, dizanteride kullanılmakta, köklerinin ise afrodisyak olduğuna inanılmaktadır. Peru'da bitkinin yaprakları ve bütün toprak üstü kısmı, kızamık, sıtma ve her türlü iltihabi olayda kullanılmaktadır. Nikaragua'da yapraklar, mide ağrısı, ateşlenme durumunda, şeker hastalığında, soğuk algınlığı, öksürük, baş ağrısı, sıtma, deri hastalıkları, adet bozukluklarında, ağrı, hipertansiyon iltihabi olaylarda ve doğum sırasında yardımcı olmak üzere kullanılır. Geleneksel Çin tababetinde, bu sebze iştah açıcı, mide-barsak iltihaplarında ve meme kanserine engel olmak için kullanılmaktadır (Grover *et al.* 2004).

2.8. DNA Hasarını Belirlemede Kullanılan Yöntemler

2.8.1 Mutajenite ve Genotoksisite Testleri

Bir maddenin mutajenik veya genotoksik etkili olup olmadığını saptamak amacıyla çeşitli yöntemler geliştirilmiştir. Bu yöntemler; *Salmonella typhimurium* mutant suşlarının kullanıldığı, bakteriyel Ames testi, CA, SCE ve MN frekanslarının araştırıldığı sitogenetik yöntemler ve alkali ortamda DNA elektroforezinin yapıldığı Komet yöntemidir (Single Cell Gel Electrophoresis, SCGE). Bu yöntemler laboratuvar çalışmalarında olduğu kadar populasyon taramalarında ve çevre kirliliği araştırmalarında da kullanılmaktadır. Ayrıca bu yöntemler ile doğal ürünlerin anti-karsinojenik ve anti-mutajenik özellikleri de incelenebilmektedir.

2.8.1.1 Ames Testi

İlk defa 1973 yılında Dr. Bruce N. Ames tarafından geliştirilmiş bir yöntemdir. Ames testi olarak da adlandırılan *Salmonella*/mikrozom test sistemi, kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırılmasında en yaygın olarak kullanılan, mutajen-karsinojen etkisi en iyi bilinen kimyasallar ile geçerliliği en fazla kabul edilmiş kısa süreli bakteriyel test sistemlerinden birisidir. Tanımlandığı yıldan bu yana 5000'den fazla kimyasal maddenin mutajenik ve karsinojenik etkileri bu test ile araştırılmıştır. Ayrıca bu test sisteminde karaciğer mikrozom enzimleri (S9) kullanılarak, kimyasal maddenin metabolitlerinin de mutajenik olup olmadığı araştırılabilmektedir. S9 kullanıldığında pozitif sonuç alınması, bu kimyasal maddenin kendisinin zararsız olduğunu, fakat canlı vücuduna alındığında ortaya çıkacak metabolitlerin zararlı etkiye sahip olduğunu gösterir. Ames yönteminde genellikle *Salmonella typhimurium* mutant suşları (TA98 ve TA100) kullanılmaktadır. Her test susu histidin operonunun değişik bölgelerinde çeşitli mutasyonlar içermektedir. Bunlar ya DNA'daki tek bir bazın değişmesi ile ortaya çıkan baz değişimleri ya da bir bazın eklenmesi veya çıkarılması ile kendini gösteren çerçeve kayması mutasyonlarıdır (Ames *et al.* 1973, Mortelmans and Zeiger 2000).

2.8.1.2 CA Yöntemi (Kromozomların Homojen Boyanması)

Bu yöntemle kromozomların sayısal ve yapısal anormallikleri incelenmektedir. Mutajen ve karsinojenlerin kromozom aberasyonlarını indüklediği saptanmış ve

aberasyon frekansının kanser riski taşıyan grupların tanımlanmasında önemli olduğu görülmüştür. Yöntemde genellikle kolsemid ve kolşisin gibi tubilin polimerizasyon inhibitörü kullanılmakta böylece hücre bölünmesinde metafaz safhasında kalmış kromozomlar sayı ve aberasyon yönünden değerlendirilmektedir. Bu yöntemle incelenebilen yapısal aberasyonlar; kromatid kırığı, kromozom kırığı, fragment, disentrik kromozom, halka kromozom, kardeş kromatidlerin birleşmesi, traslokasyon, izokromozom ve endoreduplikasyondur (Hagmar *et al.* 1994, Bonassi *et al.* 1995).

2.8.1.3 SCE Yöntemi

Perry ve Evans tarafından 1975 yılında tanımlanan SCE analizi, günümüzde genotoksisite analizlerinde kullanılan geleneksel yöntemlerden birisi haline gelmiştir. SCE, bir kromozomun kardeş kromatidleri arasında meydana gelen resiprokal parça değişimi olayıdır. Karsinojenik ve mutajenik maddelerin, SCE düzeyini artırdığı gözlenmiştir. Bu nedenle, bu yöntemde kardeş kromatidler farklı boyanmakta ve aralarındaki SCE frekansı saptanmaktadır Çok sayıda farklı SCE yöntemi geliştirilmiş olmakla birlikte, yöntemin temel prensibi DNA replikasyonunun iki hücre siklusu boyunca BrdUrd'li (5'-Bromo-2'-deoxyuridine) ortamda gerçekleştirilmesidir. Uygun bir boyama yöntemiyle hazırlanan preparatlarda değerlendirme ikinci bölünmedeki metafaz hücrelerinde yapılmaktadır (Perry and Evans 1975, Tice and Hollaender 1984, Albertini *et al.* 2000).

2.8.1.4 Mikronukleus (MN) Yöntemi

Geleneksel sitogenetik yöntemlerden birisi de Fenech ve Marleyn tarafından 1985 yılında tanımlanan MN yöntemidir (Kirsch-Volders 1997, Albertini *et al.* 2000).

Mikronukleuslar (MN) hücrenin mitoz bölünmesi sırasında ortaya çıkan, esas çekirdeğe dahil olmayan, tam kromozom, sentrik veya asentrik kromozom fragmanlarından köken alan oluşumlardır (Zijno *et al.* 1994; Vanparys *et al.* 1990). Fenech ve arkadaşları (1985), tarafından geliştirilen bloklanmış MN metodu, klasik MN testlerinde karşılaşılan bazı kinetik problemlerin ortadan kalkmasını ve tekniğin uygulanmasındaki güvenilirliğin artmasını sağlamıştır. Bu metod, küf mantarlarının metabolitlerinden biri olan Cytochalasin B (Cyt-B) ile mitoz geçiren hücrelerde sitokinezi durdurma esasına dayanmaktadır. Standart lenfosit kültürlerine uygun

konsantrasyonda Cytochalasin B ilavesiyle, ilk nükleus bölünmesini tamamlamış ancak sitoplazmik bölünmesini gerçekleştirememiş binükleuslu hücreler kolaylıkla tanınarak sayılabilmekte ve MN bulunduran hücrelerin oranı saptanabilmektedir (Fenech *et al.* 1985). MN sayısındaki artış, çeşitli ajanların hücrelerde oluşturduğu sayısal ve yapısal kromozom düzensizliklerinin indirekt göstergesi olarak değerlendirilmektedir. Anöploidiyi uyaran ajanlar, sentromer bölünme hatalarına ve iğ iplikçiklerinde fonksiyon bozukluklarına yol açarak; klastojenler ise kromozom kırıklarını oluşturarak MN oluşumuna katkıda bulunurlar (Zijno *et al.* 1994; Vanparys *et al.* 1990).

Klastojenik etki sonucu oluşan ve asentrik kromozom fragmentleri içeren MN'ların, aneujenik etki sonucu oluşan tam bir kromozom içeren MN'lardan daha küçük olduğu kabul edilmektedir (Sato and Tomita 2001).

2.8.1.5 Comet (Single Cell Gel Electrophoresis) Yöntemi

Bu yöntem daha ucuz olması ve kısa sürede güvenilir sonuçlar alınabilmesi nedeniyle sitogenetik analizlere alternatif bir yöntem olarak değerlendirilmektedir. İlk olarak 1978'de Rydberg ve Johanson tarafından tanımlanan yöntemi, Singh ve arkadaşları 1988'de modifiye ederek alkali komet yöntemini geliştirmişlerdir. Yöntem temel olarak çalışılacak dokudan izole edilen DNA'nın elektroforezi prensibine dayanmaktadır. DNA'nın pozitif kutba hareketi kuyruklu yıldız benzeyen bir şeklin ortaya çıkmasına neden olmaktadır. Etidyum bromür ile boyandıktan sonra DNA'daki hasar floresan mikroskobu ile incelenmektedir. Kuyruk uzunluğu, DNA hasarı ile doğru orantılı olarak artmaktadır (Singh *et al.* 1988, Sasaki *et al.* 2000).

3. MATERYAL ve METOT

3.1 Materyal

3.1.1 Kullanılan Araç ve Gereçler

1. Hassas Terazî (AND)
2. Soğutmalı santrifüj (Hettich)
3. Floresan mikroskop (Olympus)
4. ± 4 °C Buzdolabı (Altus)
5. -20°C Derin dondurucu (Arçelik)
6. Vorteks (Nüve NM 110)
7. Pipetler (0,5-2 µL, 0,5-100 µL, 50-200 µL, 200-1000 µL, 1-5 mL) (Gilson)
8. Otoklav (Nüve ot 032)
9. Distile su cihazı (Nüve)
10. Elektroforez düzeneği (Biolab)
11. Elektroforez güç kaynağı (Power Pack P 25)
12. Hotplate (Thermolyne)
13. pH metre (Hanna Instruments)
14. İnkübatör (Heraeus)
15. Manyetik karıştırıcı (Hangping, Variomag)
16. Etüv (Dedeoğlu)
17. Lam(26x76mm) ve Lamel (24x60mm) (İso Lab)
18. Spektrofotometre (Jenway 6305)

3.1.2. Kullanılan Test Mikroorganizması

Bu çalışma aynı zamanda Yeast Comet Assay olarak da adlandırılmaktadır. Portekiz Minho Üniversitesi, Biyoloji Bölümünden elde edilen haploid *Saccharomyces cerevisiae* BY4741 suşu (*MATa his3Δ1 leu2Δ0 met15Δ0 ura3Δ0*) ilgili tüm deneylerde kullanıldı.

3.1.3. Test İçin Kullanılan Bitki Materyali

Bu çalışmada *Momordica charantia* bitkisinin meyve ekstraktları kullanıldı.

3.1.4. Kullanılan Çözeltiler

3.1.4.1. Kullanılan Besi Yerleri

a. Katı ve Sıvı Yeast Peptone Dextrose (YPD) Besi Yeri

Katı YPD Besi Yeri	Sıvı YPD Besi Yeri	
Maya ekstresi (Fluka, 92144)	0,25 g	0,25 g
Pepton (Fluka, 70173)	0,50 g	0,50 g
Dekstroz (Sigma, D 9434)	0,50 g	0,50 g
Agar (Sigma, A 1296)	0,50 g	-

Miktarları verilen maddeler tartılarak distile su ile 25 mL'ye tamamlandı. Hücrelerin üretilmesi işlemi için kullanıldı.

3.1.4.2. Kullanılan Çözeltiler

a. Sorbitol Tamponu

1 M sorbitol (Sigma, S 0900)	18,20 g
25 mM KH ₂ PO ₄ (Merck, 1.04871)	0,34 g

Verilen miktarlarda alınan maddeler distile su ile 100 mL'ye tamamlandı. pH derecesi 6,5 olarak ayarlandı ve Comet yöntemi esnasında hücrelerin yıkanması işlemi için kullanıldı.

b. Normal Kaynama Dereceli Agar (NMA) (%1)

NMA (Sigma, A 4718)	0,02 g
Sorbitol tamponu	2,00 mL

Belirtilen miktarlarda alınan maddeler kaynayana kadar ateşte bekletildi ve homojen bir çözelti elde edildi. Sıcak bir şekilde ısıtıcı tabla üzerinde ısıtılan lamaların üzerine yayıldı.

c. Düşük kaynama dereceli agar (LMA) (%1)

LMA	0,02 g
Sorbitol tamponu	2,00 mL

Miktarları verilen maddeler ateşte kaynatılarak homojen bir çözelti elde edildi. Hücrelerin agaroz jele tutunmasını sağlamak amacıyla NMA ile kaplı olan lamellere ılık bir şekilde yayıldı.

d. Lizis Tamponu

30 mM NaOH (Sigma, 06203)	0,24 g
1 M NaCl (Sigma, 13423)	11,72 g
% 0.05 Lauril sarkozin (Sigma, L 9150)	0,10 g
50 mM EDTA (Sigma, E 5134)	0,72 g
10 mM Tris-HCl (Sigma, T 3253)	0,315 g

Verilen maddeler tartıldı ve distile su ile 200 mL'ye tamamlandı. Çözeltinin pH derecesi 10 olarak ayarlandı. Hazırlanan çözelti hücreleri lizis etmek amacıyla kullanıldı.

e. Elektroforez Tamponu

30 mM NaOH	0,60 g
10 mM EDTA	1,80 g
10 mM Tris-HCl	0,78 g

Miktarları verilen maddeler distile su ile 500 mL' ye tamamlandı. Çözeltinin pH değeri 10 olarak ayarlandı.

f. H₂O₂Çözeltisi

% 30'lik H₂O₂ çözeltisinden 106 µL alındı. +4°C 'de 9894 µL distile su ile 10 mL'ye tamamlandı. Böylece 0,1 M H₂O₂ çözeltisi hazırlanmış oldu (stok). Deney gününde 0,1 M H₂O₂ çözeltisinden 0,5 mL alınıp +4°C 'de 9,5 mL eklenip 10 ye tamamlanarak 5 mM H₂O₂ çözeltisi hazırlandı. Yine 0,1 M H₂O₂ çözeltisinden 0,1 ml alınıp üzeri 9,9 ml ile 10 ml tamamlanarak 1 mM lık H₂O₂ çözeltisi hazırlandı.

g. Litikaz Tamponu

Litikaz (Sigma, L 2425)	0,01 gr
Sorbitol Tamponu 2x	2500,00 µL
Deiyonize H ₂ O	1500,00 µL
β-merkaptoetanol (Sigma, M 7522)	20,00 µL

Belirtilen miktarlardan elde edilen karışım 5 mL'dir. Comet yöntemi esnasında, maya hücre duvarının parçalanması ve sferoplastların elde edilmesi için kullanılmıştır.

h. Etidyum Bromür Çözeltisi

10 mg etidyum bromür 50 mL çözdürüldü ve 200 µg/mL stok etidyum bromür çözeltisi elde edildi. Hazırlanan stok çözelti oda sıcaklığında muhafaza edildi. Stok etidyum bromür çözeltisinden 1 mL alındı ve distile su ile 10 mL'ye tamamlandı. 20 µg/mL'lik etidyum bromür çözeltisi hazırlandı.

1. *Momordica charantia*

MC'nin meyve kısmı etüvde kurutuldu, kurutulan meyve blender ile toz haline getirildi. 20 g ekstre 400 ml dH₂O ile bir cam kap içerisine konarak 15 dk

kaynatıldı. Oda sıcaklığında soğutulması beklendi ve filitre kağıdından geçirilerek stok sulu ekstre hazırlanmış oldu. Saklamak için -20 °C kullanıldı.

Farklı konsantrasyonlarda hazırlamak için ise şu aşamalar yapılmıştır: (bu işlem metot kısmında belirtilen doz belirleme işleminden sonra yapıldı). 35 ml lik Sıvı YPD besi yeri hazırlandı. 7 farklı cam tüpe 5'er ml bu besiyerinden konuldu. İlk tüpte bulunan 5 ml lik besiyerinin üzerine 5 ml MCE'den 5 ml ilave edilerek pipetaj yapıldı.). Bu ilk tüpten 5 ml alınarak ikinci tüpe ilave edildi ve pipetaj yapılarak homojen hale getirildi (konsantrasyon oranı 1/2). Aynı işlem 7 tüp için ayrı ayrı uygulandı ve sırasıyla 4., 5. ve 6. tüpler (1/16 , 1/32, 1/64 dilüsyonları) seçilerek uygulanacak olan dozlar olarak saklandı. (dilüsyon aşamasının hemen ardından tüm tüpler ağızları pamukla tıkanarak 30dk steril edildi.) çalışma gününe kadar + 4°C de saklandı.

3.2. Metot

3.2.1. *Saccharomyces cerevisiae* Suşunun Saklanması ve Üretilmesi

S. cerevisiae suşu hazırlanan YPD katı besiyerine ekildi. Katı YPD besiyerinde gelişen hücreler Sıvı YPD besiyerine aktarıldı. Çalkalayıcı etüvde 200 rpm'de 30°C'de geliştirildi. Spektrofotometrede Optik densite (OD) değeri 600 nm oluncaya kadar beklendi.

Doz belirlemek için: MİK (minimal inhibitör konsantrasyonunu) belirlendi.

Sıvı YPD besiyeri kaynatılmadan çözdürülecek şekilde çözeltisi hazırlandı. 10 farklı temiz cam tüpe 5'er ml bu besiyerinden pay edildi. İlk besiyeri olan tüpe önceden hazırlanan stok sulu bitki ekstresinden 5 ml eklendi. Toplam hacim 10 ml oldu. İlk tüpten (10 ml olan) 5 ml çekilip ikinci tüpe eklendi. Bu şekilde % 50 dilüe edilerek 10 tüp tamamlandı ve ağızları pamukla tıkanarak düdüklüde steril edildi. Ardından Oda sıcaklığında soğuması beklendi. Bir gün önceden sallamalı etüve koyulan sıvı YPD besiyerinden (maya hücrelerinin üremesinin gerçekleştiği besiyerinden) Mcfarland işlemi için 200 µl -300 µl kadar alınarak 25 ml lik hazırlanan sıvı YPD besiyerinin üzerine steril ortamda ilave edildi ve bu besiyerinden 100'er µl alınarak 10 tüpe ekim yapıldı. Ekim işleminin ardından tüm tüpler ağızları pamukla tıkanarak

30°C lik etüvde 1 gün inkübasyona bırakıldı ve spektrofotometede OD değerlerine bakıldı.

3 farklı doz belirlendi ve işlem şu şekilde yapıldı:

Üremenin olmadığı tüpteki konsantrasyon sidal konsantrasyondur (öldüren konsantrasyon). Üremenin olmadığı konsantrasyonun bir alt konsantrasyonu ise üremeyi durduran konsantrasyondur (Statik etki). Üremeyi durduran konsantrasyondan itibaren alt dilüsyonlardaki besiyerlerinden nitrüent agarlı katı besiyerine 5 er µl ekim yapıldı 24 saatin sonunda üremelere bakılarak hangi dozların kullanılması gerektiğine karar verildi. Aynı gün içerisinde sıvı YPD besiyeri hazırlandı. Sıvı YPD besiyeri hazırlamak için tekrar katı besiyerinden bir koloni alınarak sıvı YPD besiyerine ekim yapıldı ve sallamalı etüvde 30 °C 200 rpm de 1 gün süre ile inkübe edildi ve spektrofotometrede OD değerlerine bakılarak uygun değerler OD 400-800 olduğunda çalışmaya başlandı.

3.2.2. Maya Hücrelerinde Comet Yöntemi ile *Momordica charantia*'nın DNA Hasarı Üzerine Koruyucu Etkisi

Maya hücreleri sıvı YPD besi yerinde geliştirildi. OD 600 değeri uygun yoğunluğa geldiğinde 1000 µl alınıp ependorflara aktarıldı. 5000 rpm +4 °C, 2 dk santrifüj edildi ve süpernatant döküldü. Pelet üzerine 1 ml dH₂O eklenerek 5000 rpm +4 °C, 2 dk de santrifüj edilip yıkandı ve süpernatant döküldü. Yine pelet üzerine 1 ml sorbitolile süspanse edildikten sonra 1 ml alınarak 15.000 rpm de +4 °C, 2 dk santrifüj edilerek süpernatant atıldı. Pelet üzerine 250 µl litikaz tamponunda 200 rpm de 30°C de 60 dk bekletildi. 5000 rpm +4 °C, 2 dk santrifüj edilerek süpernatant atıldı. 1ml dH₂O ile 5000 rpm +4 °C, 2 dk yıkandı. Süpernatant dipte biraz kalacak şekilde döküldü. Slayt sayımız kadar ependorf tüplerine 80 er µl paylaştırıldı. 20 şer µl istediğimiz dozlarda her bir tüpe etken maddeden eklenerek 60 dk 200 rpm 30°C de inkübe edildi. 0,5 ml veya 1 ml dH₂O ekleyip 5000 rpm +4 °C, 2 dk yıkandı. Süpernatant biraz kalacak şekilde döküldü. 30 µl hücre, 100 µl lma ile karıştırılarak lamlara yayıldı ve üzerleri lamel ile kapatılarak +4 °C de donması beklendi. Lamel kaydırılarak çıkarıldı 1mM lık ve 5 mM lık H₂O₂ 300 µl olacak şekilde her lam üzerine yayılarak 5 dk. +4 °C de inkübe edildi ve dH₂O ile yıkandı. 1 saat lizis edildi. Bu aşamada lizat ayırma işlemi için ependorflarda da kalan örnekler üzerine

200 er µl Sorbitol Tampon eklenerek 5000 rpm de 2 dk +4°C de santrifüj edildi ve süpernatantlar alınarak – 20 °C de TAS, TOS için saklandı. Örnekler elektroforez tankında 20 dk. ortam konsantrasyonu için bekletildi ve 300 mA, 25 V’da 20 dk minimal ışık altında yürütme işlemine geçildi. Slaytlar son olarak 65 µL Etidyum bromür ile boyandı. DNA hasarı Floresan Mikroskopta (Olympus) gözle değerlendirildi. Her bir okumada 100 hücre DNA’sı incelenerek DNA da oluşan hasarın derecesi kuyruk oluşumuna göre beş kategoride sınıflandırıldı. Hiç hasar bulunmayan DNA’lar “0” maksimum hasar olan DNA’lar “4” olarak değerlendirildi. Hasar birimi olarak “Arbitrary Unit” (AU) kullanıldı (Marques 2009).

3.2.3. Maya Hücrelerinde Comet Yöntemi ile *Momordica charantia* ‘nın DNA Hasarı Üzerine Tamir Edici Etkisi

Maya hücreleri sıvı YPD besi yerinde geliştirildi. OD 600 değeri uygun yoğunluğa geldiğinde 1000 µl alınıp 5 ependorflara aktarıldı. 5000 rpm +4 °C, 2 dk santrifüj edildi ve süpernatant döküldü. Pelet üzerine 1 ml dH₂O eklenerek 5000 rpm +4 °C, 2 dk santrifüj edilip yıkandı ve süpernatant döküldü. Yine pelet üzerine 1 ml sorbitol ile süspansiyon edildikten sonra 1 ml alınarak 15.000 rpm de +4 °C, 2 dk santrifüj edilerek süpernatant atıldı. Pelet üzerine 250 µl litikaz tamponunda süspansiyon edildikten sonra, sferoplastları elde etmek amacı ile 200 rpm de 30 °C 60 dk bekletildi. 5000 rpm +4 °C, 2 dk santrifüj edilerek süpernatant atıldı. 1ml dH₂O ile 5000 rpm +4 C, 2 dk santrifüj edildi. Süpernatant dipte yaklaşık 80 er µl kalacak şekilde dökülerek slayt sayımız kadar ependorf tüplerine paylaştırıldı. 4 ependorfdaki pelet üzerine 1 mL 1 mM H₂O₂ konuldu. Kalan 1 ependorfa 1 mL dH₂O eklendi. H₂O₂ konulan ependorflar 5 dakika bekletildikten sonra 5000 rpm’ de 4 °C’ de 2 dakika santrifüj edildi ve süpernatant döküldü. Süpernatant kısmı atılarak pelet üzerine 500 µL dH₂O konularak H₂O₂ ortamdan uzaklaştırıldı. 20 şer µl ilgili tüplere 1/16, 1/32, 1/64’ lük dilüsyonlardan sırasıyla eklendi ve kontrol grubu ve pozitif kontrol grubu için ayrılan tüpe 20’ şer µl sıvı YPD besiyeri (boş besiyeri) eklendi. 1 saat 200 rpm de 30 °C de sallamalı etüvde inkübe edildi. Her tüpe 1 ml dH₂O eklendi ve 5000 rpm + 4 °C de 2 dk çevrilerek biraz kalacak şekilde süpernatant döküldü. 30 µl hücre, 100 µl LMA ile karıştırılarak lamlara yayıldı ve

üzerleri lamel ile kapatılarak +4 °C de donması beklendi.1 saat lizis edildi. Bu aşamada lizat ayırma işlemi için ependorflarda da kalan örnekler üzerine 200 er µl Sorbitol Tampon eklenerek 5000 rpm de 2 dk +4 °C de santrifüj edildi ve süpernatantlar alınarak – 20 °C de TAS TOS için saklandı. Örnekler elektroforez tankında 20 dk. ortam konsantrasyonu için bekletildi ve 300 mA’de 25 V’da 20dk minimal ışık altında yürütme işlemine geçildi. Slaytlar son olarak 65 µL Etidyum bromür ile boyandı. DNA hasarı Floresan Mikroskopta (Olympus) gözle değerlendirildi. Her bir okumada 100 hücre DNA’sı incelenerek DNA da oluşan hasarın derecesi kuyruk oluşumuna göre beş kategoride sınıflandırıldı. Hiç hasar bulunmayan DNA’lar “0” maksimum hasar olan DNA’lar “4” olarak değerlendirildi. Hasar birimi olarak “Arbitrary Unit” (AU) kullanıldı (Marques 2009).

3.2.4. Total Oksidan ve Antioksidan Seviyelerin Ölçülmesi

3.2.4.1. Total Oksidan Seviyesi (TOS)

Çalışmada kullanılan etken maddelerin total oksidan seviyelerinin ölçülmesi amacıyla hazır kit kullanılmıştır (Rel Assay Diagnostic, RL0024). Kullanılan kitin çalışma prensibi şu şekildedir:

Ferroz iyon-o-dianisidine kompleksini, örnekte bulunan oksidanlar, ferik iyon oksitlerler. Ortamda bulunan gliserol bu reaksiyonu yaklaşık üç katına çıkarmaktadır. Ferrik iyonlar asidik ortamda kromojen ile renkli bir kompleks meydana getirirler. Örnekte bulunan oksidanların miktarıyla ilişkili olan renk şiddeti spektrofotometrik olarak ölçülmektedir. H₂O₂ standart olarak kullanılır. Sonuçlar µmol H₂O₂ equivalent/L olarak ifade edilir (Erel 2005).

Hazır kitte bulunan bileşikler:

- Reagent 1 (Assay Buffer): 50 mLx1
- Reagent 2 (Prokromojen Çözeltisi): 10 mLx1
- Standart 1 (Kör çözelti)

- Standart 2 (Stabil stok standart çözelti (SSSS)) (800 Mm H₂O₂ Equiv./L)

İlk olarak standart çalışma solüsyonu hazırlanır. SSSS 40.000 kar deiyonize su kullanılarak seyreltilir. 50 µL SSS 10 mL deiyonize suya ilave edilerek vortekslenir. Hazırlanan bu solüsyondan 50 µL alınıp tekrar 10 mL deiyonize suya eklenir. Son konsantrasyon olarak ise elimizde 20 µM H₂O₂ bulunur.

Örnekler bu aşamadan sonra sulandırılır. 500 µL Reagent 1 boş tüplere konularak üzerlerine 75 µL örnek ilave edilir. Standart 1 olarak kullanılacak tüpe 500 µL Reagent 1 ve 75 µL deiyonize su ilave edilir. Standart 2 tüpüne ise 75 µL seyreltilen H₂O₂ 'dan eklenir. 530 nm'de ilk absorbanslarına bakıldıktan sonra tüm örneklerin üzerlerine 25 µL Reagent 2 ilave edilir. Sonra 5 dakika, 37 °C 'de bekletilerek ikinci absorbans değerleri ölçülür. Sonuç verilen formül yardımıyla hesaplanır:

Total Oksidan Seviyesi (TOS): (ΔAbs.örnek / ΔAbs.standart2) x 20

Δ: ΔAbs.2- ΔAbs.1

4.2.4.2.Total Antioksidan Seviye (TAS)

Çalışmada kullanılan etken maddelerin total antioksidan seviyelerinin ölçülmesinde hazır kit kullanılmıştır (Rel Assay Diagnostic, RL0017). Kullanılan kitin çalışma prensibi ise şu şekildedir:

ABTS radikalleri ileri oksidasyon reaksiyonlarına katılarak koyu mavi-yeşil renk oluşumu artmaktadır. Ancak örneklerdeki antioksidanlar bu oksidasyon reaksiyonlarını bastırarak renk oluşumunu durdurmaktadırlar. Bu reaksiyon otomatik analizörde 660 nm'de spektrofotometrik olarak ölçülerek sonuç gösterir ve total antioksidan seviye hakkında bilgi verir. Kalibratör olarak E vitamininin suda çözünür bir analogu olan Trolox kullanılır. Sonuçlar mmol Trolox equivalent/L olarak ifade edilir (Erel 2004).

Hazır kitte bulunan bileşikler:

- Reagent 1 (Assay Buffer): 50 mLx1

- Reagent 2 (Renkli ABTS radikal solüsyonu): 10 mLx1
- Standart 1 (Kör çözelti)
- Standart 2 (1.0 mmol Trolox equivalent/L solüsyon): 10 mLx1

İlk olarak örnek tüplerine 500 µL Reagent 1 ve 30 µL örnek eklendi. Daha sonra boş bir tüpe 500 µL Reagent 1 ve 30 µL deiyonize su eklenerek standart 1 tüpü hazırlandı. Aynı şekilde 500 µL Reagent 1'in üzerine 30 µL deiyonize su eklenerek standart 2 tüpü elde edildi. 660 nm'de ilk spektrofotometrik okumalar yapıldıktan sonra tüm örneklerin üzerine 75 µL Reagent 2 ilave edildi. 5 dakika, 37 °C 'de bekletildikten sonra ikinci absorban değerleri ölçüldü. Sonuç aşağıdaki formül ile hesaplandı:

$$\text{Total Antioksidan Seviye} = \frac{[(\Delta\text{Abs. standart1}) - (\Delta\text{Abs. örnek})]}{[(\Delta\text{Abs. standart1}) - (\Delta\text{Abs. standart2})]}$$

Δ: Abs.2-Abs.1

4. BULGULAR

4.1. Total Oksidan Ve Antioksidan Seviye (TOS ve TAS)

Bu çalışma sonucunda MC'den elde edilmiş ekstrelerin total oksidan ve total antioksidan seviyeleri bulunmuştur.

Yapılan deneyde hasar önleme amaçlı 1mM H₂O₂'in oluşturduğu oksitadif strese karşı MCE'nin 1/16'lık dilüsyonu %65 oranında oksidatif stresi azaltarak maksimum düzeyde antioksidan özellik gösterirken, 1/64'lük dilüsyonu %36 oranında oksidatif stresi azaltarak minimum düzeyde antioksidan özellik göstermiştir.

5mM H₂O₂'nin oluşturduğu oksitadif strese karşı MCE'nin 1/32'lik dilüsyonu %44 oranında oksidatif stresi azaltarak maksimum düzeyde antioksidan özellik gösterirken, 1/64'lük dilüsyonu %25 oranında oksidatif stresi azaltarak minimum düzeyde antioksidan özellik göstermiştir.

Tedavi edici amaçlı yapılan çalışmada ise 1mM H₂O₂'in oluşturduğu oksitadif strese karşı MCE'nin 1/16'lık dilüsyonu %66 oranında oksidatif stresi azaltarak 1/32 lik dilüsyona göre daha az düzeyde antioksidan özellik gösterirken, yine 1/64'lük dilüsyonu %52 oranında oksidatif stresi azaltarak 1/16'lık dilüsyona göre yüksek düzeyde antioksidan özellik göstermiştir.

5mM H₂O₂'in oluşturduğu oksitadif strese karşı MCE'nin 1/32'lik dilüsyonu %28 oranında oksidatif stresi azaltarak maksimum düzeyde antioksidan özellik gösterirken, 1/64'lük dilüsyonu %8 oranında oksidatif stresi azaltarak minimum düzeyde antioksidan özellik göstermiştir.

Elde edilen bulgular OSI (oksidatif stres indeksi) değeri düşük olan etken maddenin antioksidan özelliğinin yüksek olduğunu göstermiştir. Çalışmamızda antioksidan özelliği en yüksek olan değer 0,29 mmol Trolox Equiv./L olarak 1/16 olan dilüsyonunda bulunmuştur (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1 *Momordica charantia* ekstralarının total antioksidan, oksidan seviyeleri ve oksidatif stres indeksi değerleri

Uygulama	TOS μ mol H ₂ O ₂ Equiv./L	TAS mmol Trolox Equiv./L	OSI	% Değişim (PK'ya göre)
1/16 MCE+1mM H ₂ O ₂	37,14	0,29	128	65,73
1/32 MCE+1mM H ₂ O ₂	38,57	0,19	203	45,66
1/64 MCE+1mM H ₂ O ₂	50	0,21	238	36,29
1/16 MCE+5mM H ₂ O ₂	34,29	0,12	285	33,41
1/32 MCE+5mM H ₂ O ₂	35,72	0,17	238,13	44,36
1/64 MCE+5mM H ₂ O ₂	25,71	0,08	321,37	24,31
1mM H ₂ O ₂	48,57	0,13	373,61	-
5mM H ₂ O ₂	25,71	0,06	428	-
Kontrol	22,86	0,19	120,31	-
1mM H ₂ O ₂ +1/16 MCE	21,43	0,15	142,86	66,66
1mM H ₂ O ₂ +1/32 MCE	31,43	0,21	149,66	65,07
1mM H ₂ O ₂ +1/64 MCE	38,57	0,19	203	52,62
5mM H ₂ O ₂ +1/16 MCE	25,71	0,08	321,37	28,02
5mM H ₂ O ₂ +1/32 MCE	24,29	0,06	404,83	9,33
5mM H ₂ O ₂ +1/64 MCE	32,86	0,04	410	8,17
1mM H ₂ O ₂	25,71	0,06	428,5	-
5mM H ₂ O ₂	35,72	0,08	446,5	-
Kontrol	24,57	0,19	129,31	-

MCE: *Momordica charantia*(kudret narı) ekstresi, TAS: Total antioksidan seviye, TOS: Total oksidan seviye, OSI: Oksidatif stres indeksi.

4.2. Farklı Konsantrasyonlardaki *Momordica charantia* ekstresi'nin H₂O₂ İle Oluşturulan DNA Hasarına Karşı Koruyucu Özelliğine İlişkin Bulgular

Deneylerimizde hidrojen peroksitin DNA'daki hasarının oluşmasını önlemek için iki farklı yol kullanıldı. Bunların ilkinde ekstreler, hasarın oluşumunu önleme amacıyla verilirken, diğer yöntemde hasarı tedavi amaçlı olarak verildi. DNA hasarı oluşumunu önleme amaçlı yapılan tüm deneylerde, MCE' nin tüm farklı dilüsyonuygulamalarında DNA hasarı pozitif kontrolün çok altında ve negatif kontrole daha yakın bulundu ve MCE' nin DNA hasarına karşı koruyucu olduğu bulundu.

MCE' nin 1/16, 1/32 ve 1/64'lük dilüsyonlarının 1 mM H₂O₂ ile maya hücrelerinde oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. *S. cerevisiae* sferoplastları MCE'nin 1/16, 1/32, 1/64 'lük dilüsyonları ile 60 dk ön inkübasyona bırakıldı. Ardından 1 mM H₂O₂ ile oluşturulan hasarda en yüksek DNA hasarı skor ortalaması PK grubunda 124±4,00 olarak bulunmuştur. Bu değer denenen diğer uygulamalarda farklı bulunmuştur (p<0,05). En düşük DNA hasar skoru ortalaması K 38,64±3 olarak elde edilmiştir. Ekstre ile inkübasyona bırakılan gruplarda 1/16 MCE + 1 mM H₂O₂, 1/32 MCE + 1 mM H₂O₂, 1/64 MCE + 1 mM H₂O₂ 'lük dilüsyonları içinsirasıyla DNA hasar skoru ortalamaları 70±4, 76±4,72 ve 112±3 olarak elde edilmiştir. Pozitif kontroldeki hasar yaklaşık 124±4,00 olarak elde edilmiştir. DNA hasar skoru 124±4,00olarak bulunan PK grubu ile karşılaştırıldığında 1/16'lük ekstre uygulamasında meydana gelen DNA hasarındaki azalış istatistiksel açıdan önemlidir (p< 0,05) ve 1/16'lük ekstre uygulamasının ardından DNA hasarında meydana gelen düşüş de istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05) (Çizelge 4.2).

Çizelge 4. 2 Farklı dilüsyonlardaki MCE' nin, 1 mM H₂O₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu özelliğinin değerlendirilmesi

UYGULAMA	DNA Hasar Skoru (AU)
	X± SS*
K	38,64±3 ^a
PK (1 mM H ₂ O ₂)	124±4,00 ^b
1/16 MCE + 1 mM H ₂ O ₂	70±4 ^c
1/32 MCE + 1 mM H ₂ O ₂	76±4,72 ^c
1/64 MCE + 1 mM H ₂ O ₂	112±3 ^b

* Sütunlardaki farklı harfler p< 0,05 düzeyinde önemli (Tukey testi)

X; Ortalama, SS; Standart Sapma, K; Kontrol, PK; Pozitif Kontrol

MCE' nin 1/16, 1/32 ve 1/64 dilüsyonlarının 5 mM H₂O₂ ile maya hücrelerinde oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu etkileri araştırılmıştır. *S. cerevisiae* sferoplastları MCE'nin 1/16, 1/32, 1/64 'lük dilüsyonları ile 60 dk ön inkübasyona bırakıldı. Ardından 5 mM H₂O₂ ile oluşturulan hasarda en yüksek DNA hasar skoru ortalaması PK grubunda 152±4,00 olarak bulunmuştur. Bu değer denenen diğer uygulamalarda farklı bulunmuştur (p<0,05). En düşük DNA hasar skoru ortalaması K 38,64±3 olarak elde edilmiştir. Ekstre ile inkübasyona bırakılan gruplarda 1/16 MCE + 5 mM H₂O₂, 1/32 MCE + 5mM H₂O₂, 1/64 MCE + 5 mM H₂O₂'lük dilüsyonları içinsirasıyla DNA hasar skoru ortalamaları 84±6, 90±4 ve 132±4,2 olarak elde edilmiştir. Pozitif kontroldeki hasar yaklaşık 152±4,00 olarak elde edilmişti. DNA hasar skoru 124±4,00 olarak bulunan PK grubu ile karşılaştırıldığında 1/16 'lık ekstre uygulamasında meydana gelen DNA hasarındaki azalış istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05) ve 1/16'lık ekstre uygulamasının ardından DNA hasarında meydana gelen düşüş de istatistiksel açıdan önemlidir (p<0,05) (Çizelge 4.3).

Çizelge 4.3 Farklı dilüsyonlardaki MCE' nin, 5 mM H₂O₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı koruyucu özelliğinin değerlendirilmesi

UYGULAMA	DNA Hasar Skoru (AU)
	X± SS*
K	38,64±3 ^a
PK (5 mM H ₂ O ₂)	152±4,00 ^b
1/16 MCE + 5 mM H ₂ O ₂	84±6 ^c
1/32 MCE + 5 mM H ₂ O ₂	90±4 ^c
1/64 MCE + 5 mM H ₂ O ₂	132±4,2 ^b

* Sütunlardaki farklı harfler p< 0,05 düzeyinde önemli (Tukey testi)

X; Ortalama, SS; Standart Sapma, K; Kontrol, PK; Pozitif Kontrol

4.3. Farklı Konsantrasyonlardaki *Momordica charantia*'nın H₂O₂ İle Oluşturulan DNA Hasarına Karşı Tamir İndüksiyonuna İlişkin Bulgular

DNA hasarını tedavi amaçlı yapılan tüm deneylerde MCE' nin üç farklı dilüsyonunda DNA hasarı pozitif kontrole yakın bulundu. 1 mM H₂O₂ ile maya hücrelerinde oluşturulan DNA hasarına karşı MCE'nin 1/16, 1/32, 1/64 dilüsyonlarının tamir edici etkileri araştırılmıştır. *S. cerevisiae* sferoplastları 1 mM H₂O₂ ile oluşturulan hasarın ardından MCE'nin 1/16, 1/32 ve 1/64 'lük dilüsyonları ile 60 dk inkübasyona bırakıldı. En yüksek DNA hasar skoru ortalaması PK grubunda 124±4,00 olarak bulunmuştur. Bu değer deneydeki diğer uygulamalarda farklı bulunmuştur (p<0,05). En düşük DNA hasar skoru ortalaması hiçbir muamele görmeyen K grubunda 38,64±3 olarak elde edilmiştir. Ekstre ile inkübasyona bırakılan gruplarda 1 mM H₂O₂ + 1/16 MCE, 1 mM H₂O₂ + 1/32 MCE, 1 mM H₂O₂ + 1/64 MCE 'lük dilüsyonları içinsirasıyla DNA hasar skoru ortalamaları 96±4,4, 116±6,72 ve 120±4,6 olarak elde edilmiştir. Pozitif kontroldeki hasar yaklaşık 124±4,00 olarak elde edilmiştir. DNA hasarı skor 124±4,00 olarak bulunan PK grubu ile karşılaştırıldığında 1/16, 1/32, 1/64' lık ekstre uygulamasında meydana gelen DNA hasarındaki azalış istatistiksel açıdan önemli değildir (p>0.05) (Çizelge 4.4).

Çizelge 4.4 1 mM H₂O₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı farklı dilüsyonlardaki MCE'nin, tamir edici özelliğinin değerlendirilmesi

UYGULAMA	DNA Hasar Skoru (AU)
	X± SS*
K	38,64±3 ^a
PK (1 mM H ₂ O ₂)	124±4,00 ^b
1 mM H ₂ O ₂ +1/16 MCE	96±4,4 ^c
1 mM H ₂ O ₂ +1/32 MCE	116±6,72 ^b
1 mM H ₂ O ₂ +1/64 MCE	120±4,6 ^b

* Sütunlardaki farklı harfler p< 0,05 düzeyinde önemli (Tukey testi)

X; Ortalama, SS; Standart Sapma, K; Kontrol, PK; Pozitif Kontrol

5 mM H₂O₂ ile maya hücrelerinde oluşturulan DNA hasarına karşı MCE'nin 1/16, 1/32, 1/64 dilüsyonlarının tamir edici etkileri araştırılmıştır. *S. cerevisiae* sferoplastları 5 mM H₂O₂ ile oluşturulan hasarın ardından MCE'nin 1/16, 1/32, 1/64'lük dilüsyonları ile 60 dk inkübasyona bırakıldı. En yüksek DNA hasar skoru ortalaması PK grubunda 152±4,00 olarak bulunmuştur. Bu değer deneydeki diğer uygulamalarda farklı bulunmuştur (p<0,05). En düşük DNA hasar skor ortalaması hiçbir muamele görmeyen K grubunda 38,64±3 olarak elde edilmiştir. Ekstre ile inkübasyona bırakılan gruplarda 1 mM H₂O₂ + 1/16 MCE, 1mM H₂O₂ + 1/32 MCE, 1 mM H₂O₂ + 1/64 MCE 'lük dilüsyonları için sırasıyla DNA hasar skoru ortalamaları 138±6,4, 144±3,72 ve 146±5,6 olarak elde edilmiştir. Pozitif kontroldeki hasar yaklaşık 124±4,00 olarak elde edilmiştir. DNA hasar skoru 152±4,00 olarak bulunan PK grubu ile 1/16, 1/32 ve 1/64 lük ekstre uygulamasında meydana gelen DNA hasarındaki azalış istatistiksel açıdan önemli değildir (p>0.05) (Çizelge 4.5).

Çizelge 4.5. 5 mM H₂O₂ ile oluşturulan DNA hasarına karşı farklı dilüsyonlardaki MCE'nin, tamir edici özelliğinin değerlendirilmesi

UYGULAMA	DNA Hasar Skoru (AU) X± SS*
K	38,64±3 ^a
PK (1 mM H₂O₂)	152±4,00 ^b
5 mM H₂O₂ +1/16 MCE	138±6,4 ^b
5 mM H₂O₂ +1/32 MCE	144±3,72 ^b
5 mM H₂O₂ +1/64 MCE	146±5,6 ^b

* Sütunlardaki farklı harfler p< 0,05 düzeyinde önemli (Tukey testi)

X; Ortalama, SS; Standart Sapma, K; Kontrol, PK; Pozitif Kontrol

5. TARTIŞMA ve SONUÇ

Sürekli gelişmekte olan teknoloji, oluşan çevre kirliliği, sigara, UV ve pek çok diğer etken sürekli olarak çeşitli toksik maddelerle karşı karşıya kalmamıza neden olmaktadır. Bu etkiler kendini serbest radikal oluşumuyla gösterir. Günümüzde serbest radikallerin birçok hastalığın, kanserin ve yaşlılığın etiyolojisinde yer aldığı bilinmektedir. Serbest radikaller hayvanlarda ve bitkilerde biyolojik moleküllerin yapı ve fonksiyonlarını kaybetmelerine yol açmakta ve bu durum da organizmanın hastalıklarla karşı karşıya kalmasına neden olmaktadır. Tüm bu nedenlerden dolayı dış etkilerle oluşan hastalıklar artmakta, genetik hastalıkların da çevresel etkilerle daha çok belirginleşmesine neden olmaktadır. Bu hastalıklara çözüm getirmek öncelikle bu hastalıkların oluşumunu engellemekle gerçekleşebilir. Bunun için de ilaçlardan öte alınan besinler önem kazanmaktadır.

DNA'da hasar olarak tanımlanan genotoksik etki, kanser başlatıcı bir mekanizma olarak kabul edilmekte, bu nedenle geliştirilen çeşitli yöntemler ile DNA'daki hasarın saptanması kanser riskinin belirlenmesinde yardımcı olabilmektedir (Salama *et al.* 1999). Antimutajen ve antikanserojenlerin kullanımı ile genotoksik mekanizmaların engellenebileceği, böylece insan kanser ve genetik hastalıklarının önlenebileceği öne sürülmektedir. İlaç halinde ya da diyet içerisinde doğal orijinli bileşikler halinde bir ya da daha fazla sayıda kimyasal bileşiğin verilmesiyle kanser gelişiminin engellenmesi “chemoprevention” (kimyasal engelleme) olarak tanımlanmakta ve kanser kontrol yöntemi olarak giderek artan biçimde önem kazanmaktadır (Morse and Stoner 1993, Kelloff *et al.* 1994).

Kanser gelişiminin önlenmesi amacıyla kullanılan kimyasal bileşikler, sentetik olarak veya yiyeceklerde doğal bileşikler olarak bulunmaktadır (Morse and Stoner 1993). Bu bileşiklerden sentetik antioksidanlar, bu yüzyılın başından beri yaygın olarak kullanılmaya başlanmış fakat toksik etkileri yüzünden sınırlama getirilmiş, bu nedenle doğal antioksidanlar daha büyük önem kazanmaya başlamıştır. Günümüzde güvenilir ve ekonomik antioksidanların bulunmasına ve bunların antigenotoksik etkilerinin araştırılmasına büyük gereksinim vardır (Osawa *et al.* 1992, Gürbüz 2006).

Bu tez çalışmasında hücre kültürü ortamında *S. cerevisiae*'de H₂O₂'nin oluşturduğu DNA hasarına karşı üç farklı dilüsyonda elde edilen MCE'nin hasar önlemedeki etkinliği ve tamir indüksiyon etkinliği araştırılmıştır. Güçlü mutajen özelliği nedeni ile pozitif kontrol olarak H₂O₂ ve negatif kontrol olarak sadece sıvı YPD besiyeri kullanılmıştır.

Meydana gelen DNA hasarının seviyesi, kısa sürede sonuç vermesi, ucuz ve hassas bir yöntem olması sebebiyle alkalın tek hücre elektroforez yöntemi (Comet Assay) ile oksidatif durum ise erel yöntemi olan TAS, TOS, OSI ölçüm metodu ile ve istatistiksel analizler TUKEY testi ile tayin edilmiştir.

Hücre kültür ortamındaki koruyucu etkinlikte bulunan *S. cerevisiae* sferoplastlarına önce MCE' nin 1/16, 1/32 ve 1/64' lük dilüsyonları ayrı ayrı uygulanmıştır. Belli bir inkübasyon süresi sonrasında ise 1mM H₂O₂ ve 5mM H₂O₂ iki farklı grup olarak ayrı ayrı eklenmiştir. Netice olarak H₂O₂'nin DNA üzerinde hasar oluşturma etkisine karşı MCE'nin belli dozlarda yüksek derecede savunma hattı oluşturarak DNA hasarını önemli oranda fakat farklı oranlarda azalttığı sonucuna varılmıştır.

Ayrıca hücre kütürü ortamında bulunan *S. cerevisiae* sferoplastları önce 1mM H₂O₂ ve 5 mM H₂O₂ ile iki farklı grup olarak ayrı ayrı muameleye tutulmuştur. Beli bir inkübasyon süresinin ardından 1/16, 1/32 ve 1/64'lük ekstreler ayrı ayrı uygulandığında ise oluşan hasarın tamir edilemediği bulunmuştur.

H₂O₂ kullanılarak oluşturulan DNA hasarına karşı MCE'nin herhangi bir tamir indüksiyon etkinliği görülmemiştir. Fakat MCE'nin DNA hasarının önlenmesinde önemli düzeyde bir etkisi olduğu bulunmuştur.

Hücre kültür ortamında *S. cerevisiae* hücrelerinde H₂O₂ ile DNA hasarı oluşturulduktan sonra 3 farklı dilüsyonda MCE ortama ilave edilip bir saatlik inkübasyon süresinin ardından hasar durumu değerlendirildiğinde oluşan DNA hasarında hiçbir ekstre ile bir azalmanın tespit edilememesi, MC'nın daha çok DNA hasarı ve kanser oluşumunu önlemede ön kulanımda etkili olabileceğini, dolayısı ile özellikle sağlıklı kişilerin kansere yakalanmamak için tüketmeleri gereken bir besin

olduğunu, DNA'sı hasarlanan veya kanser olan bir kişinin DNA'sını tamir etmede fazla etkinliğinin olamayacağını göstermiştir.

MCE'nin en iyi koruyuculuk dozu olarak 70 ± 4 hasar skoru ile 1/16 dilüsyonu belirlenmiştir.

Ayrıca, kültür ortamına ilave edilen ekstrelerde TAS, TOS ve OSI seviyeleri tayin edilerek DNA hasarı ile oksidatif durum arasındaki ilişki araştırılmış, ekstrelerin TAS seviyelerinin dilüsyon artışı ile birlikte azaldığı, DNA hasarına direncin en yüksek olduğu ekstraktlarda antioksidan seviyesinde en yüksek düzeyde olduğu ancak H_2O_2 ilavesi ile birlikte antioksidan kapasitenin hızla düştüğü tespit edilmiştir.

Bu çalışmayla *S. cerevisiae* sferoplastlarında oksidan bir madde olan H_2O_2 tarafından oluşturulan genetik hasarın minimize edilmesinde, MCE'nin içeriğinde bulunan birçok kimyasal bileşenin yanı sıra, yüksek antioksidan özelliğe sahip vitamin C'nin özellikle etkili olduğu düşünülmektedir.

Antioksidan olarak bilinen fakat enzim olmayan bileşikler organizmada oksijen radikallerinin temizlenmesini sağlarlar. Bu kimyasal bileşiklerin en önemlileri A, E ve C vitaminleridir (Diplock 1991).

Momordica charantia'nın sahip olduğu antioksidan aktivite ile ilgili olarak fareler üzerinde yapılan bilimsel çalışmalarda, sırasıyla bitkiye ait meyvenin heksan ile su ve etanol ekstraktları kobay fare modelleri üzerinde denenmiştir. Elde edilen sonuçlarda sonuçlarda her iki araştırma sonucunda da antioksidan incelenen tüm ekstresinin antioksidan aktivite tespit edilmiştir (Semiz ve Şen 2007).

Grover ve Yadav (2004), hipoglisemik aktivitenin, charantin, insulin-benzeri peptidler ve alkaloidler olarak bilinen bitkinin steroidal saponinlerinden dolayı ortaya çıktığını bildirmektedirler. Kobay hayvanları kullanılan çalışma modelleri esas alınarak, Ahmed vd (1998), *Momordica charantia*'nın pankreastaki beta hücrelerinin yenilenmesinin artırılması veya kısmi hasar görmüş beta hücrelerinin geri kazanımına izin verilebiliyor olması olasılığını ortaya koymaktadırlar. Yine Ahmed ve arkadaşları (2004) tarafından suyunun streptozosin ile indüklenmiş

yüzeysel sınırların anormalliklerini normalleştirdiğini, kalın bağırsaktan glukoz alımını stimüle ettiğini tespit etmişlerdir.

Momordica charantia bitki ekstresi ile yapılan çalışmada *Entamoeba histolytica* karşı antiprotozoal aktivite sağlandığı (Grover and Yadav 2004) ve meyve ekstraktının *Helicobacter pylori*'ye karşı aktif olduğu da yapılan araştırmalarda belirlenmiştir (Yeşilada *et al* 1999).

Chaturvedi (2005), Senanayake ve arkadaşları (2004) ve Singh ve arkadaşları (1998), *Momordica charantia* meyvesinden ekstrakte edilen flavonoidler veya bitkinin metanol fraksiyonunun normal ve diyabetik kobay hayvanlarında lipid seviyesi düşürücü etkisini gerçekleştirdikleri bilimsel araştırma sonucunda bildirmişlerdir. Tipik olarak trigliserid ve LDL seviyelerinde düşüş, HDL seviyelerinde artış görülmüştür.

Momordica charantia 'da bulunan alfa- ve beta-momorcharin lectin ve MAP 30 gibi bileşenlerin, Epstein-Barr, HSV-1, HIV, Coxsackivirus B3 ve polio viruslerine karşı in vitro antiviral aktiviteleri, Beloin ve arkadaşları (2005), Bourinbaiar ve Lee-Huang (1998), Grover ve Yadav (2004), Sun ve arkadaşları (2001) tarafından incelenmiştir. Beloin ve arkadaşları (2005) tarafından yapılan çalışmada nın dondurularak kurutulmuş ekstraktı, HSV-1 virüsüne karşı kullanıldığında, antiviral aktivite için ışık varlığının önemli olduğu tespit edilmiştir.

Çeşitli in vitro ve in vivo araştırmalarda, olarak *Momordica charantia* bitkisinin tüm ekstresi ve bitkinin içeriğinde bulunan MAP 30, momordin I ve alfa-momorcharin gibi çeşitli bileşenlerinin antikanser aktivite gösterdiği görülmüştür (Basch *et al.* 2003).

Biswas ve arkadaşları (1991), in vivo çalışmalarında tohumlarının metanol ile elde edilen ekstresinin doza bağlı analjezik (ağrı kesici) etki gösterdiğini tespit etmişlerdir. Bu etkinin kısa süreli ve hızlı olduğu bildirilmiştir.

MC'den çıkarılan iki bileşik α -eleostearic asit (tohum) ve 15,16-dihidroksi- α -eleostearik asit (meyve) antikanser etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir. Saint Louis Üniversitesi'ndeki araştırmacılar yaygın yenen ve Hindistan'da karela olarak bilinen

kudret narının meme kanseri hücrelerini öldürmek için yardımcı olduğu tespit edilmiştir (Ratna . 2010).

Amerika birleşik devletlerinde kadınlar üzerinde yapılan meme kanserine yönelik çalışmalarda, meme kanseri hücreleri MCF-7, MDA -MB- 231 ve birincil insan meme epitelyum hücreleri invitro ortamda MCE ile muamele edildiğinde MCE' ninbu kanserli hücreleri önemli miktarda azalttığı ve hatta bu hücrelerin apoptotik hücre ölümü ile sonuçlandığı sonucuna varılmıştır. Bu çalışma MCE'nin antikansorejen olarak kullanılabilceği sinyalinini vermektedir (Ratna *et al.* 2010).

Yapılan bu çalışmada toplumda fitoterapide yaygın olarak kullanılan MCE'nin mutojenik bir ajan olan H₂O₂'nin DNA'da hasar oluşturuu etkisine karşı önemli derecede koruyucu özelliğe sahip olduğu ancak hasara uğrayan hücreleri onarmada yetersiz kaldığı bulunmuştur. Dolayısıyla MCE'nin, DNA hasarının neden olduğu hastalıklar oluştuktan sonra değil de tam tersine hastalıklar oluşmadan önce koruyucu olarak ve optimum dozda alınması gerektiği bulunmuştur.

6. KAYNAKLAR

- Ames, B., Lee, F., Durston, W. (1973). An Improved Bacterial Test System for the Detection and Classification of Mutagens and Carcinogens. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, **70**: 782-786.
- Ames, B.N. (1989). "Endogenous DNA damage as related to cancer and aging", *Mutation Research*, **214**: 41-46.
- Akkuş, İ. (1995). "Serbest Radikaller ve Fizyopatolojik Etkileri", Mimoza Yayınevi, Sağlık dizisi 5, Konya, 1-19, 39-40.
- Anderson, D. (1996). "Antioxidant defences against reactive oxygen species causing genetic and other damage", *Mutation Research*, **350**: 103-108
- Ahmed I et al. (1998). Effects of *Momordica Charantia* fruit juice on islet morphology in the pancreas of the streptozotocin-diabetic rat. *Diabetes Res Clin Pract* **40**: 145-51.
- Albertini, R.J., Anderson, D., Douglas, G.R., Hagmar, L., Hemminki, K., Merlo, F., Natarajan, A.T., Norppa, H., Shuker, D.E.G., Tice, R., Waters, M.D., Aitio, A. (2000). IPCS Guidelines for the Monitoring of Genotoxic Effects of Carcinogens in Humans. *Mutation Research*, **463**: 111- 172.
- Ahmed, I., Lakhani, MS., Gillett M., John, A. ve H. Raza, (2001). Hypotriglyceridemic and hypocholesterolemic effects of anti-diabetic *Momordica charantia* (karela) fruit extract in streptozotocin-induced diabetic rats. *Diabetes Res Clin Pract* **51(3)**:155–61.
- Alberts, Bruce; Alexander Johnson, Julian Lewis, Martin Raff, Keith Roberts, and Peter Walters (2002). *Molecular Biology of the Cell*; Fourth Edition. New York and London: Garland Science. ISBN 0-8153-3218-1.

- Assubaie, N.F., El-Garawany, M.M., (2004). Evaluation of some important chemical constituents of *Momordica Charantia* cultivated in Hofuf, Saudi Arabia. *Journal of Biological Sciences*, **4(5)**: 628-630.
- Beloin, N., Gbeassor, M., Akpagana, K., Hudson, J., de Soussa, K.Koumaglo, K., Arnason, J.T., (2005). Ethnomedicinal uses of *Momordica Charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. *Journal of Ethnopharmacology*, **96**: 49-55.
- Debeleç B. Bütüner, Kantarcı G. (2006). Mutasyon, Dna Hasarı, Onarım Mekanizmaları ve Kansere İlişkisi, *Ankara Ecz. Fak. Derg*, 35 (2): 149 – 170
- Bohr VA, Smith CA, Okumoto DS, Hanawalt PC. (1985). DNA repair in an active gene: removal of pyrimidine dimers from the DHFR gene of CHO cells is much more efficient than in the genome overall. *Cell* **40**, 359-369.
- Beranek DT., (1990). Distribution of methyl and ethyl adducts following alkylation with monofunctional alkylating agents, *Mutat Res.*; **231(1)**:11-30, Review.
- Breimer, L., (1991). "Repair of DNA damage induced by reactive oxygen species", *Free Radical Res. Commun.*, **14**: 159-171
- Byers, T., (1993). "Vitamin E supplements and coronary heart disease", *Nutr. Rev.*, **51**: 333- 345
- Bonassi, S., Abbondandolo, L., Camurri, L., De Ferrari, M., Degrossi, F. (1995). Are Chromosome Aberrations in Circulating Lymphocytes Predictive of A Future
- Boyunağa, H., Çelik, C., (1996). "Serbest Radikaller ve Hücresel Denge", *Bilim ve Teknik Dergisi*, **347**: 98-100.
- Bourinbaiar AS, Lee-Huang S. (1996). The activity of plant-derived antiretroviral proteins MAP30 and GAP31 against herpes simplex virus in vitro. *Biochem Biophys Res Commun* **219**: 923-9.

- Balajee AS, Bohr VA. (2000). Genomic heterogeneity of nucleotide excision repair. *Gene* 250, 15-30.
- Berg J., Tymoczko J. and Stryer L. (2002). *Biochemistry*. W. H. Freeman and Company ISBN 0-7167-4955-6
- Basch E, Gabardi S, Ulbricht C. (2003). Bitter melon (*Momordica charantia*): a review of efficacy and safety. *Am J Health Syst Pharm* **60**: 356-9.
- Burçak, G., Andican, G., (2004). “Oksidatif DNA Hasarı ve Yaşlanma”, *Cerrahpaşa Tıp Dergisi*, **35 (4)**: 159-169.
- Beloin N et al. (2005). Ethnomedicinal uses of *Momordica Charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. *J Ethnopharmacol* **96**: 49-55.
- Beloin N, Gbeassor M, Akpagana K, Hudson J, de Soussa K, Koumaglo K, Arnason JT (2005). Ethnomedicinal uses of *Momordica charantia* (Cucurbitaceae) in Togo and relation to its phytochemistry and biological activity. *J. Ethnopharmacol.* **96**: 49-55.
- Bütüner, B. Ve Kantarcı, G. (2006). Mutasyon, Dna Hasarı, Onarım Mekanizmaları Ve Kanslerle İlişkisi. Ege Üniversitesi, Eczacılık Fakültesi, Farmasötik Biyoteknoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi
- Braca, A., Siciliano, T., D'Arrigo, M. ve M. P. Germanò, (2008). Chemical composition and antimicrobial activity of *Momordica charantia* seed essential oil. *Fitoterapia*. **79**: 123–125.
- Bakare RI, Magbagbeola OA, Akinwande AI, Okunowo OW.(2010) Nutritional and chemical evaluation of *Momordica charantia*. *J Med Plant Res.* ;**4(21)**:2189–2193.
- Bektaş İ, Koçyiğit A. (2010). Hücre Kültürü Ortamında Çörek Otu (*Nigella Sativa*) Ve Sarımsak (*Allium Sativum*) Ekstraktlarının DNA Hasarı Üzerine

Etkisinin Araştırılması, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü
Biyokimya Anabilim Dalı Yüksek Lisans Tezi : 905

Carroll, E., (1987). "Oxygen radicals and human disease", *Ann. Intern. Med.*,**107**:
526-545

Coglan , A., (1991). "Europes search for the winning diet", *New Scientist*, 29-33

Caragay, A.B., (1992). "Cancer preventive foods and ingredients", *Food
Technol.*,**46**: 65-68

Couladis, M., Tzakou, O., Verykokidou, E., Harvala, C. (2003). Screening Of Some
Grek. Aromatic Plants For Antioxidant Activity. *Phytotherapy Research.*
17: 194-195.

Cancer Onset in Humans (1998). Preliminary Results of An Italian Cohort Study.
Cancer Genetics and Cytogenetics, **79**: 133-135.

Craig, WJ. (1999). Health-promoting properties of common herbs 1,2 (Suppl).
American Journal of Clinical Nutrition, 70 **3**: 491-499.

Clausen-Schaumann H, Rief M, Tolksdorf C, Gaub H (2000). "Mechanical stability
of single DNA molecules". *Biophys J* 78 (**4**): 1997–2007.

Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B., (2003). Mechanisms of human
DNA repair: an update, *Toxicology*, 15;193 (**1-2**): 3-34, Review.

Cooke, M.S., Evans, M.D., Dizdaroğlu, M., Lunec, J., (2003). "Oxidative DNA
damage: Mechanisms, mutation and disease", *FASEB J.*,**17**: 1195-1214

Chao CY, Huang CJ.(2003). Bitter gourd (*Momordica charantia*) extract activates
peroxisome proliferator-activated receptors and upregulates the expression
of the acyl CoA oxidase gene in H4IIEC3 hepatoma cells. *J Biomed Sci*;
10:782–91.

Christmann M, Tomicic MT, Roos WP, Kaina B. (2003). Mechanisms of human
DNA repair: an update, *Toxicology*,15;193(1-2):3-34, Review.

- Cheng, LY. Tang, L., Yan F., Wang, S. ve Chen F., (2004). The effects of the total saponin extract from the shoots of *Momordica charantia* L. on anti-virus HSV-II activity. *J Sichuan Univ (Nat Sci Ed)* 41(3):641–3.
- Conf. of American Soc. for Hort. Sci. Austin, Texas. Poster Session 18-Herbs, Spices and Medicinals, July **18**: 2004.
- Chaturvedi P. (2005) . Role of *Momordica Charantia* in maintaining the normal levels of lipids and glucose in diabetic rats fed a high-fat and low-carbohydrate diet. *Br J Biomed Sci* **62**: 124-6.
- Cefalu WT, Ye J, Wang ZQ. (2008) Efficacy of dietary supplementation with botanicals on carbohydrate metabolism in humans. *Endocr Metab Immune Disord Drug Targets*; **8**: 78–81.
- Cousens G. (2008) There is a cure for diabetes: the tree of life 21 day program. California: North Atlantic Books;. pp. 191–192.
- Çavdar, C., Sifil, A., Çamsarı, T., (1997). “Reaktif Oksijen Partikülleri ve Antioksidan Savunma”, *Türk Nefroloji Diyaliz ve Transplantasyon Dergisi*, **3-4**: 92-95
- Çubukçu, B., Sarıtaş, G., Meriçli, AH., Süylüınar, N., Mat, A., Meriçli, F. (2002). *Fitoterapi Yardımcı Ders Kitabı*. İstanbul Üniversitesi Farmakognozi Anabilim Dalı, İstanbul,1-3.
- Dizdaroğlu, M. (1991). Chemical determination of free radical-induced damage to DNA. *Free radical Biology & Medicine*,**10**: 225-242
- Diplock AT (1991). Antioxdant nutrients and disease prevention: An Overview. *Am J Clin Nutr*; 53: 1895-1935
- de Boer J, Hoeijmakers J. (2000). Nucleotide excision repair and human syndromes. *Carcinogenesis* 21, 453-460.

- Dillar, C.J. and German, J.B. (2000). Phytochemicals: nutraceuticals and human health. *J. Sci Food Agric.*, **80**: 1744-1756.
- Evans MK, Bohr VA. (1994). Gene-specific DNA repair of UV-induced cyclobutane pyrimidine dimers in some cancer-prone and premature-aging human syndromes, *Mutat Res.*;314(3):221-31.
- Ertürk, Ö., Demirbağ, Z. (2003). *Scorzonare mollis* Bieb. (Compositae) Bitkisinin Antimikrobiyal Aktivitesi. *Ekoloji ve Çevre Koruma*, **12**: 27-31.
- Fenech, M., Marleyn, A. (1985). Solutions to the Kinetic Problem in the Micronucleus Test. *Cytobios*, **43**: 233-246.
- Fraga C. Shigenaga MK. Park JW. Degan P. Ames BN. (1990). Oxidative damage to DNA during aging; 8_hydroxy-2'-deoxyguanosine in rat organ DNA and urine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* ; **87**: 4533-7.
- Floy, R.A. (1990). The role of 8-hydroxyguanine in carcinogenesis. *Carcinogenesis*, **11**: 9, 1447-1450.
- Friedberg EC., (2003). DNA damage and repair, *Nature*. 23;421(**6921**):436-40, Review.
- Gürbüz, I., Akyüz, C., Yesilada, E. ve B. Sener, (2000). Anti-ulcerogenic effect of *Momordica charantia* L. fruits on various ulcer models in rats. *Journal of Ethnopharmacology* **7**: 77-82.
- Grover, J.K., Yadav, S. ve V. Vats, (2002). Medicinal plants of India with anti-diabetic potential. *J. Ethnopharmacol.* **81**: 81-100.
- Ghosh A, Bansal M (2003). "A glossary of DNA structures from A to Z". *Acta Crystallogr D Biol Crystallogr* 59 (**Pt 4**): 620-6
- Grover JK, Yadav SP. (2004). Pharmacological actions and potential uses of *Momordica charantia*: a review. *J Ethnopharmacol* **93**: 123-32.

- Geoffrey M. Cooper, Robert E. Hausman., (2006). Hücree Moleküler Yaklaşım. Türkçe çeviri üçüncü baskı. İzmir Tıp Kitabevi, İzmir, 192-230.
- Gürbüz, N., (2006). “Antimutajenler ve Antikarsinojenler (Kanser Gelişiminin Kimyasal Bileşiklerle Önlenmesi”, Türkiye Klinikleri J. Med. Sci.,**26**: 312-318
- Geçkil H, (2012). BiyokimyaII, İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü Ve İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Moleküler Biyoloji ve Genetik Bölümü
- Halliwell B, Dizdaroglu M. (1992).Free radicals and the oxidant/antioxidant balance J. Free Radical Res., **16**: 75–87.
- Hoeijmakers JHJ. (1993). Nucleotide Excision Repair II: from E.coli to Yeast. Trends Genet 9, 211-217
- Haber, JE. (1991a). DNA Recombination: the replication connection, TIBS, July: **24**: 271-275
- Halliwell, B., “Drug antioxidant effects”, *Drugs*, 42 (**4**): 569-605
- Halliwell, B., (1991b). “Reactive oxygen species in living system: source, biochemistry and role in human disease”, *Am.J. Med.*, **91**: 14-21
- Hagmar, l., brogger, a., hansteen, l.l., heim,s., högstedt, b., knudsen , l.e., lambert,b., linnainmaa,k., mitelman,f., norderson l., reuterwall, c., salomaa, s., skerfving, s., sorsa m. (1994). Cancer Risk in Humans Predicted by Increased Levels of Chromosomal Aberrations in Lymphocytes: Nordic Study Group on the Health Risk of Chromosomal Damage. *Cancer Research*, **54**: 2919-2922.
- Haber, JE. (2000). Partners and pathways repairing a double-strand break, *Trends Genet. Jun,16* **6**: 259-64, Review.

- Harvey Lodish, Arnold Berk, Paul Matsudaira, Chris A. Kaiser, Monty Krieger, Matthew P. Scott, Lawrence Zipursky and James Darnell. (2003). *Molecular Cell Biology*, 5th ed. W. H. Freeman & Co.
- Halliwell, B. and Gutteridge, J.M.C.(2005). Free radicals in biology and medicine. 3.ed. Oxford Science Publications Pres Inc., London.
- Horax, R., Hettiarachchy, N. ve S. Islam, (2005). Total Phenolic Contents and Phenolic Acid Constituents in 4 Varieties of Bitter Melons (*Momordica charantia*) and Antioxidant Activities of their Extracts. *Journal Of Food Science*, Vol. 70. Nr. 4.
- Hussain, T., Arshad, M., Khan, S., Satar, H., Qureshi, MS. (2011). *In Vitro* Screening of Methanol Plant Extracts for Their Antibacterial Activity. *Pak. J. Bot.*, **43**:531-538.
- Jayasooriya, A.P., Sakono, M., Yukizaki, C., Kawano, M., Yamamoto, K. ve Fukuda, N., (2000). Effects of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and various lipidparameters in rats fed with cholesterol – free and cholesterol – enriched diets. *J. Ethnopharmacol.* **72**: 331–6.
- Kaur, H., Halliwell, B., (1990). “Action of biologically-relevant oxidizing species upon uric acid: identification of uric acid oxidation products”, *Chem. Biol. Interact.*,**73**: 235- 247
- Kelloff, G.J., Boone, C.W., Steele, V.E., Fay, J.R., Lubet, R.A., Crowell, J.A., Sigman, C.C., (1994). “Mechanistic considerations in chemopreventive drug development”, *J. Cell Biochem. Suppl.*,**20**: 1-24
- Kirsch-Volders, M.(1997). Towards a Validation of The Micronucleus Test. *Mutation Research*, **392**:1-4.
- Jalaluddin, M., Islam, M.S., (2004). Bitter melon (*Momordica Charantia* L.) a potential vegetable for special nutritional and medicinalvalues in America. 101st Annual International

- Krawinkel, M.B., MD ve Güdrün B. Keding. MSc agr, (2006). Bitter Gourd (*Momordica charantia*): A Dietary Approach to Hyperglycemia. Special Article: (I)331–337.
- Kulaksız G, Sancar A. (2007). N.kleotid Eksizyon Onarımı ve Kanser. Türk Biyokimya Dergisi; 32 (3); 104-11
- .Kubola, J. ve S. Siriamornpun, (2008). Phenolic contents and antioxidant activities of bitter gourd (*Momordica charantia* L.) leaf. stem and fruit fraction extracts in vitro. Food Chemistry. **110**: 881–890.
- Kumar DS, Sharathnath VK, Yogeswaran P, Harani A, Sudhakar K, Sudha P, et al. et al.(2010). A medicinal potency of *Momordica charantia*. Int J Pharm Sci Rev Res.;**1(2)**:95–99.
- Laughton, M.J., Evans, P.J., Moroney, M.A., Hoult, J.R.S., Halliwell, B., (1991). “Inhibition of mammalian 5-lipoxygenase and cyclo-oxygenase by flavonoids and phenolic dietary additives: relationship to antioxidant activity and to iron ion-reducing ability”, *Biochem. Pharmacol.*, **42**: 1673-1681
- Liu, RH. (2003). Health benefits of fruit and vegetables are from additive and synergistic combinations of phytochemicals, *American Society for Clinical Nutrition*.**78**: 517-520
- Li GM. (2008). Mechanisms and functions of DNA mismatch repair. Cell Res; **18**: 85-98.
- Li M, Chen Y, Liu Z, Shen F, Bian X, Meng Y. (2009). Anti-tumor activity and immunological modification of ribosome-inactivating protein (RIP) from *Momordica charantia* by covalent attachment of polyethylene glycol. Acta Biochim Biophys Sin (Shanghai);**41**: 792–9.
- Liu, C.H., Yen, M.H., Tsang, S.F., Gan, K.H., Hsu, H.Y. ve C.N. Lin, (2010). Antioxidant triterpenoids from the stems of *Momordica charantia*. Food Chemistry. **118**: 751–756.

- Menkes, M., Comstock, G., Vuilleumier, J., Helsing, K., Rider, A., Broomeyer, R., (1986). "Serum β -carotene, vitamins A and E, selenium and the risk of lung cancer", *N. Engl. J. Med.*, 1250-1254
- Maiorino, M., Chu, F.F., Ursini, F., Doroshov, K., Davies, H.J., Esworthy, R.S., (1991). "Phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase is the 18 kDa selenoprotein expressed in human tumor cell lines", *J. Biol. Chem.*, **266**: 7728-7732
- Muller, D.P., Gross-Sampson, M.A., (1990). "Neurochemical, neurophysiological and neuropathological studies in vitamin E deficiency", *Crit. Rev. Neurobiol.*, **5**: 239-263
- Morse, M.A. Stoner, G.D. (1993). "Cancer Chemoprevention Principles and Prospects", *Carcinogenesis*, 14 (**9**): 1737-1746
- Mortelmans, K. Zeiger, E. (2000). The Ames Salmonella/Microsome Mutagenicity Assay. *Mutation Research*, **455**: 29-60.
- Müftüoğlu M. (2003). DNA Tamiri ve Erken Yaşlanma Sendromları, *Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry - Turk J Biochem]* 28 (**1**): 20-24.
- Mercan, U. (2004). "Toksikolojide Serbest Radikallerin Önemi", *Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi Dergisi*, 15 (**1-2**): 91-96
- Mathers, J, Jennifer, A. Fraser, M., McMahon, Robert, D.C. Saunders, John D.Hayes and Lesley I.McLellan, (2004). *Antioxidant and cytoprotective responses to redox stres*, **71**: 157-176
- Maregesi, SM. Pieters, L. Ngassapa, OD. Apers, S. Vingerhoets, R. Cos, P. Berghe, DA., Vlietinck, AJ. (2008). Screening of Some Tanzanian Medicinal Plants from Bunda District for Antibacterial, Antifungal and Antiviral Activities. *J. Ethnopharmacol.*, **119**:58-66.

- Nerurkar, P.V., Lee, Y. K., Linden, E. H., Lim, S., Pearson, L., Frank, J. ve V. R. Nerurkar, (2006). Lipid lowering effects of *Momordica charantia* (Bitter Melon) in HIV-1 protease inhibitor-treated human hepatoma cells. HepG2. British Journal of Pharmacology. **148**: 1156–1164.
- Nerurkar PV, Lee YK, Linden EH, Lim S, Pearson L, Frank J, (2006) Lipid lowering effects of *Momordica charantia* (bitter melon) in HIV-1-protease inhibitor-treated human hepatoma cells, HepG2. Br J Pharmacol; **148**:1156–64.
- Nerurkar PV, Lee YK, Motosue M, Adeli K, Nerurkar VR.(2008). *Momordica charantia* (bitter melon) reduces plasma apolipoprotein B-100 and increases hepatic insulin receptor substrate and phosphoinositide-3 kinase interactions. Br J Nutr; **100**: 751–9.
- Marques, F.(2009). Evaluation of prevention of DNA damage and induction of DNA repair by natural compounds, Minho University, M.Sc Thesis: 27p.
- Njume, C., Afolayan, AJ., Ndip, RN. (2009). An Overview of Antimicrobial Resistance and The Future of Medicinal Plants in The Treatment of *Helicobacter pylori* Infections. *Afr. J. Pharm. Pharmacol.*,**3**:685-699.
- Nalbantbaşı, Z., Gölcü, A. (2009). Kahramanmaraş Yöresine Ait Şifalı Bitkilerin Antimikrobiyal Aktiviteleri. *KSU J. Nat. Sci.*, **12**: 1-8.
- Osawa, T., Katsuzaki, H., Hagiwara, Y., Hagiwara, H., Shibamoto, T., (1992). “A novel antioxidant isolated from young green barley leaves”, *J. Agric. Food Chem.*, **40**: 1135-1138.
- Onur, E., Tuğrul, B., Bozyiğit F.(2009). DNA Hasarı ve Onarım Mekanizmaları. *Türk Klinik Biyokimya Derg*; **72**: 61-70
- Perry, P., Evans, H.J. (1975). Cytological Dedection of Mutagen-Carcinogen Exposure by Sister Chromatid Exchange. *Nature*, **258**:121-135.

- Pabo C, Sauer R (1984). "Protein-DNA recognition". *Annu Rev Biochem* **53**: 293-321.
- Ponnuswamy P, Gromiha M (1994). "On the conformational stability of oligonucleotide duplexes and tRNA molecules". *J Theor Biol* 169 (4): 419–32
- Pada., (1995). (Position of the American Dietetic Association: phytochemicals and functional foods). *J. Am. Diet. Assoc.*, **95**: 493-496.
- Panagariya, A. ve V. P. Dixit, (2004). Hypoglycemic Activity Of Polypeptide-P From A Plant Source. *Laboratory Of Plant Physiologp And Biochemistry. Department Of Botany. Cnieersity Of Ralasthan. India.*
- Paul, A. ve S. S. Raychaudhuri, (2010). Medicinal Uses and Molecular Identification of Two *Momordica charantia* Varieties – a review. *Electronic Journal of Biology. Vol. 6(2)*: 43-51.
- Patrakar, R., Gond, N., Jadge, D. (2010). Flower Extract of *Jacaranda acutifolia* Used as a Natural Indicator in Acid Base Titration. *Int. J. Pharm. Tech. Res.*, **2**:1954-1957.
- Reyes, B.A.S., Bautista, N.D., Tanquilut, N.C., Anunciado, R.V., Leung, A.B., Sanchez, G.C., Magtoto, R.L., Castronuevo, P., Tsukamura, H. ve K.I. Maeda, (2006). Anti-diabetic potentials of *Momordica charantia* and *Andrographis paniculata* and their effects on estrous cyclicity of alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **105**: 196–200.
- Reyes, B.A.S., Bautista, N.D., Tanquilut, N.C., Anunciado, R.V., Leung, A.B., Sanchez, G.C., Magtoto, R.L., Castronuevo, P., Tsukamura, H. ve K.I. Maeda, (2006). Anti-diabetic potentials of *Momordica charantia* and *Andrographis paniculata* and their effects on estrous cyclicity of alloxan-induced diabetic rats. *Journal of Ethnopharmacology*. **105**: 196–200.
- Roopashree, TS., Dang, R., RH, S. R. ve N. C, (2008). Antibacterial activity of antipsoriatic herbs: *Cassia tora*. *Momordica charantia* and *Calendula*

officinalis. International Journal of Applied Research in Natural Products. Vol. 1(3). pp. 20-28.

- Ratna B. Ray, Amit Raychoudhuri, Robert Steele, Et Al.(2010) . Bitter Melon (Momordica Charantia) Extract Inhibits Breast Cancer Cell Proliferation By Modulating Cell Cycle Regulatory Genes And Promotes Apoptosis *Cancer Res*; **70**: 1925-1931
- Singh, N.P., Mccoy, M.T., Tice, R.R., Schneider, E.L. (1988). A Simple Technique for Quantitation for Low Levels of DNA Damage in Individual Cell. *Experimental Cell Research*, **175**:184-191.
- Singh N et al. (1989). Effects of long term feeding of acetone extract of *Momordica Charantia* (whole fruit powder) on alloxan diabetic albino rats. *Indian J Physiol Pharmacol* 33: 97-100.
- Steenken S. (1989). Purine bases, nucleosides, and nucleotides: aqueous solution redox chemistry and transformation reactions of their radical cations and e- and OH adducts. *J. Chem. Rev.*; 89 (**24**):503–520.
- Slade, R., Grissman, K., Norwood, J., Hatch, G., (1993). “Comparison of antioxidant substances in bronchoalveolar lavage cells and fluid from humans, guine pigs and rats”, *Exp. Lung Res.*, **19**: 469-484
- Sancar A. (1996). DNA excision repair. *Annu Rev Biochem* 65, 43-81.
- Singh A, Singh SP, Bamezai R. (1998). Postnatal efficacy of Momordica charantia peel, pulp, seed and whole fruit extract in the detoxication pathway of suckling neonates and lactating mice. *Cancer Lett*; **122**:121-126.
- Salama, S.A., Serrana, M., Au, W.W., (1999) “Biomonitoring using accessible human cells for exposure and health risk assessment”, *Mutation Research*, **436**:99-112.
- Sasaki, Y.F., Sekilhaskı, K., Izumiyama, F., Nishidate, E., Saga, A., Ishida, K., Tsuda, S. (2000). The Comet Assay with Multiple Mouse Organs:

Comparison of Comet Assay Results and Carcinogenicity with 208 Chemicals Selected from the IARC Monographs and U.S. NTP Carcinogenicity Database. *Critical Reviews in Toxicology*, **30**: 629-799.

Sakono M., Jayasooriya AP, Yukizaki C, Kawano M, Yamamoto K, Fukuda N. (2000). Effects of *Momordica charantia* powder on serum glucose levels and various lipid parameters in rats fed with cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. *J Ethnopharmacol*; **72**: 331–6.

Sato, S, (2001) .Tomita, I, Short-Term Screening Method for the Prediction of Carcinogenicity of Chemical Substances: Current Status and Problems of an in vivo Rodent Micronucleus Assay. *Journal of Health Science*, **47**: 1, 1–8,

Sun Y et al. (2001). Anti-HIV agent MAP30 modulates the expression profile of viral and cellular genes for proliferation and apoptosis in AIDS-related lymphoma cells infected with Kaposi's sarcoma-associated virus. *Biochem Biophys Res Commun* **287**: 983-94.

Schofield M.J. and Hsieh, P. (2003). DNA mismatch repair: molecular mechanisms and biological function, *Annu. Rev. Microbiol*; **57**: 579-608.

Senanayake, G.V.K., Maruyama, M., Shibuya, K., Sakono, M., Fukuda, N., Morishita, T., Yukizaki, C., Kawano, M. ve H. Ohta, (2004). The effects of bitter melon (*Momordica charantia*) on serum and liver triglyceride levels in rats. *Journal of Ethnopharmacology*. 91 257–262.

Senanayake GV et al. (2004). The effects of bitter melon (*Momordica charantia*) extracts on serum and liver lipid parameters in hamsters fed cholesterol-free and cholesterol-enriched diets. *J Nutr Sci Vitaminol (Tokyo)* **50**: 253-7.

Saraç, E., (2005). “Doğanın Şifalı Eli”, *Doğan Kitapçılık*, İstanbul, 25-26.

Silva, C.G., Herdeiro, R. S., Mathias, C. J., Panek, A. D., Silveria, C. S., Rodrigues, V. P., Renno, M. N., Falcao, D. Q., Cerqueira, D. M., Minto, A. B., Nogueira, F. L., Quaresma, C. H., Silva, J. F., Menezes, F. S. and

- Eleutherio, E. C. (2005). Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. *Pharmacol Res*,52 **3**: p. 229-33.
- Silva, C.G. Herdeiro, R. S., Mathias, C. J., Panek, A. D., Silveria, C. S., Rodrigues, V. P., Renno, M. N., Falcao, D. Q., Cerqueira, D. M., Minto, A. B., Nogueira, F. L., Quaresma, C. H., Silva, J. F., Menezes, F. S. and Eleutherio, E. C. (2005). Evaluation of antioxidant activity of Brazilian plants. *Pharmacol Res*,52 **3**: p. 229-33.
- Semiz, A. Şen, A. (2007). Antioxidant and chemoprotective properties of *Momordica Charantia* L. (bitter melon) fruit extract. *African Journal of Biotechnology* 6 (**3**); 273-277.
- Sumanth, M. ve G. N. Chowdary., (2010). Antimutagenic activity of aqueous extract of *Momordica charantia*. *International Journal for Biotechnology and Molecular Biology Research* Vol. 1(4). pp.42-46.
- Sciuscio D et al. (2011). *Clin Cancer Res*;**17**: 255-66
- Tice, R.R., Hollaender, A. (1984). Sister Chromatid Exchanges: Twenty-five Years of Experimental Research vol. A, The Nature of Sister Chromatid Exchanges, Plenum, 491 s
- Taylor, L., (2002). Technical Data Report for Bitter Melon (*Momordica charantia*). Preprinted from *Herbal Secrets of the Rainforest*. 2nd edition. Austin.
- Taylor, L. (2005). Bitter melon: Herbal properties and actions. *The Healing Power of Rainforest Herbs* (Editor: L, Taylor), pp. 1-5. Square One Publication Inc. New York.
- Tosetti, F. Noonan, D.M and Albin, A. (2009). Metabolic regulation and redox activity as mechanisms for angioprevention by dietary phytochemicals. *Int J Cancer*,. 125 **9**: p. 1997-2003.

- Tarakçı, S. (2006). Beykoz Civarındaki Tıbbi Özellik Taşıyan Bitkiler Üzerine Araştırmalar. Fen Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Biyoloji, Marmara Üniversitesi, 148s.
- Ullah, M., Chy, F.K., Sarkar, S.K., Islam, M.K., Absar, N., (2011). Nutrient and phytochemical analysis of four varieties of bitter gourd (*Momordica charantia*) grown in chittagong hill tracts, Bangladesh. *Asian Journal of Agricultural Research*, 5(3): 186-193.
- Vanparys, P, Vermeiren, F, Sysmans, M, Temmerman R. (1990).The Micronucleus Assay as a Test For The Detection of Aneugenic Activity. *Mutation Research*, 244: 95-103
- Vital PG., Velasco JRN., Demigillo JM., Rivera WL. (2010). Antimicrobial Activity, Cytotoxicity and Phytochemical Screening of *Ficus septica* Burm and *Sterculia foetida* L. leaf extracts. *J. Med. Plants Res.*,4:058-063.
- Watson J, Crick F (1953). "Molecular structure of nucleic acids; a structure for deoxyribose nucleic acid". *Nature* 171 (4356): 737–8.
- William S. Klug, Micheal R. Cummings. (2002) . Genetik Kavramlar. Altıncı baskıdan türkçe çeviri Palme Yayıncılık. Ankara, 477-481.
- Wu, Shu-Jing., Ng, Lean-Teik. (2007). Antioxidant and free radical scavenging activities of wild bitter melon (*Momordica Charantia* Linn. var. *abbreviata* Ser.) in Taiwan, *LWT* (Article In Pres).
- Wua, S.J. ve L.T. Ng, (2008). Antioxidant And Free Radical Scavenging Activities Of Wild Bitter Melon (*Momordica charantia* L. var. *abbreviata* Ser.) İn Taiwan. *Science Direct. LWT* 41 323–330.
- Yılmaz H, Küçüközcü G., Terzi E. (1998). Anadolu Üniversitesi Tıbbi ve Aromatik Bitki ve İlaç Arş. Mer., Tıbbi ve Aromatik Bitkiler (TAB);13–14.
- Yesilada E et al. Screening of Turkish anti-ulcerogenic folk remedies for anti-*Helicobacter pylori* activity. *J Ethnopharmacol* 66 (1999): 289-93.

- Zijno, A, Marcon, F., Leopardi, P., Salvatore G., Carere A., Crebelli R. (1994). An Assessment of The *In Vivo* Clastogenicity of Erythrosine. Food and Chemical Toxicology, **32**: 159-63,
- Zheng, W. and S.Y. Wang, (2001). Antioxidant activity and phenolic compounds in selected herbs. *J Agric Food Chem*, 49 **11**: p. 5165-70.
- Zhou, K. , Auxl, JJ. , Yu, L.(2004). Comparison of Swiss red wheat grain and fractions for their antioxidant properties. *J Agric Food Chem.* , **52**: 1118–1123.
- Zhang, Y., Rohde, LH., and Wu, H. (2009). Involvement of Nucleotide Excision and Mismatch Repair Mechanisms Current Genomics, Vol. 10, No. 4

ÖZ GEÇMİŞ

Adı Soyadı : Emre ÖZGÜL

Doğum Yeri ve Tarihi : ÜSKÜDAR 07.09.1988

Yabancı Dili : İngilizce

İletişim (Telefon/e-posta) : 0 507 779 54 89 / biyologemre24@gmail.com

Eğitim Durumu (Kurum ve Yıl)

Lise : Silivri Lisesi (2002-2006)

Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü (2007-20011)

Yüksek Lisans : Afyon Kocatepe Üniversitesi Biyoloji Bölümü (2011-2014)

Yayınları (SCI ve diğer)

Genotoxicity of indium tin oxide by Allium and Comet tests, Cytotechnology, DOI 10.1007/s10616-013-9673-0 2013 (İbrahim Hakkı Ciğerci, Recep Liman, Muhsin Konuk ile birlikte)