



T.C.

KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ

FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

**SEFAKLOR VE BAZI ÖZEL KOMBİNASYONLARININ *IN VITRO* MUTAJENİK  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**RUKİYE SİMEN**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ  
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

**KAHRAMANMARAŞ 2019**

**T.C.**  
**KAHRAMANMARAŞ SÜTÇÜ İMAM ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**SEFAKLOR VE BAZI ÖZEL KOMBİNASYONLARININ *IN VITRO* MUTAJENİK  
ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

**RUKİYE SİMEN**

**Bu tez,**  
**Biyoloji Anabilim Dalı'nda**  
**YÜKSEK LİSANS**  
**derecesi için hazırlanmıştır.**

**KAHRAMANMARAŞ 2019**

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü öğrencisi RUKİYE SİMEN tarafından hazırlanan “SEFAKLOR ve BAZI ÖZEL KOMBİNASYONLARININ *IN VITRO* MUTAJENİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ” adlı bu tez, jürimiz tarafından 29.11.2019 tarihinde oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek Lisans tezi olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Lale DÖNBAK (Danışman) .....

Biyoloji Anabilim Dalı

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Ahmet KAYRALDIZ (Üye) .....

Biyoloji Anabilim Dalı

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Prof. Dr. Eyyüp RENCÜZOĞULLARI (Üye) .....

Biyoloji Anabilim Dalı

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Yukarıdaki imzaların adı geçen öğretim üyelerine ait olduğunu onaylarım.

Prof. Dr. Mustafa YAZICI .....

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

## TEZ BİLDİRİMİ

Tez içindeki bütün bilgilerin etik davranış ve akademik kurallar çerçevesinde elde edilerek sunulduğunu, ayrıca tez yazım kurallarına uygun olarak hazırlanan bu çalışmada orijinal olmayan her türlü kaynağa eksiksiz atıf yapıldığını bildiririm.

Rukiye SİMEN

Bu çalışma KSÜ Bilimsel Araştırma Proje Yönetim Birimi Başkanlığı (BAP) tarafından desteklenmiştir.

Proje No: 2016/6-39 YLS

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

# SEFAKLOR VE BAZI ÖZEL KOMBİNASYONLARININ *İN VİTRO* MUTAJENİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(YÜKSEK LİSANS TEZİ)

Rukiye SİMEN

## ÖZET

Sefaklor, sefalosporin grubunun ikinci kuşak antibiyotiği olup üst solunum yolu hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bu çalışmada; sefaklor ve iki türevinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) mutajenik potansiyelleri, Ames *Salmonella typhimurium* suşları kullanılarak incelenmiştir. Bunun için her iki suşta karaciğer mikrozom enzimleri içeren metabolik aktivasyon sisteminin varlığında ve yokluğunda 160, 80, 40 ve 20 µg/ml sefaklor, sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. Çözücü kontrol olarak dimetil sülfoksit (DMSO) ve spontan kontrol grupları da deneylerde kullanılmıştır. S9 karışımının varlığında pozitif kontrol olarak 2-aminofloren kullanılmış, TA98 suşu için S9 karışımının yokluğunda pozitif kontrol olarak 4-nitro-o-fenilendiamin kullanılmıştır. TA100 suşu için S9 karışımı varlığında ve yokluğunda sodyum azid pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. Elde edilen veriler SPSS paket programı kullanılarak Dunnett-t testi ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Bu çalışmanın sonucunda, hem sefaklor hem de sefaklor komplekslerinin metabolik aktivasyon sistemi varlığında ve yokluğunda TA98 ve TA100 suşları için herhangi bir mutajenik etkisinin olmadığı belirlenmiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Ames testi, Sefaklor, Sefaklor-o-vanilin, Sefaklor-o-vanilin/Ru III, Mutajenite, S9 miks

Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi

Fen Bilimleri Enstitüsü

Biyoloji Anabilim Dalı, Kasım 2019

Danışman: Prof. Dr. Lale DÖNBAK

Sayfa sayısı: .....

# INVESTIGATION OF THE *IN VITRO* MUTAGENIC EFFECTS OF CEFACLOR AND SOME SPECIAL COMBINATIONS

(MASTER THESIS)

Rukiye SİMEN

## ABSTRACT

Cefaclor is a second-generation antibiotic of cephalosporin group and it is commonly used in the treatment of upper respiratory tract diseases. In this study; mutagenic potentials of cefaclor and two derivatives (cefaclor-o-vanilin and cefaclor-o-vanilin/Ru III) were investigated by Ames/Salmonella/Microsomal test system using TA98 and TA100 strains of *Salmonella typhimurium*. For this, both strains were treated with the concentrations of 160, 80, 40 and 20 µg/ml cefaclor, cefaclor-o-vanilin and cefaclor-o-vanilin/Ru III in the presence and absence of the metabolic activation system containing liver microsomal enzymes (S9 mix). Dimethyl sulfoxide (DMSO) as solvent control and spontaneous control groups were also used in the experiments. 2-Aminofluorene was used as positive control in the presence of S9 mix, 4-nitro-o-phenylenediamine was used as positive control in the absence of S9 mix for TA98 strains. Sodium azide is used as positive control, in the presence and absence of S9 mix for strain TA100. Obtained data were statistically analyzed by Dunnett-t test using SPSS (17.0) package programme. As a result of this study, it was determined that both cefaclor and cefaclor derived complexes did not have any mutagenic effect for both TA98 and TA100 strains in the presence and absence of metabolic activation system.

**Key words:** Ames test, Cefaclor, cefaclor-o-vanilin, cefaclor-o-vanilin/Ru III, Mutagenicity, S9 mix

Kahramanmaraş Sütçü Imam University

Institute of Science

Department of Biology, November 2019

Supervisor: Prof. Lale DÖNBAK

Page Number: .....

## TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın gerçekleőmesinde, lisans ve yüksek lisans eğitimim boyunca yardım eden, tez çalıőmam sırasında kıymetli bilgi, birikim ve tecrübeleri ile her zaman yol gösteren değerli danıőmanım sayın Prof. Dr. Lale DÖNBAK hocama, araőtırmalarımaya yön veren ve bütün çalıőmalarım boyunca desteğini esirgemeyen Prof. Dr. Ahmet KAYRALDIZ hocama, saygı, sevgi ve teőekkürlerimi sunarım.

Bilimsel katkılarından ve bilgi birikimini benimle paylaőtıđı için Prof. Dr. Ayőegül GÖLCÜ' ye teőekkürü bir borç bilirim.

Maddi ve manevi destekleriyle beni hiçbir zaman yalnız bıraktımayan, babam Mehmet ve annem şenel GÜNDÜZ'e, ayrıca çalıőmalarım boyunca desteğini hiçbir zaman esirgemeyen eőim Soner SİMEN'e sonsuz teőekkürlerimi sunarım.

Rukiye SİMEN

# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
<b>TEZ BİLDİRİMİ</b> .....	<b>I</b>
<b>ÖZET</b> .....	<b>II</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>III</b>
<b>TEŞEKKÜR</b> .....	<b>IV</b>
<b>İÇİNDEKİLER</b> .....	<b>V</b>
<b>ŞEKİLLER DİZİNİ</b> .....	<b>VII</b>
<b>ÇİZELGELER DİZİNİ</b> .....	<b>VIII</b>
<b>SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ</b> .....	<b>IX</b>
<b>1.GİRİŞ</b> .....	<b>1</b>
1.1. Genel Bilgiler .....	3
1.2. Antibiyotikler .....	3
1.3. Antibiyotiklerin Yan Etkileri .....	3
1.4. Antibiyotiklerin sınıflandırılması.....	4
1.5. Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılması.....	5
1.6. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması .....	5
1.7. Antibiyotiklerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması .....	7
1.8. Sefalosporin gurubu antibiyotikler.....	8
1.9.Sefalosporinlerin Sınıflandırılması .....	9
1.10. Sefaklor .....	10
1.11. Sefaklor'un Özellikleri.....	11
1.12. Sefaklor'un yan etkileri.....	12
1.13. DNA'nın Yapısı.....	13
1.14. Mutasyon.....	14
1.15. Kromozomal Mutasyonlar .....	16
1.16. Sayısal Kromozomal Anormallikler .....	19
1.17. Gen Mutasyonları.....	21
1.18. Mutajenler .....	23
1.19. Bakteriyel Mutajenite Testleri.....	23
1.19.1. Ames testi .....	24
<b>2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR</b> .....	<b>27</b>
<b>3. MATERYAL ve METOD</b> .....	<b>29</b>



3.1. Materyal .....	29
3.1.1. Kimyasal Maddeler.....	29
3.1.1.1. <i>Salmonella typhimurium</i> test suşları.....	29
3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar.....	29
3.1.3. Deneyde kullanılan besiyerlerinin hazırlaması.....	31
3.2. Metod .....	34
3.2.1. <i>Salmonella typhimurium</i> suş kültürleri ve master plaklarının hazırlanması.....	34
3.2.2. Bakteri genotiplerinin kontrol edilmesi.....	34
3.2.2.1. Histidin gereksinimi kontrolü .....	34
3.2.2.2. <i>uvrB</i> mutasyonunun kontrolü.....	35
3.2.2.3. Rfa mutasyonunun kontrolü .....	36
3.2.2.4. R-faktör varlığının kontrolü .....	37
3.2.2.5. Spontan olarak his- durumundan his+ durumuna dönüş sıklığının kontrolü .....	37
3.2.3. Sefaklor ve iki türevinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) dozlarının hazırlanması.....	38
3.2.4. Sefaklor ve türevlerinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) sitotoksik dozlarının saptanması.....	38
3.2.5. Ames Testi.....	39
3.2.5.1. Metabolik aktivasyonsuz (-S9) deney .....	39
3.2.5.2. Metabolik aktivasyonlu (S9+) deney .....	39
3.2.6. İstatistiksel Analiz .....	40
<b>4. BULGULAR VE TARTIŞMA .....</b>	<b>41</b>
<b>5. SONUÇ ve ÖNERİLER .....</b>	<b>45</b>
<b>KAYNAKLAR.....</b>	<b>46</b>
<b>7. ÖZGEÇMİŞ .....</b>	<b>50</b>

## ŞEKİLLER DİZİNİ

	Sayfa No
Şekil 1.1. Antibiyotiklerin etki mekanizması.....	6
Şekil.1.2. Sefalosporinin moleküler yapısı.....	8
Şekil 1.3. DNA'nın yapısı .....	13
Şekil 1.4. Mutasyonun oluşumu .....	15
Şekil 1.5. İnterkalar delesyon .....	16
Şekil 1.6. Duplikasyon .....	17
Şekil 1.7. Translokasyon .....	17
Şekil 1.8. İnsersiyon .....	18
Şekil 1.9. İzokromozom .....	18
Şekil 1.10. İnversiyon.....	19
Şekil 1. 11. Halka kromozom .....	19
Şekil 1.12. Turner Sendromu karyotip ve fenotip .....	20
Şekil 1.13. Down Sendromu karyotip ve fenotip .....	21
Şekil.1.14. Transversiyon .....	22
Şekil.1.15. İnsersiyon .....	22
Şekil.1.16. Çerçeve kayması .....	22
Şekil 1.17. <i>Salmonella typhimurium</i> ile yapılan Ames testi.....	25
Şekil 3.1. Histidin kontrolü .....	35
Şekil 3.2. <i>uvrB</i> mutasyon kontrolü.....	36
Şekil 3.3. Rfa mutasyon kontrolü .....	36
Şekil 3.4. R-faktör varlığının kontrol .....	37
Şekil 3.5. Spontan olarak geriye dönüş sıklığının kontrolü.....	38

## ÇİZELGELER DİZİNİ

	Sayfa No
Çizelge 1.1. Antibiyotiklerin genel yan etkileri. ....	4
Çizelge 1.2. Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılması .....	5
Çizelge 1.3. Kimyasal yapılarına göre antibiyotiklerin sınıflandırılması .....	7
Çizelge 1.4. Sefalosporinler yıllar içinde antibakteriyel etki spektrumlarına göre gruplandırılması.....	9
Çizelge 1.5. Mutasyonun sınıflandırılması.....	15
Çizelge 1.6. <i>Salmonella Typhimurium</i> 'un mutant suşları ve genetik özellikler .....	26
Çizelge 4.1. Sefaklor ve iki türevi (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) ile S9 miks varlığında ve yokluğunda muamele edilen <i>Salmonella typhimurium</i> 'un TA98 ve TA100 suşlarından elde edilen veriler. ....	42

## SİMGELER VE KISALTMALAR DİZİNİ

DMSO	: Dimetilsülfoksid
NaN	: Sodyum Azid
$\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	: Sodyum dihidrojen fosfat
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	: Disodyum hidrojen fosfat
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	: Magnezyum Sülfat
$\text{K}_2\text{HPO}_4$	: Potasyum Fosfat
$\text{NaH}_2\text{N}_2\text{PO}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$	: Sodyum Amonyum Fosfat
KCl	: Potasyum klorür
2-AF <sub>2</sub>	: Aminofluorene
NPD <sub>4</sub>	: Nitro-o-Fenilendiamine
HBA	: Histidin/Biyotin/Ampisilin Plakları
50XVB	: Vogel-Bonner-E Ortamı
MGA	: Minimal Glikoz Agar Plakları
NA	: Nutrient Agar Plakları
NB	: Nutrient Broth Sıvı Kültür Ortamı
His	: Histidin
Mg	: Miligram
mL	: Mililitre
g	: Gram
Kg	: Kilogram
$\text{gL}^{-1}$	: Gram/Litre
$\text{mgL}^{-1}$	: Miligram/Litre
$\mu\text{g/plak}$	: Mikrogram/Plak
$\mu\text{g/L}$	: Mikrogram/Litre

## 1.GİRİŞ

Bakteriyel ve viral enfeksiyonlar insan ve hayvanlar üzerinde olumsuz, kimi zaman ise ölümcül etkilere neden olmaktadır. Antibiyotiklerin keşfinden önce enfeksiyon hastalığı kapmış birçok insan tedavi yöntemlerinin yetersizliği nedeniyle hayatlarını kaybetmişlerdir. Antibiyotiklerin, Alexander Fleming tarafından 1929'da bulunmasıyla (Fleming, 1929) antibiyotikler, bakteriyel enfeksiyonlar için ve diğer mikroorganizmalara karşı da tedavi etmek veya önlemek amacıyla kullanılmaya başlanmıştır (Gemmell, 1993).

Doğal ya da yarı sentetik olarak üretilen ve insan sağlığına etkisi olan maddelerin tümüne antibiyotik denir (Finberg ve ark., 2004). 1929 yılında penisilinin keşfini keşfini takiben çok sayıda doğal, yarı-sentetik ve sentetik antibiyotikler keşfedilmiş ve tedavi amaçlı kullanılmıştır. Günümüzde antibiyotik sınıfında yer alan birçok ilaç bulunmaktadır.

Antibiyotikler, insan ve hayvan hastalıklarının tedavisinde ve hayvanlarda büyümeyi destekleyici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yalap ve Balcıoğlu, 2008). Antibiyotik kullanımının artışı ile birlikte ilaçlara bağlı yan etki görülme sıklığı da artmaktadır. Tüm antibiyotiklerin potansiyel olarak yan etki riski vardır. İlaç seçiminde antibiyotiğin terapötik etkisi ile yan etki riski mutlaka karşılaştırılmalıdır. Antibiyotiklerin yan etkisi geniş bir spektrum gösterir (Dumankar, 1997; Eroğlu, 2007).

İdeal antibiyotik kullanımı için; doğru tanı sonrası doğru antibiyotik; en uygun yoldan, etkin dozda, optimum aralıklarla, uygun süreyle verilmelidir. Fazla ve lüzumsuz yere alınmaları birçok mikroorganizmada antibiyotik direncinin gelişmesine neden olmuştur (Goossens ve ark., 2005). Bu tür kullanılan antibiyotikler fayda sağlamadıkları gibi, pek çok ciddi sağlık problemlerine yol açmakta hatta ölümcül olabilmektedir. Ayrıca dirençli bir bakterinin neden olduğu enfeksiyonlar; daha pahalı, yan etkileri daha fazla olan antibiyotiklerin kullanılmasını da gerektirebilmektedir.

Sefalosporinler yıllar içinde antibakteriyel etki spektrumlarına göre gruplandırılmışlardır. Buna göre de “kuşak” veya “jenerasyon” başlıkları ile gruplandırılırlar. Sefalosporinlerin kullanımında uyulması gereken temel noktaları özetleyecek olursak, sefalosporinler hem gram negatif hem de gram pozitif etkinliğe sahip olan bir gruptur. Birinci ve ikinci kuşak sefalosporinlerin gram pozitif etkinlikleri fazla iken, üçüncü kuşak sefalosporinlerde gram negatif etkinlik hâkimdir (Yıldız ve ark., 2014). Sefalosporinlerin bakterisit etkisi bakteri hücre duvarı sentezinin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır.

Sefaklor, sefalosporin grubunun ikinci kuşak antibiyotiği olup üst solunum yolu hastalıklarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Kronik bronşitin akut alevlenmeleri, farenjit (yutak iltihabı), tonsilit (bademcik iltihabı), pnömoni (zatüre), komplikasyonsuz alt idrar yolu enfeksiyonları, gonore (bel soğukluğu), deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılmaktadır. Kimyasal maddeler karsinojenik ve mutajenik etkilere sahip olabilmektedir. Bunun için; birçok mutajenite testi yapılmaktadır. Mutajenite testlerinden en yaygın kullanılanı 1970'lerin başında Bruce Ames ve onun çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen Ames testidir. Bu test, *Salmonella typhimurium*'un *his* mutasyonunun revertantları kullanılarak yapılır (Synder ve Champness, 2007).

1972 yılında mutajenik etkilerin belirlenmesi amacıyla Dr.Bruce Ames tarafından geliştirilen Ames testi günümüzde ilaçlar, ilaç ham maddesi olarak kullanılmak istenen test maddeleri, kozmetikler, gıda katkı maddeleri gibi insanların kullanımına sunulan ksenobiyotiklerin mutajenitelerinin saptanmasında oldukça geniş bir uygulama alanı olan hızlı sonuç veren ve güvenilir bir bakteriyel test sistemidir. Bu test sisteminde kimyasalların mutajenik etkilerinin araştırılmasında kullanılmak üzere bakteriyel mutantla (bakterilerin yaşaması için gerekli olan amino asit üretimini yapan histidin geni mutasyonuna uğratılmış) geliştirilmiştir. Bunun için de *Salmonella typhimurium* bakterisinin çeşitli suşları kullanılmaktadır (TA98, TA100, TA1535 ve TA1537 gibi). Bakterilerde gerekli aminoasitin yani histidinin sentezi olmadığında büyüme olmaz ve koloni formu oluşmaz. Suşlar şüpheli kimyasal (test bileşeni) ile muamele edildikten sonra histidin üretebilir (*his*- à *his*+) hale gelir ve büyüyerek koloni formu oluştururlar. (Becerem ve ark., 2017).

Sefaklor ile Gölcü ve arkadaşları (2005) tarafından bazı özel kombinasyonlarının (sefaklor/o-vanilin ve sefaklor/o-vanilin/RuIII) *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları kullanılarak Ames testi ile mutajenik etkisinin değerlendirilmesi, testte farklı konsantrasyonlarda hazırlanan çözeltilerin mutajenik etkisinin saptanmaya çalışılması ve elde edilen sonuçlarla karsinojenik veya mutajenik etkiye sahip olup olmadığı bu çalışma ile amaçlanmaktadır.

## 1.1. Genel Bilgiler

### 1.2. Antibiyotikler

Yunanca anti (karşı) ve bios (yaşam) sözcüklerinden türetilen antibiyotik, Küf mantarlarında bulunan ya da yapay olarak üretilen, bakteri ve diğer mikroorganizmaların gelişimini durduran ya da onları yok eden maddelerin ortak adıdır. Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine, etki mekanizmalarına, kimyasal yapılarına ve farmakokinetik özelliklerine göre sınıflandırılabilirler. Vücut sıvılarında oluşturdukları konsantrasyonlarda, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre bakteriyostatikler ve bakterisidler olmak üzere iki şekilde sınıflandırılırlar (Aktuğlu, 1997).

Antibiyotikler, insan ve hayvan hastalıklarının tedavisinde ve hayvanlarda büyümeyi destekleyici olarak yaygın bir şekilde kullanılmaktadır (Yalap ve Balcıoğlu, 2008). Avrupa'da antibiyotik ilaçlarının 3'de 2'si insan tıbbında, 3'de 1'i ise veteriner amaçları için kullanılmaktadır (Fedesa, 2001). Antibiyotikler dünyada olduğu gibi ülkemizde de en sık kullanılan ve kullanımında en fazla hata yapılan ilaçlardır (Karahocagil ve ark., 2007). Antibiyotikler, gelişmekte olan ülkelerde yanlış ve aşırı kullanılmaktadır (Hart, 1998). Bilinçsiz ve gereksiz antibiyotik kullanımı sonucunda, hem çevresel sorunlar hem de besin zinciri yoluyla canlılarda, özellikle insanlarda, sağlık problemleri meydana gelmektedir.

### 1.3. Antibiyotiklerin Yan Etkileri

Antibiyotik kullanımının artışı ile birlikte ilaçlara bağlı yan etki görülme sıklığı da artmaktadır. Tüm antibiyotiklerin potansiyel olarak yan etki riski vardır. İlaç seçiminde antibiyotiğin terapötik etkisi ile yan etki riski mutlaka karşılaştırılmalıdır. Antibiyotiklerin yan etkisi geniş bir spektrum gösterir (Dumankar, 1997; Eroğlu, 2007).

Anafilaksi, anjioödem, ürtiker, bulantı-kusma, karın ağrısı, ishal, fotosensitivite, tremor, diş ve kemiklerde birikme sonucu oluşan renk değişikliği, iskelet gelişiminde duraklama, psödomembranoz enterokolit, hipokalemi, tromboflebit, ateş, titreme, diabetes insipidus da sık görülen yan etkilerdendir (Chambers, 2001; Ünal, 2001; Çevik, 2007).

**Çizelge 1.1.** Antibiyotiklerin genel yan etkileri.

<b>Hematolojik</b>	<b>Deri</b>	<b>Böbrek</b>	<b>Karaciğer</b>	<b>Sinir Sistemi</b>
Aplastik anemi	Morbiliform erüpsiyonlar	İntertisyel nefrit	Transaminaz yüksekliği	Ototoksisite
Hemolitik anemi	Eritema multiforme	Ürik asit nefropatisi	Kolestatik hepatit	Görme Bozukluğu
Megaloplastik Anemi	Ürtikeryal reaksiyonlar	Metabolitlerin nefrotoksisitesi	Kernikterus	Konvulsiyon
Nötropeni	Eritema nodosum	Hematuri	Hepatik nekroz	Psişik Bozukluklar
Kanama	Toksik epidermal nekroliz	Albuminüri		Periferik Nöropati
Lökopeni	Likemid erüpsiyonlar	Akut tübüler Nekroz		Nöromüsküler Blok
Eozinofili	Pigmenter değişiklikler			Ensefalopati
Trombositopeni	Fotosensitivite reaksiyonları			Ataksi
Tombosit disfonksiyonu	Purpurik erupsionlar ve vaskulit			Baş ağrısı
	Eksfoliyatif eritrodermi			Baş dönmesi
	Akneiform erüpsiyonlar			Halüsinasyon
	Glossit			Deliryum

#### **1.4. Antibiyotiklerin sınıflandırılması**

- Hedef hücreye etkilerine göre
- Etki mekanizmalarına göre
- Etki gösterdiği mikroorganizma grubuna göre
- Etki spektrumuna göre



- İmmunmodölatör etkilerine göre

Antibiyotikler birçok kritere göre gruplandırılabilir. Günümüzde en yaygın bilimsel sınıflandırma aşağıda belirtildiği gibi etki güçlerine, etki mekanizmalarına ve kimyasal yapılarına göre sınıflandırmadır.

### 1.5. Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılması

Antibiyotikler, mikroorganizmalar üzerindeki etki derecelerine göre iki farklı gruba ayrılır. Bunlar bakteriyostatikler ve bakterisidlerdir. Bakteriyostatikler, bakteri hücrelerinin gelişmesini veya üremesini önlerler. Gelişmesi ve üremesi duran bakteriler, vücudun savunma mekanizmaları tarafından kolaylıkla yok edilirler. Bakteriyostatikler, tetrasiklinler, makrolid, sülfonamidler, amfenikoller, linkozamidler, metronidazol ve mikonazol olarak farklı gruplara ayrılırlar. Bakterisidler ise ağır tahribatlar yaratarak bakteri hücrelerini yok ederler ve hücrenin ölmesine neden olurlar. Bu şekilde etki eden bakterisidler beta laktamlar (penisilinler, sefalosporinler, monobaktamlar, karbapenemler), polipeptidler, florokinolonlar, vankomisin, rifampisin ve teikoplanin'dir (Akkan, 1997).

**Çizelge 1.2.** Antibiyotiklerin etki güçlerine göre sınıflandırılması

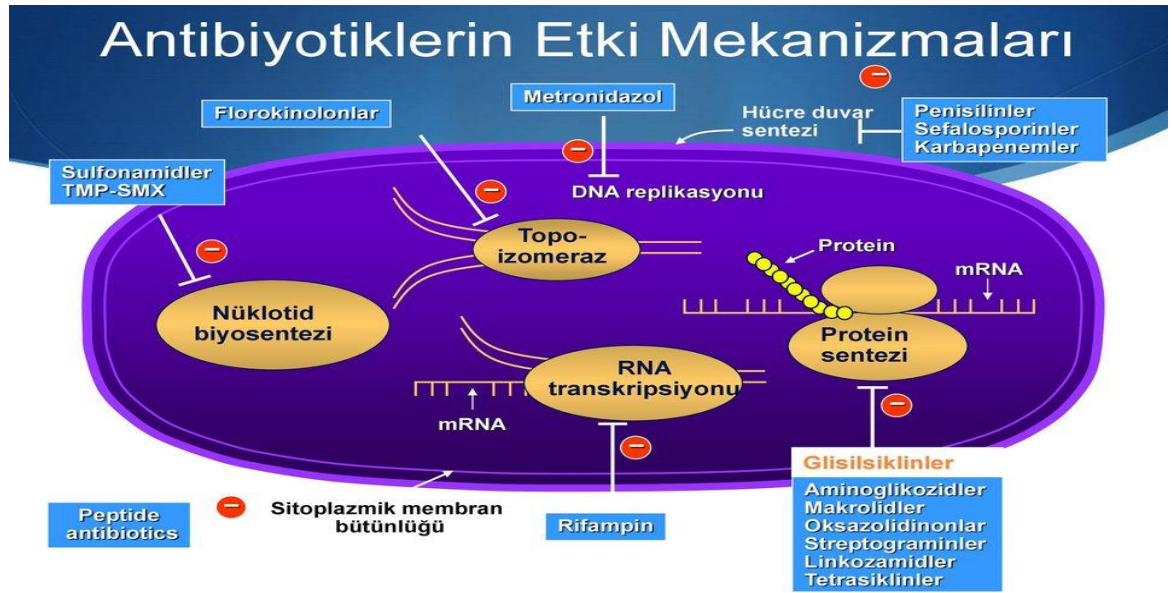
<b>Bakterisidler</b>	<b>Bakteriyostatikler</b>
Penisilinler	Tetrasiklinler
Sefalosporinler	Kloromfenikol
Aminoglikozidler	Sülfonamidler
Vankomisin	Eritromisin
Rifampisin	Klindamisin
Florokinolonlar	Mikonazol
Polimiksinler	Etambutol
Teikoplanin	

### 1.6. Antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması

Antibiyotikler etki mekanizmalarına göre 5 gruba ayrılır. Bunlar; bakteri hücre duvar sentezini bozan ve litik enzimleri aktive eden antibiyotikler, sitoplazma membran

permeabilitesini bozan antibiyotikler, ribozomlarda protein sentezini bozan antibiyotikler, bakteri genetik materyali üzerine etki yapan antibiyotikler ve bakteriyel antimetabolitlerdir. Bakteri hücre duvar sentezini bozan ve litik enzimleri aktive eden antibiyotikler; beta laktamlar (penisilinler, sefalosparinler, monobaktamlar, karbapenemler), siklosein, ristosetin, basitrasin, teikoplanin ve vankomisindir. Sitoplazma membran permeabilitesini bozan antibiyotikler deterjan etkisi yapanlar olarakta bilinmektedir. Bunlar; polimiksinler, gramisidin, nistatin, amfoterisin B, kandisein, ketokonazol ve diğer antifungal imidazoller, flukonazol ve diğer antifungal trizoller, heksaklorofen ve katyonik deterjanlardır. Ribozomlarda protein sentezini bozan antibiyotikler, tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler, amfenikoller, linkozamidler ve fusidik asit olarak sınıflanırabilir. Bakteri genetik materyali üzerine etki yapan antibiyotikler, DNA ve RNA sentezini bozanlar olarakta tanımlanabilir. Bakteri genetik materyali üzerine etki yapan antibiyotikler; florokinolonlar, rifamisinler, nalidiksik asit, metronidazol, aktinomisetler, mitomisinler, bleomisin, asiklovir, doksorubisin, dounorubisin ve metotreksattır. Bakteriyel antimetabolitler ise sülfonamidler, sülfonlar, PAS, izoniazid, etambutol ve trimetoprim şeklinde sıralanabilir (Akkan, 1997).

En sık kullanılan sınıflama olan antibiyotiklerin etki mekanizmalarına göre sınıflandırılması Şekil.1.1'deki gibidir.



Chopra I. *Curr Opin Pharmacol* 2001;1:464

Şekil 1.1. Antibiyotiklerin etki mekanizması.

### 1.7. Antibiyotiklerin kimyasal yapılarına göre sınıflandırılması

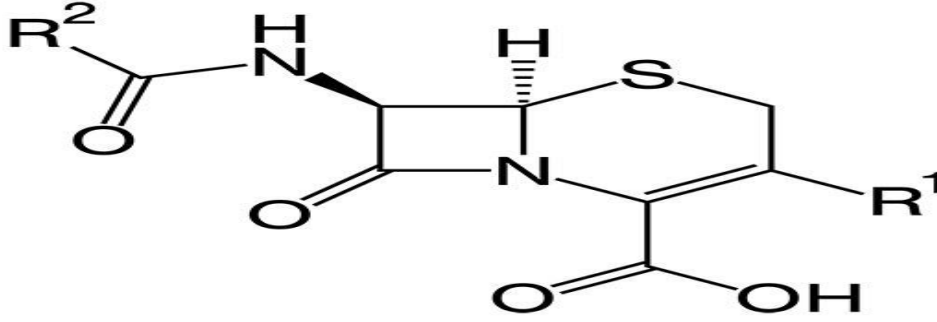
Kimyasal yapılarına göre antibiyotikler; beta laktamlar, fenikoller, sülfonamidler, tetrasiklinler, aminoglikozidler, makrolidler, linkozamidler, polipeptidler, kinolonlar, nitrofuranlar, imidazoller ve rifamisinler olarak sınıflandırılırlar (Akkan, 1997). Görüldüğü gibi, günümüzde enfeksiyon tedavisinde başarıyla kullanılmakta olan pek çok antibiyotik grubu vardır. Özellikle son yirmi yıl içerisinde birtakım yeni antibiyotik sınıfları geliştirilmiş olup, pek çoğu çeşitli enfeksiyonların tedavisinde kullanılmak üzere onay almıştır. Her ne kadar genel olarak farklı mekanizmalar üzerinden etkili oldukları düşünülse de, aslında bu ilaçların temelde yine geleneksel antibiyotiklerle aynı etki mekanizmasına sahip oldukları gözlenmektedir. Yeni antibiyotik grupları, özellikle direnç sorununun aşılması açısından, umut vaat ediyor gibi görünmektedir. Bununla birlikte, yakın zamanda özellikle linezolidde karşı gram pozitif direncinin gelişmiş olduğu bilinmektedir. (Yamantürk Çelik ve Bütet, 2007).

**Çizelge 1.3.** Kimyasal yapılarına göre antibiyotiklerin sınıflandırılması

Kimyasal Yapılarına Göre Antibiyotiklerin Sınıflandırılması				
Beta laktam antibiyotikleri	Penisilinler	Sefalosporinler	Monobakamlar	Karbapenemler
Glikopeptid antibiyotikler	Vankomisin	Teikoplanin		
Aminoglikozidler				
Kloromfenikol				
Tetrasiklinler				
Makrolit grubu antibiyotikler				
Linkozamidler				
Kinolonlar				

## 1.8. Sefalosporin gurubu antibiyotikler

Penisilin gurubundan antibiyotiklerdir. Penisilinle ortak oldukları noktalar fazladır. Antibakteriyel tesirin yanında anafilaktik şoka varabilen zor alerjik reaksiyon riskidir. Buna bağlı olarak bu ilaçlara dayalı tedavinin öncesinde alerji testi yerine getirmek gereklidir. Sefalosporinleri keşfeden İtalyan araştırmacı Brotzu'dur. Kirli suların tifo bakterilerini öldürebilen mikro organizmalara uygun bir ortam sağlayabileceğini düşünen Brotzu, atık sularda antibiyotik özellikler taşıyan önce sefalosporini ele geçirmişti.



Şekil.1.2. Sefalosporinin moleküler yapısı.

Sefalosporinler üst solunum yolları enfeksiyonlarının, deri enfeksiyonlarının (yılancık, impetigo, apse ve benzeri), idrar yolu enfeksiyonu, safra enfeksiyonu, menenjit hastalığı, septisemi, endokardit (kalp iç zarı irini), otit (kulak irini), sinüzit ve kadın eşey sistemi enfeksiyonlarının tedavisinde kullanılır ve ayrıca ameliyat sonrası oluşabilecek enfeksiyonları önlemeye de faydalıdırlar.

Laboratuvar hayvanlarında çok fazla dozlarda sefalosporinin böbrek yetmezliğine varan böbrek hasarına neden olduğu bilinmektedir. Özellikle birtakım sefalosporinlerle insanda da alternatif yan tesirlere rastlanmıştır. Böbrek hasarı risk oranını artıran etmenler şunlardır: fazla dozlarda kullanım, aminoglikozitler benzeri böbrek üzerinde toksik tesire sebep olan antibiyotiklerle beraber kullanım, idrar söktürücülerle beraber kullanım, eskiden var olan ve antibiyotiğin atılımını azaltan böbrek yetmezliğidir. Sefalosporinlerin sebep olduğu böbrek değişiklikleri genellikle tedavinin kesilmesiyle geriler. Sefalosporinlerin kas içerisine enjeksiyon yöntemiyle verilmesi önemli derecede ağrıya sebep olabilir. Buna bağlı olarak benzer enjektörle bir yerel anestetik maddenin de kullanılması gerekmektedir. Bütün sefalosporinler, damar içi enjeksiyonu takip eden bölgesel tahrişe ve tromboflebite (toplardamarda pıhtı ve irin) sebep olabilmektedir.

Alerjik tipte fazla duyarlılık reaksiyonları sefalosporinlerin ve penisilinlerin en önemli yan etkileridir. Penisiline karşı fazla hassas kişilerde, sefalosporin benzer reaksiyona sebep olabilmektedir. Bugün penisilin ile sefalosporin içinde bir çapraz alerjinin varlığı onaylanmaktadır. Penisiline alerjisi olan kişilere sefalosporin verilmesi hiçbir şekilde önerilmemektedir.

Vücudun duyarlılık kazanmasıyla penisiline karşı antikorlar meydana gelir. İlerleyen zamanlarda antibiyotik tekrar alındığında, antikor cevabı kuvvetli olarak meydana gelir. Mantarların penisilin ve sefalosporinlerle akrabalığı sebebiyle, cilt mantarları durumunda olan ya da mantarla mayalanmış peynirleri çok fazla tüketen bireyler antibiyotiklerle ilişkili alerjik reaksiyonlara daha yatkındır.

### 1.9.Sefalosporinlerin Sınıflandırılması

Sefalosporinler antibakteriyel etki spektrumlarına göre kendi içinde çeşitli kuşaklara ayrılmaktadır (Çizelge 1.5).

**Çizelge 1.4.** Sefalosporinler yıllar içinde antibakteriyel etki spektrumlarına göre gruplandırılması.

SEFALOSPORİNLERİN SINIFLANDIRILMASI				
1. KUŞAK	2. KUŞAK	3. KUŞAK	4. KUŞAK	5.KUŞAK
SEFALOTİN	SEFAMANDOL	SEFOPERAZON	SEFEPİM	SEFTOBİPROL
SEFAPİRİN	SEFOKSİTİN	SEFOTAKSİM	SEFPİROM	SEFTAROLİN
SEFAZOLİN	SEFAKLOR	SEFTİZOKSİM		
SEFALEKTİN	SEFONİSİD	SEFTRİAKSON		
SEFRADİN	SEFUROKSİM	MOKSALAKTAM		
SEFADROKSİL	SEFOROMİD	SEFTAZİDİM		
SEFALORİDİN				

Sefalosporinlerin kuşakları ve etkinliklerindeki temel özellikler;

Birinci kuşak sefalosporinler: Sefaleksil, sefadroksil, sefazolin, sefalotin. Esas gram pozitif ve anaerob etkinlikleri vardır, gram negatif etkinlik düşüktür. Sefalotin ilk

kullanıma giren sefalosporindir. Ancak nefrotoksitesisi nedeniyle günümüzde kullanılmamaktadır. Birinci kuşak sefalosporinler oral yolla kullanılabilirler.

İkinci kuşak sefalosporinler: Sefaklor, sefuroksim (oral: sefuroksim aksetil, parenteral sefuroksim-sodyum), sefotetan, sefoksitin. Gram negatif etkinlik birinci kuşağa göre daha fazladır. Hem gram pozitif hem de gram negatif ve anaerob etkinlikleri vardır. Oral yolla da kullanılabilirler. Ancak beyin omurilik sıvısına yeterli oranda geçemezler. Günümüzde alt ve üst solunum yolu enfeksiyonlarının tedavisinde, otit, sinüzit ve tonsillit tedavisinde etkindirler; üriner sistem enfeksiyonlarında etkili olanlar özellikle profilaksizde tercih edilmektedir. Sefuroksimin hem parenteral (sefuroksim sodyum) hem de oral formu (sefuroksim-aksetil) vardır, kısmen anaeroplara karşı da etkindir.

Üçüncü kuşak sefalosporinler: Sefotaksim, seftazidim, seftriakson, sefiksime. Gram negatif etkinlik ağırlıklıdır, gram pozitif etkinlikleri düşüktür. Yarı ömürleri uzun ve bakterisidaldirler. Sefazidim anti-psödomonal etkinliğe sahiptir. Beyin omurilik sıvısına menenjitte iyi penetre olurlar. Anaerob etkinlikleri düşüktür. *S. aureus*'a etkinlikleri yoktur. Ayaktan parenteral antimikrobiyal tedaviye (APAT) uygun olarak, günde bir veya iki dozda parenteral kullanılabilirler.

Dördüncü kuşak sefalosporinler: Sefepim. Geniş bir spektruma sahiptir, hem gram pozitif hem gram negatif hem de anaerob etkinlikleri vardır. Beta laktamlara dirençlidir. Febril nötropenide, yoğun bakımlarda tercih edilir. Antistafilokok etkinlikleri yoktur, (Metisilin Dirençli *Staphylococcus aureus*) MRSA'da etkisizdir.

Beşinci kuşak sefalosporinler: Seftarolin, seftobiprole. Bu grup en yeni kuşaktır. Çocuklarda kullanım onayları FDA tarafından onaylanmamıştır. ESBL pozitif gram negatif bakteriyel enfeksiyonlarda, psödomonas enfeksiyonlarında, nazokomiyal enfeksiyonlarda, anaerob enfeksiyonların tedavisinde etkindirler. Ciddi enfeksiyonlarda, MRSA enfeksiyonlarında erişkinlerde kullanılabilirler.

### **1.10. Sefaklor**

Sefaklor, sefalosporin grubunun ikinci kuşak antibiyotiği olup üst solunum yolu hastalıklarının, akut bronşit, kronik bronşitin akut alevlenmeleri, farenjit (yutak iltihabı), tonsilit (bademcik iltihabı), pnömoni (zatürre), komplikasyonsuz alt idrar yolu enfeksiyonları, gonore (bel soğukluğu), deri ve yumuşak doku enfeksiyonlarının tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Sefaklor, birinci kuşak sefalosporinlere benzeyen bir spektruma sahip ikinci kuşak sefalosporin bir antibiyotiktir. *In vitro* testler

sefalosporinlerin bakterisit etkisinin hücre duvarı sentezinin inhibisyonundan kaynaklandığını göstermektedir.

Sefaklorun, *in vitro* ve klinik enfeksiyonlarda, aşağıdaki mikroorganizmaların çoğu suşuna karşı aktif olduğu gösterilmiştir: Gram pozitif aeroblar - Staphylococci (koagülaz pozitif, koagülaz negatif ve penisilinaz üreten suşlar dahil), *Streptococcus pneumoniae* ve *Streptococcus pyogenes* (grup A  $\beta$ -hemolitik streptokoklar). Gram negatif aeroblar - *Escherichia coli*, *Haemophilus influenzae* ( $\beta$ -laktamaz üreten ampisilin dirençli suşlar dahil), *Klebsiella sp.* ve *Proteus mirabilis*. Sefaklor bir beta laktam antibiyotiktir. Bakteriyel hücre çeperi içinde yer alan penisilin bağlayıcı proteinlere (PBP) bağlanarak bakteri hücre çeperi sentezini inhibe eder. Oral uygulamadan sonra, gıda alımından bağımsız olarak iyi emilir. Karaciğerde kayda değer bir biyotransformasyon yoktur, ilacın büyük bir kısmı ilk 2 saat içinde atılır, yaklaşık % 60 ile % 85'i idrarla 8 saat içinde değişmeden atılır. Sefaklor vücutta metabolize edildiğinde veya doğal degradasyon meydana geldiğinde, molekül üzerindeki etkinin şiddetli olması nedeniyle tanınabilir bir ürün saptanamamıştır.

### 1.11. Sefaklor'un Özellikleri

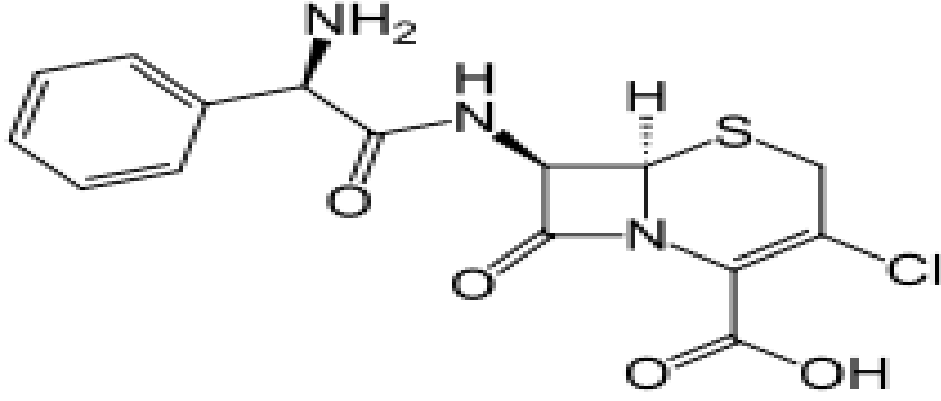
Sefaklor, beyaz veya açık sarı toz şeklindedir.



**Kimyasal adı (IUPAC):** (6R,7R)-7-[[[(2R)-2-amino-2-phenylacetyl]amino]-3-chloro-8-oxo-5-thia-1-azabicyclo[4.2.0]oct-2-ene-2-carboxylic acid.

**Kapalı formülü:** C<sub>15</sub>H<sub>14</sub>ClN<sub>3</sub>O<sub>4</sub>S

**Açık formülü:** Aşağıda Sefaklorun kimyasal yapısı görülmektedir.



**Molekül ağırlığı:** 367.804 g/mol

**CAS no:** 53994-73-3

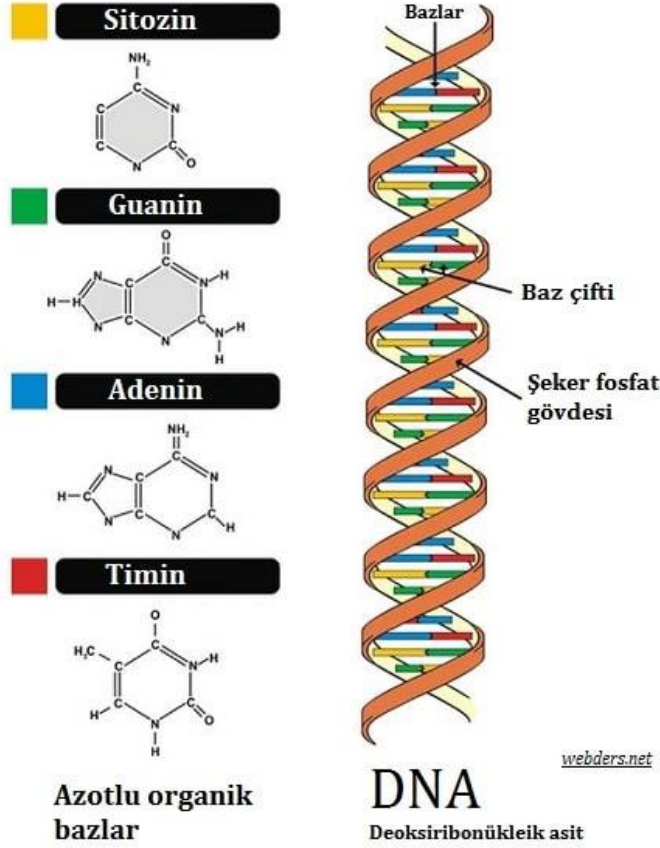
### 1.12. Sefaklor'un yan etkileri

İshal, bulantı, kusma ve karın ağrısı anoreksi, kabızlık, dispepsi, şişkinlik, gastrit. Sefalosporinlerle tedavi edilen hastalarda psödomembranöz kolit bildirilmiştir. Anafilaktik reaksiyonlar nadirdir, ancak özellikle penisilin alerjisi öyküsü olan hastalarda ortaya çıkabilir. Karaciğer enzimlerinde yükseliş, toksik nefropati, geri dönüşümlü interstisyel nefrit ve böbrek fonksiyon bozukluğu, eozinofili, lökopeni, trombositoz, geçici trombositopeni (nadir), geçici lenfositoz, hemolitik anemi, aplastik anemi, agranülositoz, geri dönüşümlü nötropeni, genital prurit ve vajinit, rinit, artmış öksürük, farenjit ve astım, bronşit, akciğer bozukluğu, solunum bozukluğu ve sinüzit, tersinir hiperaktivite, ajitasyon, sinirlilik, uykusuzluk, konfüzyon, hipertoni, baş dönmesi, halüsinasyonlar ve uyku hali görülebilir.

Yapılan çeşitli çalışmalar, genotoksik aktivitenin antibiyotiklerin olası yan etkilerinden birisi olabileceğini ortaya koymuştur. Bunun için; birçok mutajenite testi yapılmaktadır. Mutajenite testlerinden en yaygın kullanılanı 1970'lerin başında Bruce Ames ve onun çalışma arkadaşları tarafından geliştirilen Ames testidir. Bu test *Salmonella typhimurium*'un *his* mutasyonunun revertantları kullanılarak yapılır (Synder ve Champness, 2007).



### 1.13. DNA'nın Yapısı



Şekil 1.3. DNA'nın yapısı

DNA, nükleotit moleküllerinden oluşur. Her nükleotit bir fosfat grubu, bir şeker grubu ve bir azot bazı içerir. Dört tip azotlu organik baz vardır. Bunlar:

- Adenin (A)
- Timin (T)
- Guanin (G)
- Sitozin (C)

Bu bazların sırası genetik kodu belirleyen şeydir. İnsan DNA'sı yaklaşık 3 milyar baza sahiptir ve bu bazların yüzde 99'undan fazlası tüm insanlarda aynıdır. Genetik farklar çok az miktarda bazın farklı dizilmesiyle ortaya çıkar.

Bir DNA dizilimindeki bazlarının sırası, hücrelerin proteinleri nasıl yapacağını söyleyen genleri oluşturur. Diğer bir nükleik asit olan ribonükleik asit (RNA), DNA'dan genetik bilgiyi proteinlere dönüştürür. DNA üzerindeki genlerden protein sentezlenmesiyle hücreyi yönetir.

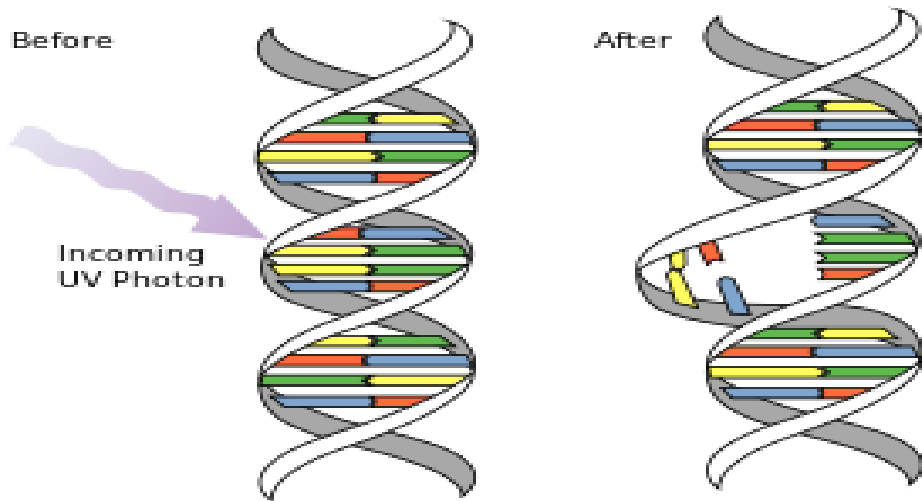
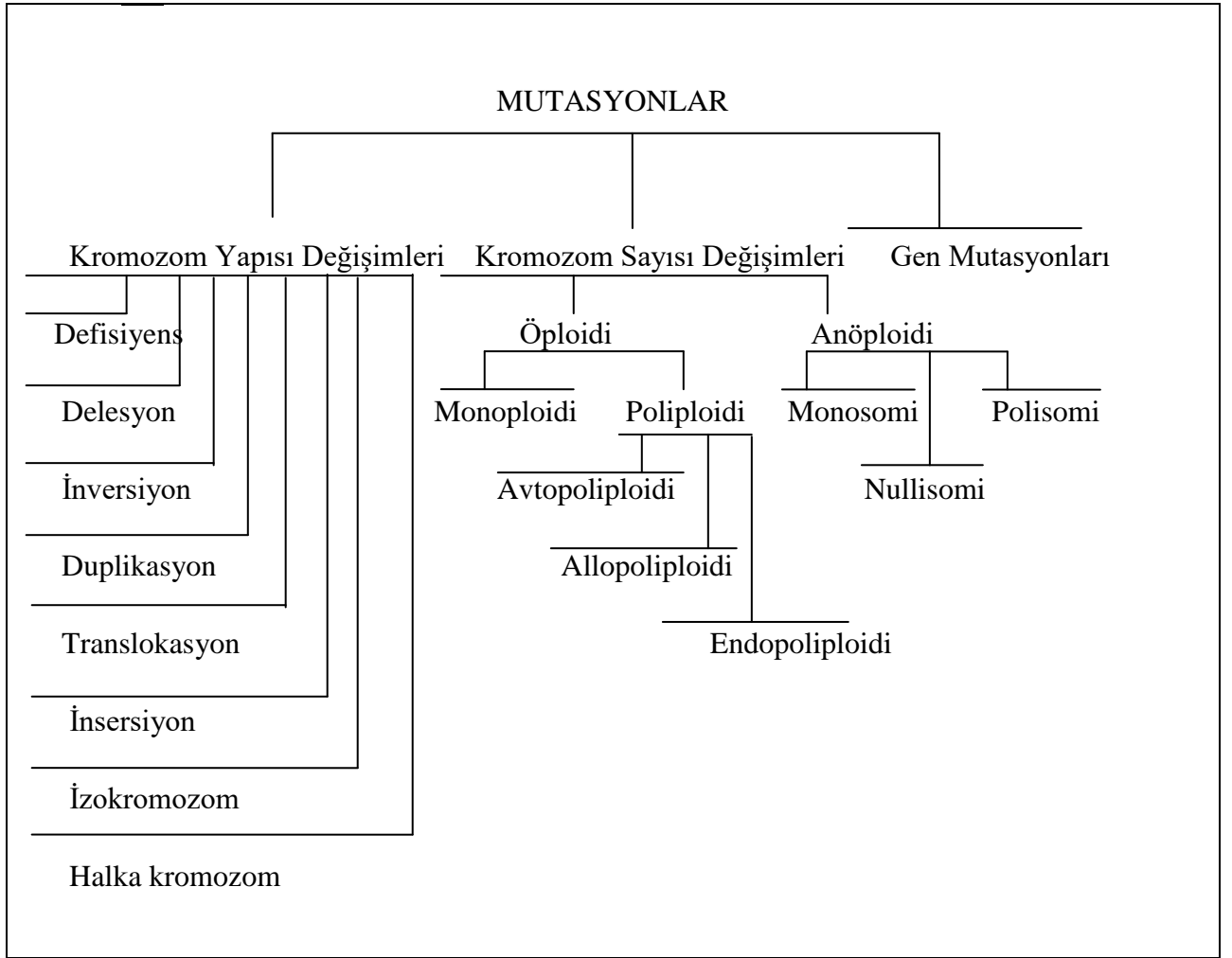
Nükleotitler, çiftli sarmal bir yapı oluşturmak üzere bir araya getirilir. Eğer çift sarmal yapıyı bir merdiven olarak düşünürseniz, bazlar basamaklar olacakken, fosfat ve şeker molekülleri da merdivenin kenarlar olacaktır. DNA'nın iki zinciri böylece bir araya gelir. Her bazın karşısında başka bir baz vardır. Bir zincirdeki bazın karşısına diğer zincirin bazı gelir ve bağlantı bazlar arasında kurulur. Timin ile adenin ve sitozin ile guanin karşılıklı bağlanırlar. Çünkü bu bazlar arasında anahtar kilit ilişkisine benzer bir ilişki vardır.

DNA molekülleri uzundur. Bu nedenle doğru paketleme olmadan hücrelere sığamayacaklardır. Hücrelere sığması için DNA, kromozom dediğimiz yapıları oluşturmak üzere sıkıca katlanır. Her kromozom tek bir DNA molekülü içerir. İnsanların hücre çekirdeğinin içinde bulunan 23 çift kromozom vardır. Yani insanların hücreleri  $2n = 46$  kromozomludur. Bütün vücut hücrelerinde bu kromozomlar aynıdır. Yani; gözümüzdeki bir hücre ile parmağımızdaki bir hücrenin içerisindeki genetik bilgi tamamen aynıdır. Buna rağmen DNA üzerindeki farklı gen bölgeleri aktif olduğu için bu hücreler farklı görevler görürler.

#### **1.14. Mutasyon**

Mutasyonlar hücre DNA'sındaki anormal protein üretimiyle sonuçlanan hatalardır. Bir DNA molekülünün herhangi bir yerindeki bir baz çifti değişikliği, mutasyon olarak değerlendirilebilir. Mutasyon, tek bir baz çifti yer değişiminden, bir delesyondan ya da bir veya daha fazla baz çiftinin insersiyonundan oluşabilir ya da bir kromozomun yapısından önemli bir değişimi içerebilir. Mutasyonlar fenotipte tanımlanabilen bir değişikliğe yol açabilir ya da açmayabilirler. Mutasyonlar spontan (kendiliğinden), uyarılmış (uyumsal) olabilirler. Doğal olarak oluşan mutasyonlara spontan mutasyonlar denir. Spontan mutasyonlar çoğunlukla DNA eşlenmesi sırasında oluşurlar. Herhangi bir dışsal faktörün etkisi sonucu oluşan mutasyonlara uyarılmış mutasyon denir. Uyarılmış mutasyonlar doğal ya da yapay ajanlar sonucu oluşabilir (Örneğin: X ışını). Mutasyonlar kromozomun yapısında ve sayısında değişimlere neden olabilmektedir (Cummings, 2003).

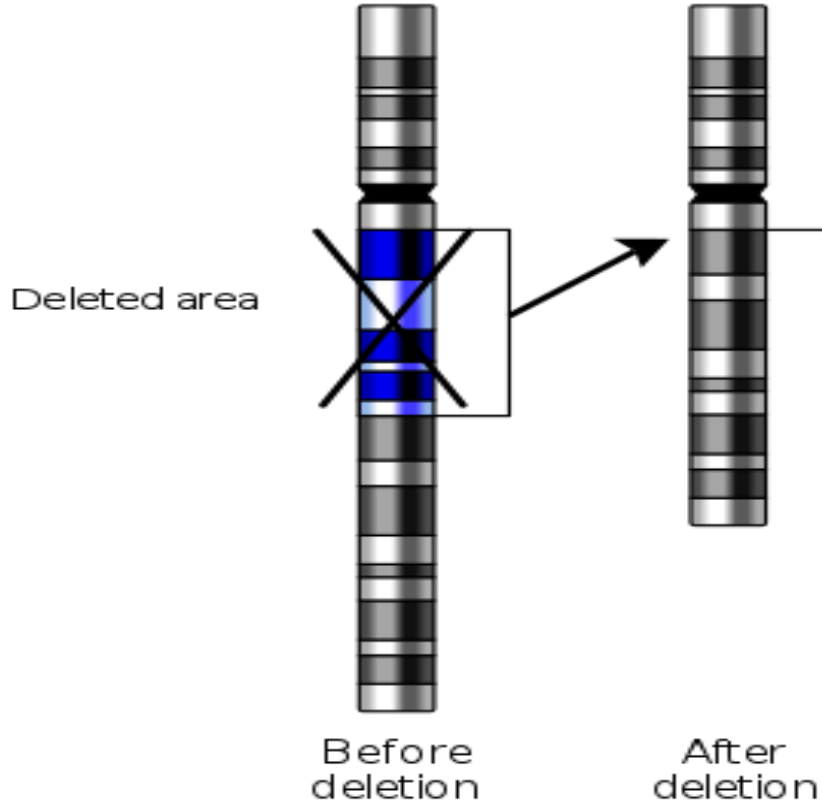
**Çizelge 1.5.** Mutasyonun sınıflandırılması.



**Şekil 1.4.** Mutasyonun oluşumu.

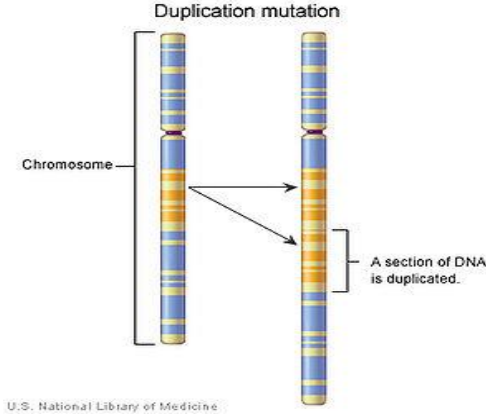
### 1.15. Kromozomal Mutasyonlar

**Delesyon:** Kromozomdan bir parçanın koparak kaybolması olayıdır. Kromozomdan bir parçanın koparak aybolması olayına delesyon ya da interkalar delesyon denir. Delesyon eğer kromozun ucundan bir parça kopup kaybolurssa bu olaya defisiyens ya da terminal delesyon adı verilir.



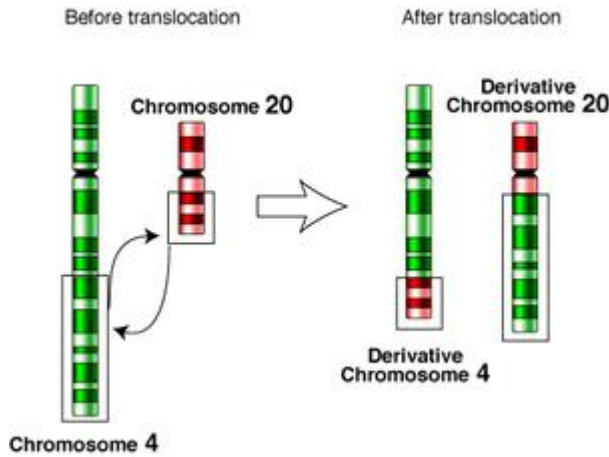
Şekil 1.5. İnterkalar delesyon.

**Duplikasyon:** Bir kromozomun belli bir bölgeyi dolayısıyla bu kısımdaki genleri iki veya daha fazla sayıda bulundurması durumudur.



Şekil 1.6. Duplikasyon.

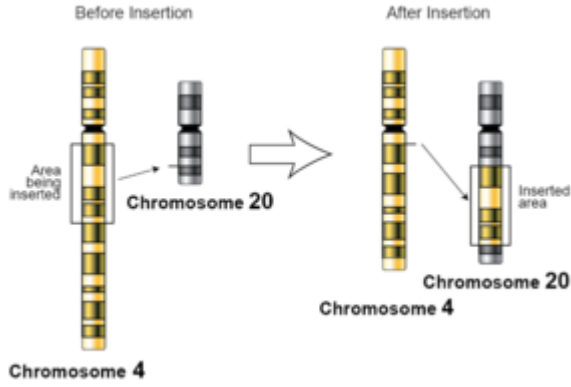
**Translokasyon:** Kromozomundaki bir parçanın koparak aynı veya farklı bir kromozomda başka bir bölgeye eklenmesi şeklindeki kromozomal mutasyonlara denir. **Translokasyon**, bir kromozomun kaybolan parçasının ya da kopan bir parçasının başka bir kromozoma yapışması şeklinde görülen kromozom anomalilerindendir. Translokasyonlar, her zaman homolog olmayan parça değişimleridir. Gen sayısının ve niteliğinin aynı kaldığı translokasyonlara "**dengeli translokasyon**"lar denir. Gen sayısının ve niteliğinin değiştiği, çoğunlukla anomalilere neden olan translokasyonlara "**dengesiz translokasyon**"lar denir.



Şekil 1.7. Translokasyon.

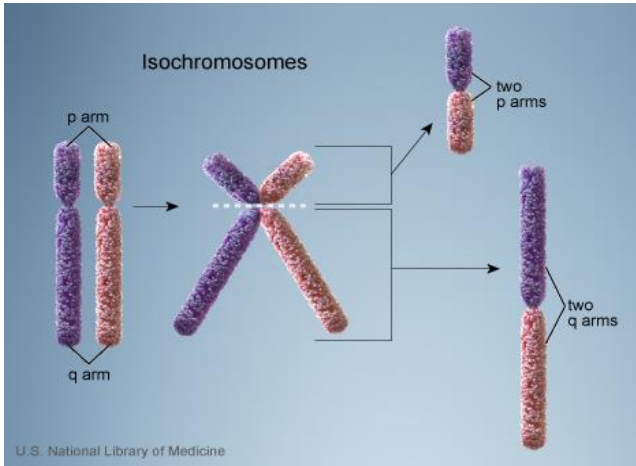
**İnseriyon:** İnseriyon bir DNA dizisine bir veya daha çok baz çiftinin eklenmesidir. DNA polimerazın kayma yapması sonucu insersiyonlar sık olarak mikrosatelit bölgelerinde olabilir. İnseriyonlar, büyüklük olarak tek bir baz çiftinden tüm bir kromozoma kadar olabilir. Kromozom seviyesinde *insersiyon* terimi, kromozomun

içine uzun bir dizinin girmesi anlamında kullanılır. Mayoz bölünme sırasında dengesiz krossover olmasının bir sonucu olarak bu meydana gelebilir.



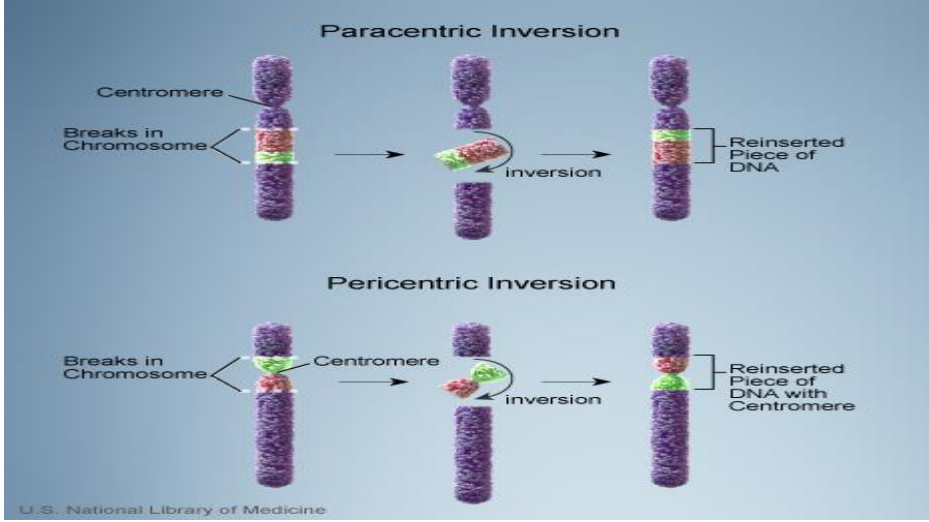
Şekil 1.8. İnsersiyon.

**İzokromozom:** Herhangi bir kromozomun metafaz bölünmesi sırasındaki bir hata sonucu sentromerinden asimetrik biçimde bölünmesiyle oluşan anormalliktir.



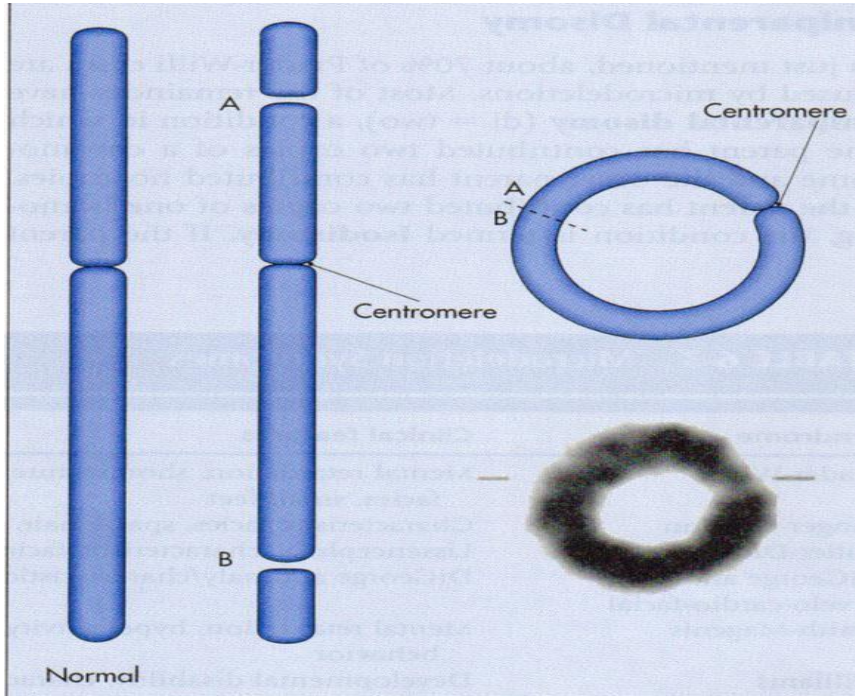
Şekil 1.9. İzokromozom.

**İnversiyon:** Kromozomun içinden bir parçanın kopup 180° dönerek koptuğu yere yapışması şeklinde görülen kromozom anormalliğidir. Sentromer kopan parçanın üzerindeyse bu tip inversiyona perisentrik, parçanın üzerinde değilse parasentrik inversiyon denir.



Şekil 1.10. İnverson.

**Halka kromozom:** Her iki ucu da kopan bir kromozomun iki kırık ucunun bir halka oluşturacak biçimde yeniden birleşmesiyle oluşan bir anormalliktir.



Şekil 1. 11. Halka kromozom.

### 1.16. Sayısal Kromozomal Anormallikler

#### Öploid

Bir takımdaki kromozomların hepsinin birden sayısının tam katlar şeklinde artması ya da o kromozom takımının organizmada tek bir defa bulunması durumudur.

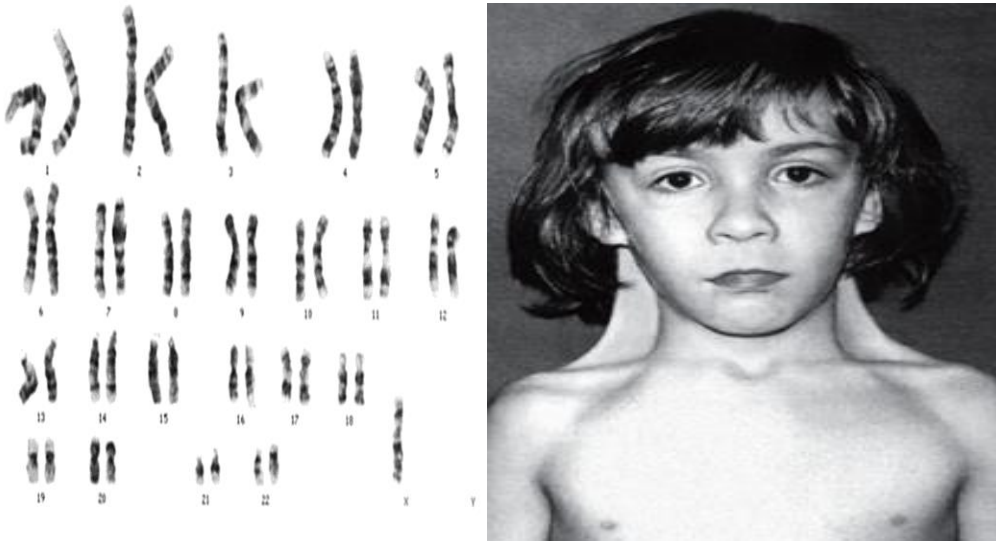
**Monoplöidi:** Hayvan ve bitki hücreleri bazen bir takım, yani “n” sayıda kromozom bulundurlar. Bu olaya monoplöidi denir.

**Poliplöidi:** Bir takımdaki kromozomların sayısının 3 veya daha fazla kata yükselmesi olayına denir. Poliplöidi bulduran canlı sahip olduğu genoma göre farklı isimler alır, poliplöidin genomu aynı türden sağlanıyorsa **otopoliplöidi**, genomun bir kısmı başka bir türden sağlanıyorsa **allopöiplöidi**, genom aynı türden sağlanıyorsa **endopoliplöidi** olarak üçe ayrılır.

### **Aneplöidi**

Bir canlıdaki kromozomların takım halinde değil de birer birer artması veya azalması olayıdır.

**Monosomi:** Diploit ( $2n$ ) canlıdaki tek bir kromozomun eksik olması durumudur ( $2n-1$ ). Monosomiye örnek, monosomi X olarak bilinen Turner sendromudur. Dişilerde eşey kromozomlarından birinin eksikliğinde meydana gelir. Fenotipte dişiler olarak görülseler de, eşey organları ve hücreleri gelişmediği için kısırdırlar. Kısa boy, düşük saç bitişi ve kulak çizgisi, meme ucu şişkinliği, el ve ayaklarda şişkinlik, perdeli boyun, yumuşak ve yukarı dönen tırnaklar, düşük göz kapakları bazı belirtileri arasındadır. Bu belirtiler hasta kişilerde değişkenlik gösterebilir. İnsanlarda kromozom eksikliği sonucunda oluşan anormalliklerden sadece Turner sendromlu bireyler yaşayabilmektedir.

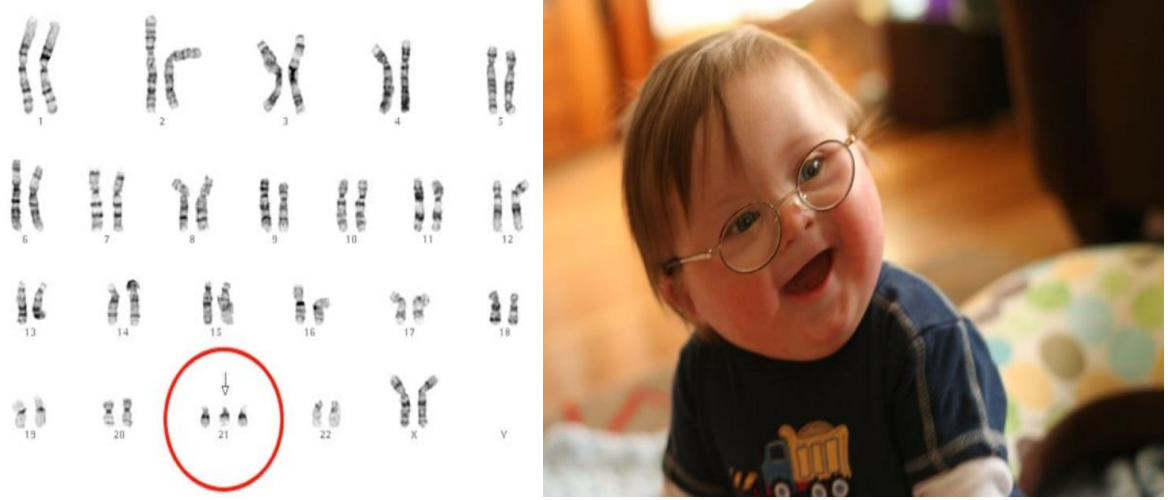


**Şekil 1.12.** Turner Sendromu karyotip ve fenotip.

**Nullisomi:** Canlının bir kromozomunun homologu ile birlikte eksik olması durumudur ( $2n-2$ ).



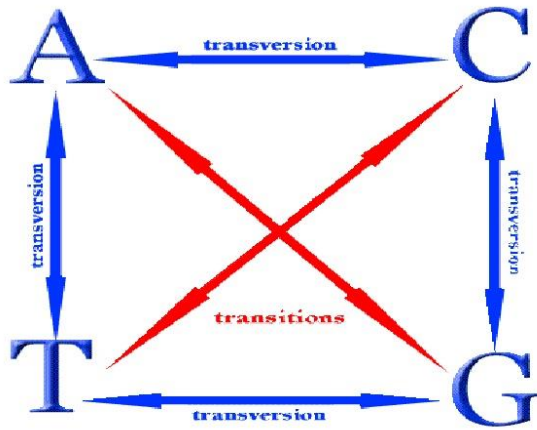
**Polisomi:** Bir kromozom takımındaki kromozomlardan birinin veya birkaçının sayısının yükselmesi olayıdır. Kromozomlar mitoz ve mayoz bölünme sırasında bazen düzenli ayrılamazlar. Kromozomların ayrılmama olayı hem otozomlarda hem de gonozomlarda görülebilmektedir. Otozomlarda ayrılmamanın en bilinen örnekleri trizomi 13, 18 ve 21'dir. Fazladan 13. kromozoma sahip bireylerde Patau sendromu, fazladan 18. kromozoma sahip bireylerde Edwards sendromu ve fazladan 21. kromozoma sahip bireylerde Down sendromu görülmektedir. Otozomlarda trizomiye başka örnekler 8, 9 ve 16. Kromozomların trizomisidir. Trizomi 8, 9 ve 16 nadir görülen anormalliklerdir (Terzibaşoğlu, 1997; İncecik, 2014; Çetinkaya, 2018 ).



**Şekil 1.13.** Down Sendromu karyotip ve fenotip.

### 1.17. Gen Mutasyonları

Kromozomların yapısında ve sayısında herhangi bir değişiklik olmadan sadece gen temelinde meydana gelen değişikliklere denir. Bir gendeki pürin bazının başka bir pürinle ya da pirimidin bazının başka bir pirimidinle yer değiştirmesi durumu olan **transisyon**; bir pürin bazının bir pirimidin bazıyla ya da bir pirimidin bazının bir pürin bazıyla yer değiştirmesi durumu olan **transversiyon**; bir veya daha fazla baz çiftinin DNA'dan kopması sonucu oluşan **delesyon**; bir veya daha fazla baz çiftinin DNA'ya eklenmesi sonucu oluşan **insersiyon**, proteindeki aminoasit sıralamasını değiştirip, fonksiyonel olmayan protein üretimine neden olan; delesyon ya da inversiyon sonucu oluşan **çerçeve kayması** gen mutasyonlarına örnektir.



Şekil.1.14. Transversiyon.

### Indel examples

wild-type sequence

ATCTTCAGCCATAAAAGATGAAGTT

3 bp deletion

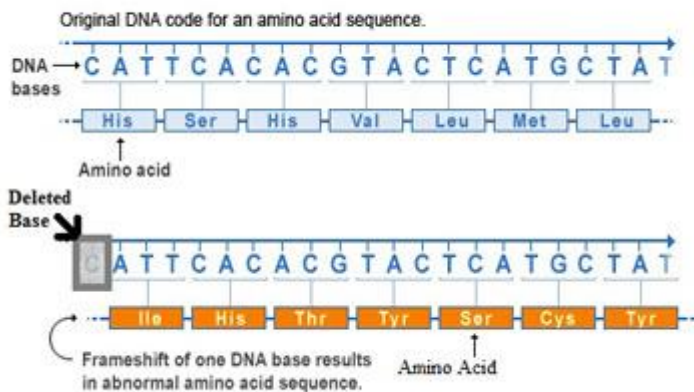
ATCTTCAGCCAAAGATGAAGTT

4 bp insertion (orange)

ATCTTCAGCCATA**TGTG**AAAGATGAAGTT

Şekil.1.15. İnsersiyon.

### Frameshift mutation



U.S. National Library of Medicine

Şekil.1.16. Çerçeve kayması.

**Nokta Mutasyonları:** Bir gende sadece tek bir baz çiftinin değişmesiyle oluşan mutasyonlardır. Böyle bir değişim gende çok kısıtlı bir bölgeyi kapsadığı için nokta mutasyonu olarak adlandırılır. Mutasyonun en basit tipi olan nokta mutasyonu DNA'daki herhangi bir baz çiftinde meydana gelebilir. Örneğin: Adenin yerine Timin gelmesi.

### 1.18. Mutajenler

Mutasyona neden olan canlı organizmaların DNA veya RNA gibi hücresel bilgilerinin bulunduğu moleküllerin yapısını değiştirerek mutasyona uğramasını sağlayan fiziksel veya kimyasal etmenlerdir. Herhangi bir organizma mutajenler için indikatör bir sistem olarak kullanılabilir. Kansere neden olan ajanlar karsinojen olarak ifade edilir ve bunlar da mutajendir (Ames, 1971).

Karsinojenlerin taranmasında mutajenlerin esas alınması iki önemli nedene dayanır. Bunlardan birincisi, genetik kodun ve genetik sistemin evrensel oluşudur. İkincisi ise karsinojenite ile mutajenite arasındaki korelasyonun yüksek oluşudur ( Ramel and Rannung, 1980). Genel görülen bir görüşe göre, doğrudan ya da metabolize edildikten sonra karsinojenik etki gösteren tüm maddelerin aynı zamanda mutajenik etki gösterecekleri yani mutajen olabilecekleri ifade edilmiştir. Aksi takdirde tüm mutajenik maddelerin karsinojenik etki göstermeleri beklentisi ise bazı durumlarda gerçekleşmemektedir. Sebebi, mutasyonun genetik materyalin doğrudan etkilenmesiyle ortaya çıkabilmesine rağmen kanserin kompleks bir biyolojik olaylar sonucu ortaya çıkması olabilir.

McCann ve arkadaşları (1976), karsinojen olan ve olmayan 300 kimyasalı, Salmonella/mikrozom test sistemi ile taradıklarında 175 karsinojen maddenin 157 tanesinin mutajenik etkili, karsinojenik etki göstermeyen 108 maddenin 94 tanesinin mutajenik etkili olmadığını saptamışlardır. (Mc Cann and Ames, (1976).

### 1.19. Bakteriyel Mutajenite Testleri

Yeni sentezlenen ya da piyasada kullanılan kimyasal maddelerin biyolojik etkilerini belirlemek için genotoksisite testleri kullanılmaktadır. Genotoksisite testlerinde öncelikli olarak yapılması gereken iş; kimyasal maddelerin canlılar üzerinde genetik değişikliğe sebep olup olmadığını bulmaktır.

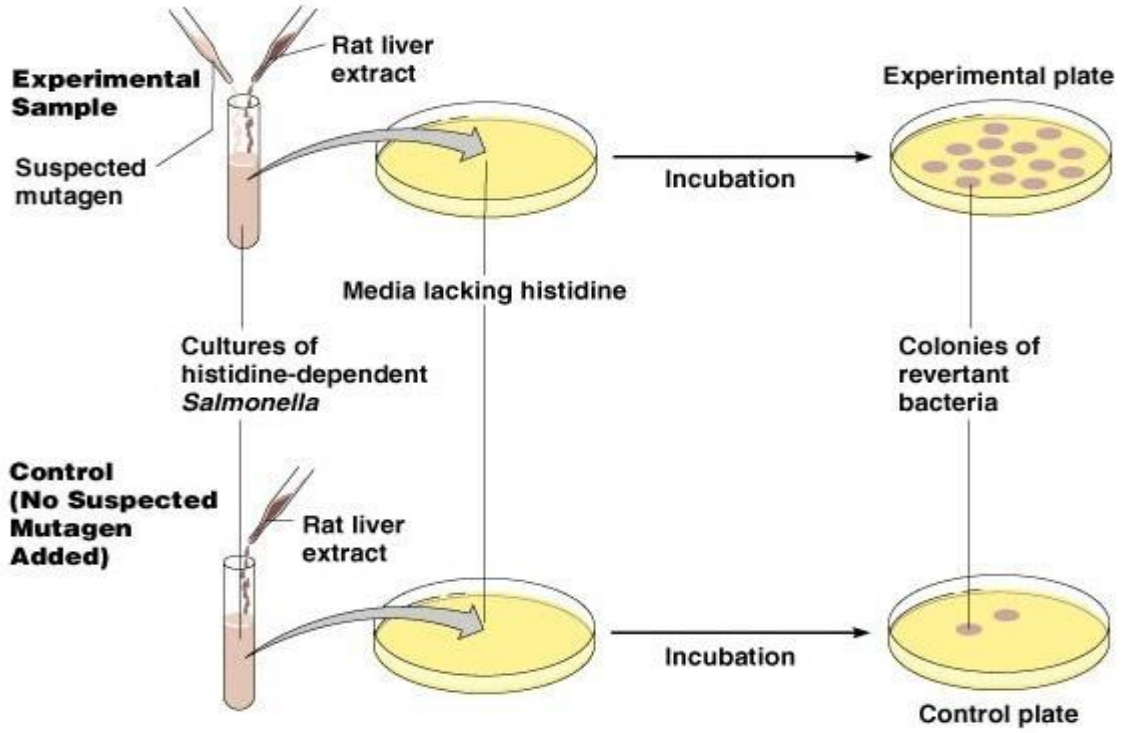
Kimyasal maddelerin genotoksik aktiviteleri; değişik test yöntemleri (uzun zamanlı, orta zamanlı ve kısa zamanlı testler) ile farklı organizmalar kullanılarak yapılmaktadır. Orta ve uzun zamanlı test yöntemlerinde maliyetin fazla olması ve sonuçların hemen elde

edilememesi sebebiyle çok tercih edilmemektedir. Kısa zamanlı test yönteminin kolay uygulanması, maliyetinin düşük ve daha kısa sürede sonuçlandırılmasından dolayı daha çok tercih edilmektedir.

Çeşitli bakterilerle 200'den fazla kısa zamanlı test geliştirilmiştir. Mutajen ve karsinojen ajanların belirlenmesinde DNA'daki mutasyonların *in vivo* ve *in vitro* şartlarda indüklenmesiyle çalışmalar yürütülmektedir. Gen mutasyonlarını tespit etmek için yaygın olarak kullanılan testler bakterilerle yapılan analizlerdir. *Salmonella typhimurium* LT2 atasal suşu ve *E. coli* WP2 suşları kullanılarak yapılan plak birleştirme deneyleri, gen mutasyonlarına yol açan çok çeşitli kimyasal maddeleri tespit etmek için özel olarak tasarlanmış kısa süreli geri mutasyon testleridir. Bu testler yeni bulunmuş kimyasalların ve ilaçların mutajenik potansiyelini belirlemek için dünya çapında kullanılmaktadır. Bakteriyel mutajenite testleri (Ames testi) ile belirli analizler yaparak metabolik aktivasyon sisteminin varlığında (S9) ve yokluğunda (-S9) yapılması için ayrıntılı bilgiler sunmaktadır.

#### **1.19.1. Ames testi**

Ames test sistemi, adını aldığı Bruce Ames tarafından 1970 yılında bulunmuş olup çeşitli mutajenlere karşı yüksek derecede hassasiyet gösteren ve kolay uygulanabilen kısa zamanlı test sistemidir. Bu sistemin temel özelliği kimyasal maddelerin mutajenik, karsinojenik ve toksikolojik potansiyellerini değerlendirmektir. Test suşu olarak *S. typhimurium*'un atasal LT<sub>2</sub> ve histidin sentezleyemeyen (*his*<sup>-</sup>) mutant suşu kullanılmaktadır. *Salmonella typhimurium*'un *his* mutasyonunun revertantları kullanılarak yapılan bu testte, ortaya çıkan mutasyonlar için kimyasal eksik *Salmonella typhimurium*'un *his*<sup>-</sup> mutantlarının histidin plaklarına yayılmasından ileri gelir. Eğer kimyasallar *his* mutasyonu ile geri dönüşümlü ise *his*<sup>+</sup> geri dönen koloni sayıları plak üzerinde görülür (Şekil 1.16.).



Şekil 1.17. *Salmonella typhimurium* ile yapılan Ames testi.

Gen bölgesinde meydana gelen ve histidin amino asidini kodlayan mutasyonlar ise ilgili gen bölgesinin fonksiyonunu düzelterek kolonilerin oluşmasını sağlar. *S.typhimurium* TA1535, TA1537, TA1538, TA97, TA98, TA100, TA102 suşları olup her biri farklı mekanizmalar üzerinden mutajenlere etki edecek şekilde geliştirilmiştir. (Maron, D. M., Ames, B. N., 1983). *S. typhimurium*' un yaygın olarak kullanılan mutant suşlarının genetik özellikleri Çizelge 1.6.'da verilmiştir.

**Çizelge1.6.** *Salmonella Typhimurium*'un mutant suşları ve genetik özellikleri (Öksüzoğlu, 2000).

SUŞ	HİSTİDİN MUTASYONU	LPS	ONARIM	pKM	Mutasyon Niteliği	Belirlenecek Bileşik Sınıflar
TA1535	his G46	rfa	uvrB	-	AT→GC Transisyon	Bazçifti yerdeğişimine nedenolan Mutajenler
TA1537	his C376	rfa	uvrB	-	C.....C Yanına +1	Çerçeve kaymasına neden olan Mutajenler
TA1538	his D3052	rfa	uvrB	-	CG.....CG Yanından -1	Çerçeve kaymasına neden olan Mutajenler
TA98	his D3052	rfa	uvrB	+	CG yanından -1	Çerçeve kaymasına neden olan Mutajenler
TA100	his G46	rfa	uvrB	+	AT→GC Transisyon	Bazçifti yerdeğişimine nedenolan Mutajenler
TA97	his G6610	rfa	uvrB	+	CCC yanına +4	Çerçeve kaymasına neden olan Mutajenler
TA102	his G428 PAQ1 his	rfa	uvrB	+	G Ochre AT	Oksidanlar, X-ışınları, U.V., Mitomisin C, Bleomisin ve Klinonlar

Bu çalışmada; Sefaklor antibiyotiğinin (Gölcü ve arkadaşları, 2016) tarafından sentezlenen bazı özel metabolitlerinin *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 suşları kullanılarak Ames testi ile mutajenik etkisi araştırılmıştır.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Donya (2002) çalışmasında, sefalosporin grubu antibiyotiklerinden olan sefadroksil ve sefaklorun fare spermatozoidlerinde kromozomal anormallikleri indüklemeye potansiyellerini araştırmıştır. Bir grup erkek Swiss farelerine, bir kez gavaj yoluyla 40, 80, 160 mg kg<sup>-1</sup> b.wt. sefadroksil, 20, 40, 80 mg kg<sup>-1</sup> b.wt. sefaklor vermiş ve uygulamadan 24 saat sonra örnekleri almıştır. Diğer bir gruba ise; 40 mg kg<sup>-1</sup> b.wt. sefadroksil ve 20 mg kg<sup>-1</sup> b.wt. sefakloru, ardışık 14 gün boyunca farelere vermiş ve son muameleden 24 saat sonra örnekleme yapmıştır. Diakinez-metafaz I spermlerindeki kromozomal anormalliklerinin yüzdesinin doza bağlı olarak arttığını, bu artışın, yüksek ve tekrarlanan dozlarda istatistiksel olarak önemli düzeyde olduğunu saptamıştır. 160 mg sefadroksil muamelesinden sonra bu değer % 6,0±0,5, ve 80 mg sefaklor muamelesinden sonra ise; % 5,6±0,7 (P<0,05) değerlerine ulaşmıştır. 14x40 mg tekrarlanan sefadroksil ve 14x20 mg tekrarlanan sefaklor muamelesinden sonra bu değerlerin sırasıyla % 7,4±0,6 ve % 6,0±0,7 (P<0.01) olarak indüklendiğini gözlemiştir. Her iki sefalosporinin de, univalentler (X-Y) ve otozomal univalentler dahil olmak üzere yapısal kromozomal anormallikleri indüklediğini gözlemiştir. Sefadroksil ve sefaklor, anormal başa sahip sperm yüzdesinde de doza bağlı bir artışa neden olmuştur. En yüksek değerler, sefadroksil için % 5,05±0,70, sefaklor için 4,39±0,79 (P<0,05) olarak saptanmıştır. Araştırmacı, sefadroksil ve sefaklorun, yüksek ve tekrarlanan dozlar şeklinde kullanıldığında, fare spermatozoidleri üzerinde önemli sitogenetik etkileri olduğunu ve sperm baş yapısını da belirgin şekilde olumsuz etkilediğini bildirmiştir.

Hanasono ve arkadaşları (1979), ağız yoluyla bir kez veya tekrarlayan dozlar halinde verilen sefaklorun laboratuvar hayvanlarında (fare, sıçan, köpek ve maymun) toksik etkilerini incelemiştir. Farelere, subakut toksisite testlerinde, 28 gün boyunca yaklaşık 230 ila 950 mg/kg ortalama günlük dozlar ve kronik toksisite testlerinde ise; 1 yıl boyunca ortalama 160 ila 675 mg/kg günlük sefaklor verilmiştir. Köpeklere günlük 50 ila 200 mg/kg oral dozlarda 30 gün verilen sefaklorun, iki erkekte hemoglobin konsantrasyonunda en yüksek dozda geçici bir düşüşe neden olduğunu saptamışlardır. Bir yıl boyunca, 100 ila 400 mg/kg/gün oral dozlarda sefaklor verilen köpeklerde, yumuşak dışkı atılımı ve nadir görülen emezis olayları gözlemiştir. Bir hayvanda, en yüksek dozda reversible trombositopeni saptamışlardır. Son dozdan 2 saat sonra alınan çeşitli doku sıvılarının analizi, sinovyal sıvıdaki sefaklor konsantrasyonunun, serumdaki miktarının yaklaşık yarısı kadar olduğunu ortaya koymuştur. Araştırmacılar, bu çalışma sonuçlarına

göre, sefaklorun test edilen türlerde düşük toksik potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.



### 3. MATERYAL ve METOD

#### 3.1. Materyal

##### 3.1.1. Kimyasal Maddeler

Çalışmada kullanılan kimyasallar, 4-nitro-o- fenilendiamine,  $K_2HPO_4$ ,  $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ,  $NaH_2PO_4 \cdot 4H_2O$ , 2-aminofluorene, L- Histidin HCl, D-Biyotin, Ampisilin trihidrat, D-glukoz 6-fosfat,  $\beta$ -NADP, 2-aminofluorene ve 4- nitro-o- fenilendiamine Fluka'dan (China, Hong Kong); Sitrikasit monohidrat, Sodyum hidroksit, Sodyum azid, KCl, NaCl, Dimetilsülfoksit, Riedel'den (Bucharest, Romania); Bacto agar, Nutrient Broth No:2 Oxoid, 3-Metilkolantren Sigma Aldrich'den (St. Louis, Missouri, USA) temin edilmiştir.

##### 3.1.1. *Salmonella typhimurium* test suşları

Deneyde kullanılan, *Salmonella typhimurium* LT<sub>2</sub> atasal suşundan *in vitro* mutasyonlarla geliştirilmiş olan mutant TA98 suşu çerçeve kayması, TA100 suşu ise nokta mutasyonlarının saptanmasında kullanılmıştır. Çalışmada kullanılan TA98 ve TA100 mutant suşları, Doktor Öğretim Üyesi Mehmet Arslan'dan (Ardahan Üniversitesi, Sağlık Bilimleri Yüksekokulu, Hemşirelik Bölümü) alınmıştır.

##### 3.1.2. Çalışmada kullanılan cihazlar

**Otoklav (Hirayama, JAPAN):** Pipet, santrifüf tüpleri gibi malzemelerin ve suyun sterilizasyonunda HIRAYAMA marka HV-85 model otoklav kullanılmıştır.

**İnkübatör (Nüve, TÜRKİYE):** Hücrelerin 37°C'de kültürünün yapılmasını ve bazı eriyiklerin ısıtılmasında NÜVE marka EN 400 model inkübatör kullanılmıştır.

**Steril kabin (ESCO Laminer Air Flow Cabinet):** Bakteriyel ve mantar sporlarının kontaminasyonunu önlemek için hücre ekimleri sırasında kullanılmıştır.

**Manyetik karıştırıcı (Nüve, TÜRKİYE):** Cam kaplar içine konan sıvıları manyetik kuplajla karıştırma veya ısıtma yapar.

**Derin dondurucu (Nuair, U.S.A.):** Laboratuvar ortamında hazırlanan besiyerlerin, kimyasalların ya da çözeltilerin belirlenen soğuklukta korunmasını sağlar.

**Hassas terazi (Scaltec, GERMANY):** Kimyasalları tartmak için özel cam paravanlarla korunan dijital ekrana sahip SCALTEC marka hassas terazi kullanılmıştır.

**Saf su cihazı (Ateks):** Temizlik için gerekli olan suyun hızlı, güvenilir ve ucuz elde edilme yoludur.

**Mini karıştırıcı (IKA, U.S.A.):** Seramik ısıtıcı plaka özellikle asitler ve değişik kimyasallara karşı homojen ısı iletimi sayesinde 100 ile 1500 rpm arasında hıza sahip güçlü karıştırıcılardır.

**Shaker (Gerhardt Bonn):** Çalkalayıcı olarak bilinen gıda, ilaç, boya sanayilerinin kalite kontrol ve araştırma laboratuvarlarında değişik şekil ve hacimde kaplar içindeki sıvıların homojen olarak çalkalanmasını sağlar. Sallayıcı tabla üzerine konan erlen, balon joje ve benzer kapları özel klipsler ile tutarak içindeki sıvıları doğrusal ve dairesel hareketle sallayan alettir.

**Vortex (IKA, U.S.A.):** Bir test tüpü içerisindeki kimyasalın girdap oluşturacak şekilde iyice karıştırılmasını sağlar.

**Mikrodalga fırın (Arçelik, TÜRKİYE):** Radyo dalgaları kullanılarak içerisine konan maddelerin kolay ve hızlı bir şekilde ısınmasını sağlar.

**Benmari (Memmert):** Ekran göstergesinden ayarlanabilir mikroişlemcisiyle belli sürelerde ve göreceli nem ortamında, haznesindeki sıvının belli sabit sıcaklık değeri sayesinde, uygun ısıya yavaşça gelmesi istenen numuneler için ortam oluşturan sıcak su banyosudur.

**pH metre (Hanna, PORTUGAL):** Hastane, laboratuvar ve benzeri alanlarda pH değerini ölçmek için kullanılan alettir.

**U.V. Spektrofotometre (Shimadzu):** Renkli olmayan maddelerin soğurduğu ışık şiddetini ölçen alettir. Işık merkezi olarak, yüksek baskı altındaki hidrojen deşarj lambası (200-375 nm miktarında ışık verir) kullanılır. Kimyasal maddelerin UV (200-380 nm) arasındaki analizler için spektrum analizler için kullanılması tavsiye edilir. Genellikle UV spektrofotometreler görünür ve birleşik haldedir. Bu çeşit spektrofotometreler dalga boyları 100 ile 800 nm arasında değişen ışın ile tarayarak çalışırlar. Dalga boyuna karşı absorpsiyon veya transmittans ölçümü alınır.

### **3.1.3. Deneyde kullanılan besiyerlerinin hazırlaması**

#### **Vogel-Bonner-E besiyerinin hazırlanması (50XVB tuzları)**

##### **MGA ve HBA (master) plaklarının hazırlanması**

Magnezyum sülfat ( $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ ) 10 g, Sitrikasit monohidrat 100 g, Potasyum fosfat ( $K_2HPO_4$ ) 500 g, Sodyum amonyum fosfat ( $NaH_2N_2PO_4 \cdot 4H_2O$ ) 175 g olack şekilde tartılarak 1000 mL'lik erlende bir miktar distile su ( $45^\circ C$ ) içerisinde çözüldükten sonra distile su ile 1000 mL'ye tamamlanmıştır. Çözelti,  $110^\circ C$ 'de 20 dakika otoklavda steril edilip oda sıcaklığında karanlıkta saklanmıştır.

##### **0,5 mM'lık Histidin/Biyotin solüsyonunun hazırlanması**

0,0309 g biyotin, 250 mL'lik distile suya konulmuş ve suyun kaynama noktasına kadar ısıtılarak çözülüp üzerine 0,024 g'lık histidin eklenmiştir. Çözelti membran filtre ile steril edilerek otoklavda  $110^\circ C$ 'de 20 dakika bekletilmiştir. Kullanılincaya kadar çözelti  $+4^\circ C$ 'de saklanmıştır. 90 ml top ağara, 10 mL eklenerek mutajenite deneyinde kullanılmıştır.

##### **% 0,9'luk Serum fizyolojik solüsyonunun hazırlanması**

4,5 g NaCl, 500 mL'lik distile suda çözülerek hazırlanmış ve bakteri sulandırılmasında kullanılmıştır..

##### **% 0,1'lik kristal viyole solüsyonunun hazırlanması**

0,1 g'lık kristal viyole 100 mL'lik distile suya tamamlanıp, ışık geçirmeyen bir şişede saklanmıştır. Suşların kristal viyoleye duyarlılıkları ve rfa mutasyonunu taşıyıp taşımadıklarının kontrolünde kullanılmıştır.

##### **% 0,13'lik biyotin çözeltisinin hazırlanması**

0,0013 g'lık D-Biyotin 100 mL'lik distile suyun kaynama noktasına kadar ısıtılarak çözülmüştür. Otoklavda  $110^\circ C$ 'de 20 dakika steril edilerek,  $+4^\circ C$ 'de saklanmıştır.

##### **% 0,5'lik histidin çözeltisinin hazırlanması**

HBA plaklarının hazırlanması ve genotip kontrolünde kullanılmıştır. 0,5 g L-Histidin 100 mL'lik distile suyla tamamlanıp otoklavda  $110^\circ C$ 'de 20 dakika steril edilerek hazırlanan çözelti, kullanılincaya kadar  $+4^\circ C$ 'de saklanmıştır.

### **%20'lik glikoz çözeltisinin hazırlanması**

MGA ve HBA plakları hazırlanmasında kullanılmıştır. 20 g glikoz distile su içinde tamamen çözülüp, 100 mL'ye tamamlanmıştır. Otoklavda 110 °C'de 15 dakika steril edilerek hazırlanan çözelti, kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklanmıştır.

### **2 µg/µl 2-Aminofluorene (2AF) çözeltisinin hazırlanması**

1 mg/petri başına olmak üzere, 0,02 g 2AF, 10 mL dimetilsülfoksitte (DMSO) çözülerek hazırlanmış, kullanılıncaya kadar +4 °C'de saklanmıştır. Pozitif kontrol deneyi için kullanılmıştır.

### **4- Nitro-*o*-Fenilendiamine (NPD) (2 µg/µl) çözeltisinin hazırlanması**

Pozitif kontrol 200 µg/petri olmak üzere, 0,02 g NPD 10 mL DMSO'da çözülüp oda sıcaklığında saklanmıştır.

### **Sodyum azid çözeltisinin hazırlanması (0,1 µg/µl)**

Pozitif kontrol 1,0 mg/petri başına olmak üzere, 0,01 g Sodyum azid 100 mL distile suda çözülerek hazırlanmış ve +4 °C'de saklanmıştır.

### **Histidin/Biyotin/Ampisilin plaklarının hazırlanması (HBA agar)**

15g agar, 860 mL distile su otoklavlanarak 45 °C'ye kadar soğutulmuştur. 100 mL % 20'lik glikoz, 20 mL 50XVB tuzları, 10 mL histidin çözeltisi, bu sıcak solüsyona eklenip karıştırılmış ve biraz daha soğuyunca 6 mL 0,5 mM biyotin ve 3150 µl ampisilin eklenip plaklar petrilere 25 mL olarak aktarılmıştır. Bu plaklarda bakteriler +4 °C'de 2 ay saklanmıştır. Ampisiline dirençlilik testi ve master plak hazırlanmasında kullanıldı.

### **Minimal glikoz agar plaklarının hazırlanması (MGA)**

15 g agar ve 880 mL distile su karıştırılıp otoklavda steril edilmiştir. 45°C'ye soğutulup (20-30 dakika) 100 ml %20'lik glikoz ve 20 mL 50XVB tuzları karıştırılıp petri kutularına 25 mL olarak dağıtılmıştır. Mutajenite deneyi için kullanılmıştır.

### **Top agar hazırlanması**

6 g agar, 5 g NaCl ve 1000 mL distile su manyetik karıştırıcıda ısıtılıp karıştırılarak çözülmüştür. Otoklavda 110°C'de 20 dakika steril edilip oda sıcaklığında karanlıkta saklanmıştır. Mutasyon deneyi için kullanılmıştır.

### **Nutrient agar plak hazırlanması (NA)**

15 g agar, 25 g Oxoid nutrient broth ve 1000 mL distile su karıştırılıp, 110°C’de 20 dakika steril edilip ve petri kutularına 25 mL olacak şekilde aktarılmıştır. Bir gecelik kültürün mL’indeki bakteri sayısını bulma ve genotip kontrolü için kullanılmıştır.

### **Nutrient broth sıvı kültür besiyeri hazırlanması (NB)**

0,5 g Oxoid nutrient broth ve 20 mL distile su karıştırılmıştır. Otoklavda 110°C’de 20 dakika steril edilip oda sıcaklığında karanlıkta saklanmıştır. Bakterilerin bir gecelik kültürde büyütülmeleri için kullanılmıştır.

### **Tuz çözeltisinin hazırlanması (1,65 M KCl + 0,4 M MgCl<sub>2</sub>)**

61,5 g KCl, 40,7 g MgCl<sub>2</sub> 500 mL distile suya eklenmiş ve 110°C’de 20 dakika otoklavlanarak steril edildikten sonra +4°C’de saklanmıştır. Deneylerde S9 karışımı için kullanılmıştır.

### **0,2 M’lık Sodyum-Fosfat tamponunun hazırlanması (pH=7,4)**

Stok A ve B olarak ayrı ayrı hazırlanmıştır.

**Stok A:** 6,8 g, 0,2 M Sodyum dihidrojen fosfat (KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>.H<sub>2</sub>O) 250 ml distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

**Stok B:** 13,41 g 0,2 M Disodyum hidrojen fosfat (Na<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>.7H<sub>2</sub>O) tartılarak 250 mL distile suda çözülerek hazırlanmıştır. Daha sonra; Stok A’dan 57 ml, Stok B’den 243 mL alınarak distile su ile son hacim 600 ml’ye tamamlanmıştır. Karışımın pH’sı 7,4’e ayarlandıktan sonra 110 °C’de 20 dakika otoklavda steril edilmiştir. Oda sıcaklığında ve karanlıkta saklanmıştır. Deneylerde S9 karışımı için kullanılmıştır.

### **0,1 M’lık β-NADP çözeltisinin hazırlanması**

0,76 g β-NADP (F.W. 765,4) 10 mL steril distile su içerisinde çözülmüş sterilizasyon 0,22 µm delik çaplı filtre ile yapılmıştır. Çözelti, -20°C’de saklanmıştır. Mutajenite deneyinde S9 karışımı için kullanılmıştır.

### **1 M’lık Glikoz-6-Fosfat çözeltisinin hazırlanması**

0,705 g Glikoz-6-fosfat 2,5 mL steril distile su sterilizasyon 0,22 µm delik çaplı filtrelerle yapılmıştır. Çözelti -20°C’de saklanmıştır. S9 karışımı için kullanılmıştır.

### **S9 karışımının hazırlanması (rat karaciğeri mikrozomal enzimleri + kofaktörler)**

2 mL Rat karaciğeri S9 fraksiyonu, 1 mL MgCl<sub>2</sub>-KCl tuz çözeltisi, 250 µl 1 M Glikoz-6-fosfat, 2 mL 0,1 M β-NADP, 25 mL 0,2 M fosfat tamponu (pH=7,4) ve 19,75 mL steril distile suyla karıştırılarak hazırlanmıştır. Karışım, her zaman aşağıdan yukarıya doğru taze olarak hazırlandı. İçerikler sürekli buz içinde tutulmuştur.

### **Ampisilin solüsyonunun hazırlanması (% 0,8/0,02 NaOH)**

0,8 g ampisilin trihidrat ampisilin trihidrat, 0,02 N NaOH içinde çözülüp sterilizasyon için 0,22 µm çaplı filtreden geçirilerek +4°C'de saklanmıştır. Suşların ampisiline dirençlilik özelliğinin kontrolü ve R-faktör plazmidi taşıyan suşların master plaklarında kullanılmıştır.

### **0,02 N'lik NaOH çözeltisinin hazırlanması**

0,2 g NaOH çözeltisi 250 mL'ye distile suda çözülerek hazırlanmıştır.

## **3.2. Metod**

### **3.2.1. *Salmonella typhimurium* suş kültürleri ve master plaklarının hazırlanması**

Bir öze yardımı ile, -80°C'de saklanan bakteri suşlarından kazıntı alınarak TA98 ve TA100 için HBA plaklarına çizgi ekim yapılmış ve suşlar, 37 °C'de 48 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonunda iyi izole olmuş bir koloni seçilerek, 2 ml NB besiyeri içinde süspanse edilmiş ve 37 °C'de çalkalamalı inkübatörde 140 rpm'de 16 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben, bir platin öze dolusu sıvı kültür alınıp HBA üzerine çizgi ekim yapılarak plaklar 37 °C'de 48 saat inkübe edilmiştir. Bu plaklar +4°C'de 2 ay süre ile saklanarak pasajlar yapılmıştır. Plaklar alüminyum folyo ile sarılarak buzdolabında muhafaza edilmiştir.

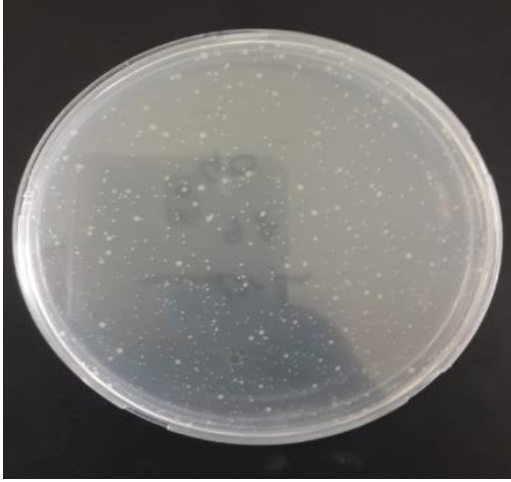
### **3.2.2. Bakteri genotiplerinin kontrol edilmesi**

Test suşlarının orijinal mutasyonlara sahip olup olmadığını saptamak testin güvenilirliği açısından önem taşımaktadır. Bu nedenle yapılan bazı testlerle bakterilerin genetik özellikleri kontrol edilmiştir.

#### **3.2.2.1. Histidin gereksinimi kontrolü**

Her test suşu, histidin operonunun değişik bölgelerinde çerçeve kayması ya da baz değişimleri gibi çeşitli mutasyonlar içermektedir. Bakterilerin MGA besiyerine ekilmeleri sonucu *his*- bakteriler, *his*+ 'lerden ayırt edilebilmektedir.

Bu amaçla HBA'dan gecelik kültür hazırlanmış, NB'de bir gece üretilen bakterilerden, sabah MGA ve HB plaklarına çizgi ekim yapılarak 37°C'de 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyon sonrası HB plaklarında üreme gözlenirken, MGA plaklarında üreme gözlenmemiş ve böylece bakterilerin his- mutasyonunu taşıdığı saptanmıştır

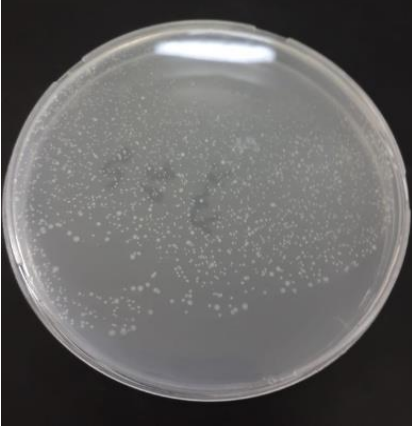


Şekil 3.1. Histidin kontrolü.

### 3.2.2.2. *uvrB* mutasyonunun kontrolü

*uvrB* mutasyonu, DNA'nın kesme-onarım-tamir mekanizmasından sorumlu *uvr B* genindeki delesyon sonucu oluşur. *uvrB* geni kesme-onarmada görevli bir enzimi kodladığından, bu enzimin yokluğunda mutant suşu, değişik mutajenlere karşı daha hassas hale gelmektedir (Yüksel, 2005).

*uvrB* mutasyonunun varlığı, UV ışınlarına duyarlılık testi ile analiz edilmiştir. Bu amaçla, NB'de bir gece büyütülen bakteri kültüründen bir öze dolusu alınarak NA plağının tamamına paralel ekim yapılmıştır. Plağın yarısı (çizgileri kesecek şekilde) plastik bir plaka ile kapatılıp, 15 watt'lık bir UV lambası ile 33 cm yüksekten 8 sn ışınlanmıştır. Işınlanmadan sonra, petri kapakları kapatılıp 37 °C'de 24 saat inkübe edilmiştir. Bu sürenin sonunda UV'ye maruz kalan bölgede üreme olmazken, plastik plaka ile kapatılan alanda normal bir üreme gözlenmiştir. Bu sonuç; bakterilerin *uvrB* mutasyonu taşıdığını göstermiştir.

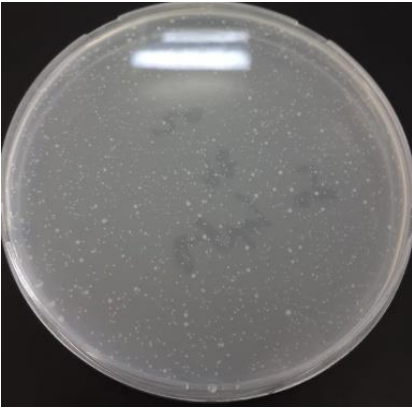


Şekil 3.2. *uvrB* mutasyon kontrolü.

### 3.2.2.3. Rfa mutasyonunun kontrolü

Rfa mutasyonu, hücre yüzeyini saran lipopolisakkarit tabakasını zayıflatarak normalde hücre içine giremeyen büyük moleküllerin hücre içine girmelerini sağlamaktadır (Yüksel, 2005).

Rfa mutasyon kontrolü için; NB’de bir gece büyütülen bakteri kültüründen, sabah 0,1 ml sıvı kültür alınmış ve 45°C su banyosunda tutulan 2 ml top agar üzerine ilave edilmiştir. Daha sonra, NA plaklarına dökülmüş, plaklara 8 işaret yapılarak dağıtılmıştır. 10 dakika kadar donması beklendikten sonra, plağın ortasına çapı 0,5 cm olan steril filtre kağıdı diski yerleştirilip diskin ortasına % 0,1’lik kristal viyolede 10 µl damlatılmıştır. Kağıdın boyayı emmesi beklenmiş, sonra plaklar 37 °C’de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyon sonunda disk çevresinde 14 mm’lik üreme olmayan zon gözlenmiştir. Bu zonda, boya maddesi bakterilerin içine kolayca girerek bakterilerin üremesini engellediği için bakterilerin Rfa mutasyonunu taşıdıkları anlaşılmıştır.



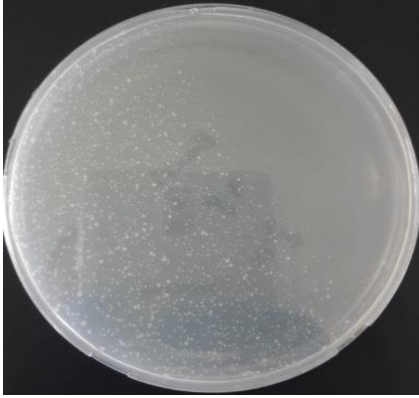
Şekil 3.3. Rfa mutasyon kontrolü.



#### 3.2.2.4. R-faktör varlığının kontrolü

pKM101 ampisilin dirençlilik geni taşıyan, hücrede çok sayıda bulunan bir plazmidir. Bu plazmidin varlığı, hücrelerde normalde bulunan ve hata frekansı yüksek olan DNA onarım mekanizmasını aktif hale getirir. Sonuç olarak, kimyasalların etkisiyle veya spontan olarak mutasyonların artmasına neden olabilir (Yüksel, 2005).

Test bakterilerinin içerdiği, R-faktör taşıyan pKM101 plazmidlerinin kaybolup kaybolmadıkları, ampisiline dirençliliğinin ölçülmesi ile test edilmiştir. Bu amaçla, NB içinde büyütülen bakteri kültüründen (% 0,8 Ampisilin / 0,02 M NaOH) ampisilin içeren HBA plaklarına çizgi ekim yapılmıştır. 37 °C’de 24 saat inkübasyonu takiben, plazmid içeren mutant bakterilerin ampisilinli ortamda büyüdüğü gözlenmiş olup bakterilerin R-faktör plazmidini içerdiği saptanmıştır.



Şekil 3.4. R-faktör varlığının kontrolü

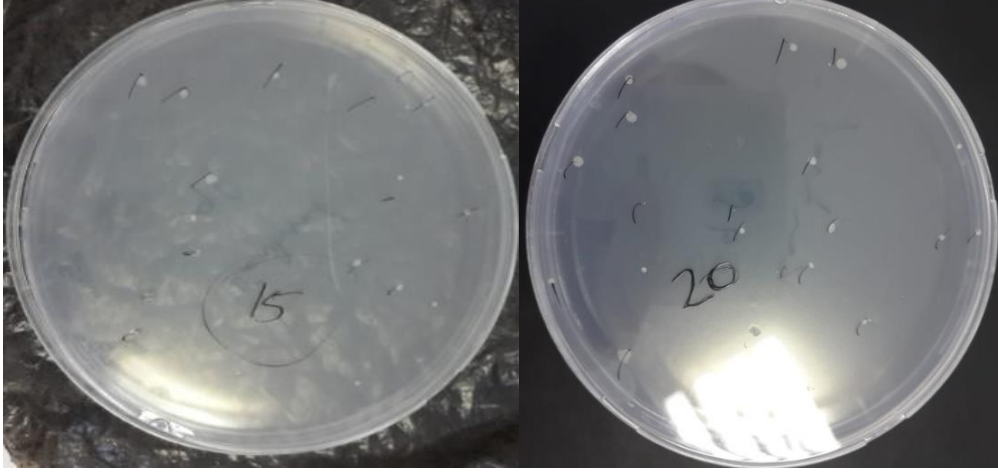
#### 3.2.2.5. Spontan olarak his- durumundan his+ durumuna dönüş sıklığının kontrolü

Mutant bakteri suşlarının kendiliğinden (spontan) his- durumundan his+ durumuna dönüşmesi, belirli sınırlar içinde mümkün olabilmektedir.

Hazırlanmış olan gecelik kültürlerden 16 saatin sonunda, 500 µl alınarak 20 ml taze kültür hazırlanmış ve 110 rpm’de çalkalamalı inkübatörde inkübe edilmiştir. Bu kültürlerden 5., 6. ve 7. saatlerde çalışılmıştır. Otoklavdan çıkarılan top agarın içerisine 90 ml’ye 10 ml histidin/biyotin (HB) solüsyonu ilave edilmiş ve tüplere 2’şer ml olacak şekilde dağıtılmıştır.

Bu test için, 37°C’de, NB’da büyütülen bir gecelik bakteri kültüründen 0,1 ml alınmış ve 45°C’deki su banyosunda tutulan top agar üzerine ilave edilmiştir. Daha sonra test tüpü yavaşça çalkalanarak MGA plaklarına yayılmış ve 37°C’de 48-72 saat inkübe edilerek plaklarda üreyen koloniler sayılmıştır. Spontan olarak geriye dönüş kontrolünde

saatli çalışılmış olup taze kültür hazırlandıktan 5, 6 ve 7 saat sonra aynı çalışma tekrar edilmiştir. Şekil 3.19'te görüldüğü gibi sayılan koloniler TA98 için ortalama 32, TA100 için ortalama 121 koloni olarak bulunmuştur.



**Şekil 3.5.** Spontan olarak geriye dönüş sıklığının kontrolü.

### **3.2.3. Sefaklor ve iki türevinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) dozlarının hazırlanması**

Sefaklor ve iki türevinden (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) 6'şar doz hazırlanmıştır. Sefaklor'dan 0,1g tartılarak 1 ml DMSO içinde çözülmüş, sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III'den de 0,01g tartılarak 10 ml DMSO içinde çözülmüştür. Böylece 10,000 µg/plak'lık konsantrasyon hazırlanmıştır. Vorteksenerek bu tüpten 100 µl alınmış ve 900 µl DMSO içerisinde çözülerek, 10-1 konsantrasyonu hazırlanmıştır. Uygulanacak dozları belirlemek için test maddelerinin 0,1, 1, 10, 100, 1000 ve 10,000 µg/plak konsantrasyonları hazırlanmıştır.

### **3.2.4. Sefaklor ve türevlerinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) Sitotoksik Dozlarının Saptanması**

Sitotoksik doz belirlenirken, *S. typhimurium* TA100 suşu kullanılmıştır. Her dozdan 6'şar plak kullanılarak deney yapılmıştır.

Test bileşiklerinin, kullanılan bakteriler için öldürücü dozunun saptanması amacıyla; 2 ml top agara 0,1 ml bakteri kültürü ve 0,1 ml değişik konsantrasyonlarda test bileşiği ilave edilmiştir. NF ve BFA için; test bileşiklerinin 0,1, 1, 10, 100, 1000 ve 10,000 µg/plak konsantrasyonları test tüplerine eklenmiştir. Tüpteki karışım üç ayrı NA plağına dökülerek, plaklar 37°C'de 24 saat inkübe edilmiştir. İnkübasyonu takiben plaklardaki ortalama koloni sayısı saptanmış ve kontrol plakları ile karşılaştırılarak toksik ve toksik

olmayan dozlar belirlenmiştir. Eğer plaklarda kontrol grubundan az koloni varsa toksik, kontrol grubundan çok koloni varsa ya da eşitse toksik değil şeklinde değerlendirme yapılmıştır. Buna göre; deneylerde, toksik olmayan 0,1 (10<sup>-5</sup>), 1 (10<sup>-4</sup>), 10 (10<sup>-3</sup>) ve 100 (10<sup>-2</sup>) µg/plak dozları kullanılmıştır.

### **3.2.5. Ames Testi**

Bu çalışmada; sefaklor ve iki türevinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III), *S. typhimurium*'un TA98 ve TA100 mutant suşları kullanılarak S9'lu ve S9'suz olarak yapılan deneylerle mutajenik aktivitesi araştırılmıştır. Deneyler her bir dozdan üçer plak kullanılarak yapılmıştır (Maron ve Ames, 1983).

#### **3.2.5.1. Metabolik aktivasyonsuz (-S9) deney**

1. İçlerine 0,25 ml histidin biyotin çözeltisi ilave edilmiş 2 ml'lik top agar içeren deney tüpleri, 50 °C'lik su banyosunda ısıtılmıştır.
2. Tüplere 0,1 ml test maddesi ve 0,1 ml taze bakteri kültürü (5 saatlik) eklenmiştir.
3. Tüpler çalkalanarak 37 °C'ye ısıtılmış, MGA plaklarına dökülmüş ve plaklara hızla 8 işareti yaptırılarak top agarın plak üzerine homojen dağılması sağlanmıştır.
4. 15 dakika donması beklendikten sonra, plaklar ters çevrilerek 37 °C'lik etüvde 48-72 saat inkübasyona bırakılmıştır.
5. İnkübasyonu takiben petrilerdeki koloniler sayılmıştır.

Çalışmada, iki bağımsız deney yapılmıştır. Sonuçların değerlendirilebilmesi için deneylere paralel olarak spontan kontrol, solvent kontrol (DMSO) ve pozitif (diagnostik) kontrol olarak TA 100 suşu için 0,1 µg/µl sodyum azid (NaN<sub>3</sub>), TA 98 suşu için ise 0,02 µg/µl 4-nitrofenilendiamine (NPD) kullanılmıştır.

#### **3.2.5.2. Metabolik aktivasyonlu (S9+) deney**

1. 0,25 ml histidin biyotin solüsyonu eklenmiş 50 °C'deki 2 ml'lik top agara, test suşu kültüründen 0,1 ml, test edilecek kimyasaldan 0,1 ml ve S9 karışımından 0,5 ml eklenip düşük hızda 3 saniye vorteksenerek oda sıcaklığındaki MGA plaklarına yayılmıştır. Top agarın plağın bütün yüzeyine donmadan yayılmasını sağlamak için karıştırma, dökme ve yayma işleminin tümü, 20 saniyeden az bir sürede yapılmıştır.
2. Plaklar 37 °C'de 48-72 saat inkübe edilmiştir.
3. Bu süre sonunda plaklardaki his<sup>+</sup> revertant bakteri kolonileri sayılmıştır.

Deneşlerde, her suşun geri dönme özğüllüklerini ve S9 karışımının etkisini doğrulamak için pozitif mutajen olarak, TA 100 suşu için; 0,1 µg/µl sodyum azid, TA 98 suşu için 2 µg/µl 2-aminofluorene (2AF) kullanılmıştır. Bakteriyi, S9 karışımını ve kullanılan çözücüyü içeren fakat test edilen kimyasalı içermeyen negatif kontrol plakları, her suş için kendiliğinden geriye dönen bakteri sayısının saptanmasında kullanılmıştır. Deneş her doz için 3 ayrı plak uygulanarak yapılmıştır.

### **3.2.6. İstatistiksel Analiz**

Sonuçlar, SPSS paket programı (17.0) kullanılarak istatistiksel olarak analiz edilmiştir. Deneş ve kontrol gruplarına ait veriler, Dunnett-t testi ile karşılaştırılmıştır. Önemlilik düzeyi 0,05 olarak alınmıştır.

#### 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

Bu çalışmada; Sefaklor ve iki türevinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) olası mutajenik etkileri, *Salmonella typhimurium* TA98 ve TA100 mutant suşları kullanılarak araştırılmıştır. Her iki suş da karaciğer mikrozom enzimleri içeren metabolik aktivasyon sisteminin varlığında ve yokluğunda 160, 80, 40 ve 20 µg/ml sefaklor, sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III konsantrasyonları ile 48 saat muamele edilmiştir. Sefaklor ve türevlerinin TA98 ve TA100 suşlarında meydana getirdikleri mutajenik etkiler değerlendirilerek Dunnett-t testi ile istatistiksel olarak analiz edilmiş ve elde edilen sonuçlar Çizelge 4.1’de verilmiştir.

Çalışma sonucunda sefaklor’un gerek metabolik aktivasyon sistemi varlığında (S9 miks) gerekse bulunmadığı ortamda (-S9 miks), hem TA98 hem de TA100 suşları için revertant koloni sayısını; kontrol ve çözücü kontrole göre değiştirmemiştir. Bu durumda sefaklor maddesinin *Salmonella typhimurium*’da nokta ve çerçeve kayması mutasyonunu indüklediğini göstermektedir (Çizelge 4.1).

Yeni sentez maddesi olan sefaklor-o-vanilin; hem TA98 hem de TA100 suşları için, karaciğer mikrozom fraksiyonu bulunan (S9 miks) ve bulunmayan (-S miks) ortamlarda, gerek kontrol gerekse çözücü kontrol ile mukayese edildiğinde, revertant koloni sayısında herhangi bir artışa neden olmamıştır. Bu durum gerek sefaklor-o-vanilin gerekse metabolitlerinin *Salmonella typhimurium* suşlarında herhangi bir mutajenik etki yapmadığını göstermektedir (Çizelge 4.1).

Sefaklor’un bir diğer yeni sentez maddesi olan sefaklor-o-vanilin/Ru III, TA98 ve TA100 suşları için karaciğer mikrozom fraksiyonu bulunan (S9 miks) ve bulunmayan (-S miks) ortamlarda, gerek kontrol gerekse çözücü kontrol ile mukayese edildiğinde, revertant koloni sayısında herhangi bir artışa neden olmamış ve aynı zamanda çerçeve kayması mutasyonunu indüklememiştir. Bu durum gerek sefaklor-o-vanilin/Ru III gerekse metabolitlerinin *Salmonella typhimurium* suşlarında herhangi bir mutajenik etki yapmadığını göstermektedir (Çizelge 4.1).

**Çizelge 4.1.** Sefaklor ve iki türevi (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) ile S9 miks varlığında ve yokluğunda muamele edilen *Salmonella typhimurium*'un TA98 ve TA100 suşlarından elde edilen veriler.

	Dozlar µg/ml	TA98		TA100	
		S9-	S9+	S9-	S9+
<b>Kontrol</b>		28,33±7,57	24,33±13,65	169,00±75,34	179,00±50,00
<b>DMSO (ÇK)</b>		21,33±5,13	22,66±4,72	148,00±16,64	152,00±38,00
<b>4-NPD (PK)</b>	200	6926,66±625,16			
<b>2AF (PK)</b>	20		1122,00±339,00		
<b>SA (PK)</b>	1			2750,33±593,82	554,00±89,01
<b>Sefaklor</b>	160	28,00±2,64 c**	176,33±129,93 c*	150,00±11,78 c**	188,33±4,04 c**
	80	20,66±3,21 c**	37,66±19,08 c*	162,00±13,52 c**	174,33±56,19 c**
	40	18,33±5,13 c**	25,66±4,16 c*	190,33±21,07 c**	137,00±9,53 c**
	20	16,00±3,00 c**	32,33±2,88 c*	150,00±53,11 c**	152,66±36,08 c**
<b>Sefaklor- o-vanilin</b>	160	16,66±1,15 c**	44,66±16,16 c*	172,00±31,60 c*	135,66±74,44 c*
	80	13,66±1,52 c**	65,33±19,75 c*	203,66±12,34 c*	174,66±40,15 c*
	40	15,33±5,13 c**	69,33±29,36 c*	182,66±23,86 c*	100,00±16,82 c*
	20	17,00±4,58 c**	39,66±6,80 c*	170,00±34,77 c*	137,66±15,14 c*
<b>Sefaklor- o- vanilin/Ru III</b>	160	22,66±7,63 c*	29,00±13,22 c*	143,33±58,15 c*	184,00±26,62 c*
	80	27,66±3,21 c*	44,33±7,57 c*	150,33±21,00 c*	195,00±41,61 c*
	40	41,00±31,43 c*	23,00±3,00 c*	188,66±57,50 c*	154,66±20,50 c*
	20	23,33±4,93 c*	28,66±6,02 c*	178,00±21,00 c*	130,66±14,43 c*

\*: P<0.05, \*\*: P<0.01, 3: \*\*\*<0.001

a: Kontrol ile aradaki fark önemli

b: Çözücü kontrol ile aradaki fark önemli

c: Pozitif kontrol ile aradaki fark önemli

Antibiyotikler tüm dünyada en çok kullanılan ilaçlar arasında ilk sıralarda yer almaktadır. Antibiyotiklerin keşfedilmesi ve tıp alanında kullanılmaya başlanması ile birlikte ölümcül sonuçlar doğurabilecek birçok hastalığın tedavisi mümkün olmuştur. Yirminci yüzyılın ortalarında klinik uygulamaya sokulan ilk antibiyotik olan penisilinden sonra gerek yapı gerekse etkinlik açısından farklı birçok antibiyotik keşfedilmiş veya sentetik olarak elde edilmiştir. Günümüzde antibiyotikler, özellikle insan ve hayvan hastalıklarının tedavisi, gıda sektöründe besinlerin korunması, balık gibi sucul canlıların sağlığı ve gelişimi ve hastanelerde ve ilaç endüstrisinde bilimsel araştırma faaliyetleri için yoğun bir şekilde kullanılmaktadır. Birçok faydasına karşın, diğer tüm ilaçlarda olduğu gibi antibiyotiklerin de istenmeyen çeşitli yan etkileri bulunmaktadır. Bu yan etkiler basit etkilerden hayatı tehdit edebilen ciddi etkilere kadar değişebilmektedir (Yalap ve Balcıoğlu, 2008; Öncü, 2013, Topal ve ark., 2015).

Antibiyotik kalıntıları, evler, hastaneler, sağlık ocakları (tıbbi tedavi, kullanılmayan ilaçların uzaklaştırılması), kümes ve çiftlik hayvanlarını besleme işlemleri (büyüme artırıcıları) ve ilaç fabrikalarının atıksularından kanaklanmaktadır. Antibiyotik kalıntıları alıcı ortamlarda çevresel sorunları beraberinde getirmektedir ve çevreyi olumsuz yönde etkilemektedir. İlaç aktif maddelerinin çevreye girişi çeşitli yollarla olmaktadır. İnsanlar ve hayvanlardan başlayan bu çevrimde ilaç aktif maddeleri atıksulara, toprağa, yeraltısularına ve yeterli arıtım yapılmadığı takdirde içme sularına kadar ulaşır. Alıcı ortamda antibiyotik kalıntılarının düşük konsantrasyonları mikroorganizma direncinin artmasına, yüksek konsantrasyonlarda ise çeşitli canlılarda toksik etkilere neden olabilmektedir (Topal ve ark., 2012).

Antibiyotiklerin Penisilin gurubundan olan sefalosporinler üst solunum yolları enfeksiyonlarının, deri enfeksiyonlarının (yılancık, impetigo, apse ve benzeri), idrar yolu enfeksiyonu, safra enfeksiyonu, menenjit hastalığı, septisemi, endokardit (kalp iç zarı irini), otit, sinüzit ve gonore tedavisinde kullanılır ve ayrıca ameliyat sonrası oluşabilecek enfeksiyonları önlemeye de faydalıdır. Sefaklor ikinci kuşak sefalosporin bir antibiyotik olmasına karşın birinci kuşak sefalosporinlere benzeyen bir spektruma sahiptir. Sefalosporinlerin bakterisit etkisi hücre duvarı sentezinin inhibisyonundan kaynaklanmaktadır (Öncü, 2013).

Sefaklorun yan etkileri, ishal, bulantı, kusma, karın ağrısı anoreksi, kabızlık, dispepsi, şişkinlik, gastrit, psödomembranöz kolit, anafilaktik reaksiyonlar (nadir), karaciğer enzimlerinde yükseliş, toksik nefropati, eozinofili, lökopeni, trombositoz, geçici

trombositopeni (nadir), geçici lenfositoz, hemolitik anemi, geri dönüşümlü nötropeni, genital prurit ve vajinit, rinit, farenjit ve astım, akciğer bozukluğu, solunum bozukluğu, tersinir hiperaktivite, ajitasyon, sinirlilik, uykusuzluk, konfüzyon, hipertoni, baş dönmesi, halüsinasyonlar ve uyku halidir. Ancak yapılan çeşitli çalışmalar, genotoksik aktivitenin antibiyotiklerin olası yan etkilerinden birisi olabileceğini ortaya koymuştur (Synder ve Champness, 2007; Brambilla ve Martelli, 2009; Brambilla ve ark., 2012).

Sefaklorun olası genotoksik etkisi ile ilgili olarak yapılan çalışmalardan birisinde, Donya (2002), sefalosporin grubu antibiyotiklerinden olan sefadroksil ve sefaklorun fare spermatozoidlerinde kromozomal anormalliklerini indüklenme potansiyellerini araştırmıştır. Her iki sefalosporinin de, univalentler (X-Y) ve otozomal univalentler dahil olmak üzere yapısal kromozomal anormallikleri indüklediğini gözlemiştir. Araştırmacı, sefadroksil ve sefaklorun, yüksek ve tekrarlanan dozlar şeklinde kullanıldığında, fare spermatozoidleri üzerinde önemli sitogenetik etkileri olduğunu ve sperm baş yapısını da belirgin şekilde olumsuz etkilediğini bildirmiştir. Hanasono ve arkadaşları (1979) ise; ağız yoluyla bir kez veya tekrarlayan dozlar halinde verilen sefaklorun laboratuvar hayvanlarında (fare, sıçan, köpek ve maymun) toksik etkilerini incelemiştir. Araştırmacılar, bu çalışma sonuçlarına göre, sefaklorun test edilen türlerde düşük toksik potansiyele sahip olduğunu bildirmişlerdir.

Sefaklor, sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/RuIII maddelerinin olası mutajenik etkilerinin araştırıldığı bu çalışmada; gerek sefaklor ve yeni sentezlenen (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/RuIII) maddelerinin gerekse metabolitlerinin *Salmonella typhimurium*'un TA98 ve TA100 suşları için mutajenik olmadığı saptanmıştır. Bu çalışmadan elde edilen sonuçlar, Donya (2002) tarafından yapılan çalışma sonuçları ile uyumlu değildir. Sefaklorun ve sefaklor kombinasyonu olan maddelerin genotoksik etkisi hakkında daha kesin bir karara varabilmek için ilave testlerin yapılmasının uygun olacağı düşüncesindeyiz.



## 5. SONUÇ ve ÖNERİLER

Bu çalışmada; Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi, Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü'nde Gölcü ve ark. (2016) tarafından Sefaklor antibiyotiğinden sentezlenmiş olan sefaklor-o-vanillin ve sefaklor-o-vanillin/Ru III bileşenlerinin ve ayrıca sefaklorun Ames/Salmonella test sistemi ile mutajenik etkisi araştırılmıştır. Sefaklor ve iki türevinin, *Salmonella typhimurium*'un TA98 ve TA100 suşları üzerindeki mutajenik etkilerinin değerlendirilmesiyle elde edilen sonuçlar, Dunnett-t testi ile istatistiksel olarak analiz edilmiştir.

Çalışmanın sonucunda, Sefaklor ve iki türevinin (sefaklor-o-vanilin ve sefaklor-o-vanilin/Ru III) ortamdaki karaciğer mikrozomal fraksiyonunun varlığında ve yokluğunda TA98 ve TA100 suşları için mutajenik etki göstermediği belirlenmiştir. Bununla birlikte farklı test sistemleri ile ilave analizlerin yapılması net bir sonuca varabilmek için önem arz etmektedir.

Birçok hastalığın tedavisinde önemli bir yere sahip olan antibiyotikler, mikropları öldürürken vücutta çeşitli dokulara da etki etmekte ve yan etkilere neden olmaktadır. İdeal antibiyotik kullanımı için; doğru tanı sonrası doğru verilen antibiyotik; en uygun yoldan, etkin dozda, optimum aralıklarla alınmalıdır. Fazla ve lüzumsuz yere alınmaları birçok mikroorganizmada antibiyotik direncinin gelişmesine yol açmaktadır. Uygun olmayan saklama koşullarında ilaçların kimyasal yapılarında bozulma olabileceği, etkisini kaybedebileceği, istenmeyen etkilerin ortaya çıkabileceği veya zehirlenmelerin oluşabileceği unutulmamalı ve ilaçlar kullanma talimatında belirtilen şekilde saklanmalıdır. İlaç; hekimin önerisi dışında; çiğnenerek, kırılarak, bölünerek veya suda çözülerek kullanılmalıdır. Doktor tarafından önerilen süre boyunca alınmalı, doz atlamamalı, ilaç kullanımı yarıda kesilmemeli, doz değişikliğine gidilmemelidir. Son kullanma tarihi geçmiş olan ilaçlar kesinlikle kullanılmalıdır.

## KAYNAKLAR

- Akkan, A.G., 1997. Antibiyotiklerin Sınıflandırılmaları, İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Sürekli Tıp Eğitimi Etkinlikleri, Pratikte Antibiyotik Kullanımı Sempozyumu, İstanbul, s. 53-62, 2-3.
- Aktuğlu, Y., 1997. Giriş ve Genel Bilgiler Ed: Aktuğlu Y. Pratikte Antibiyotik Kullanımı. s;11–53. Sempozyum Dizisi Yayın No: 1.
- Antibiyotik Kullanımı. Enfeksiyon Kontrol Komitesi Yayını: 3. Ankara Gata Basımevi (2000).
- Becerem ve ark., 2017. Antioksidan Maddelerin Mutajenite Üzerine Etkilerinin Ames Testi ile İncelenmesi Marmara Pharmaceutical Journal 21/3: 455-460.
- Brambilla, G., Martelli A., 2009. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing of 472 marketed pharmaceuticals. Mutation Research, 681: 209-229.
- Brambilla, G., Mattioli, F., Robbiano, L., Martelli, A., 2012. Studies on genotoxicity and carcinogenicity of antibacterial, antiviral, antimalarial and antifungal drugs. Mutagenesis, 27: 387-413.
- Chambers, FH., 2001. Antimicrobial Agents. (Editörler: Goodman LS, Gilman A. Goodman & Gilman's) Pharmacological Basis of Therapeutics 10th edition, pp; 1143-1169, The McGraw-Hill Company, USA,
- Cummings, M. R., Klug, W. S., 2003. "Genetik", (Ed: Öner, C.), Palme Yayıncılık, 467-471.
- Çetinkaya, A., Mutlu, M. B., Karaman, S., Aydın, H., Kızıldeli, C. M., Karaman, A., 2018. Trizomi 8 mosaisizmi: Bir Olgu Sunumu. *Zeynep Kamil Tıp Bülteni*, 49 (1): 92-93.
- Çevik, MA., 2007. Uygun Antibiyotik Seçiminde Farmakokinetik ve Farmakodinamik Parametrelerin Önemi. *ANKEM Dergisi*, 21: 266-273.
- Donya, SM., 2002. Cytogenetic Studies of Some Cephalosporines Antibiotics on Mouse Germinal Cells. *Cytologia*, 67: 33-39.
- Dumankar, A., 1997. Antibiyotiklerin Genel Yan Etkileri. s; 73-79, Sempozyum Dizisi Yayın No: 5.
- Eroğlu, L., 2007. Antibiyotik Tedavisinin İstenmeyen Etkileri Nasıl İzlenmeli? *ANKEM Dergisi*, 21:18-22
- Fedesa, 2001. Antibiotic Use in Farm Animals does not Threaten Human Health. Press release. Visby, Sweden.

- Finberg, R.W., Moellering, R.C., Tally, F.P., Craig, W.A., Pankey, G.A., Dellinger, E.P., West, M.A., Joshi, M., Linden, P.K., Rolston, K.V., Rotschafer, J.C., Rybak, M.J. 2004. The Importance of Bactericidal Drugs: Future Directions in Infectious Disease. *Clinical Infectious Diseases*, 39 (9):1314-1320.
- Fleming, A., 1929. On The Antibacterial Action of Cultures of a Penicilium, with Special Reference to Their Use in the Isolation of *B.influenzae*. *British Journal of Experimental Pathology*, 10: 226-236.
- G, Brambilla., A. Martelli., 2009. Update on genotoxicity and carcinogenicity testing 472 marketed pharmaceuticals. 681s 209–229210
- Gemmell, C.G., 1993. Antibiotics and Neutrophil Function-Potential Immunmodulating Activities. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 31 (suppl B):23-33.
- Goossens, H., Ferech, M., Stichele, R.V., Elseviers, M., 2005. Outpatient antibiotic use in Europe and association with resistance. *Lancet* 365:579-587.
- Gölcü A., Tümer M., Demirelli H., Wheatley R.A., 2005. Cd(II) and Cu(II) complexes of polydentate Schiff base ligands: synthesis, characterization, properties and biological activity. *Inorg Chim Acta*, 358:1785–97.
- Hanasono, GK., Owen, NV., Gibson, WR., Hoffman, DG., Morton, DM., 1979. An evaluation of the toxicity of cefaclor in laboratory animals. *Postgraduate Medical Journal*, 55: 17-21.
- Hart, C.A., Kariuki, S., 1998. Antimicrobial Resistance in Developing Countries, *B.M.J.*, 317: 647-650.
- İncecik, F., Hergüner, Ö. M., Mert, G., Altunbaşak, Ş., 2014. Epilepsi ve Fasiyal Dismorfizm ile Gelen Trizomi 9 Mozaisizm: Bir Olgu Sunumu. *Cukurova Medical Journal*, Cilt: 39, Sayı: 2.
- K, Shahbaz., 2017. Cephalosporins: pharmacology and chemistry, 234-238s.
- Karahocagil, M.K., Er,A., Kırıkçı, A.D., Sünnetçioğlu, M., Yapıcı, K., Bilici, A., Baran, A.İ., Binici, İ., Akdeniz, H., 2007. Yüzüncü Yıl Üniversitesi Tıp Fakültesi Araştırma Hastanesinde Yatan Hastalarda Antibiyotik Kullanımının İncelenmesi. *Van Tıp Dergisi*, 14 (2):46-51.
- Maron, D., B. Ames, 1983. Revised Methods for the Salmonella Mutagenicity Test. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*. 113, 173-215.

- Mc Cann, J. and Ames, B.N., 1976. Detection of carcinogens as mutagens in the Salmonella/microsome test: Assay of 300 chemicals: Discussion. *The Proceedings of the National Academy of Sciences, USA.*, 73: 950-954.
- Öksüzoglu, E., Diril, N., Durusoy, M., 2000. Mutagenic effects of plant growth hormones with the Salmonella/microsome test and the SOS chromotest. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*, 65, 691-698.
- Öncü, S., 2013. Antibiyotiklerin İstenmeyen Etkilerinin İzlemi-Yönetimi. *ANKEM Dergisi*, 27(Ek 2):82-84.
- Quinn, R., 2013. Rethinking Antibiotic Research and Development: World War II and the Penicillin Collaborative. *American Journal of Public Health*, 103(3): 426–434.
- R.D, Snyder., J.W, Green., 2001. A review of the genotoxicity of marketed pharmaceuticals. 488 151–169s.
- Ramel, C. and Rannung, 1980. U. Short- term mutagenicity test. *J Toxicol Environ Health*, 6: 1065-1076.
- Saltoğlu, N., 2005. Antibiyotiklere Direnç Problemi ve Etkileri, *Klinik Dergisi*, 18, 1, 178-181.
- Sefaklor Akova, M., Birincioğlu M., Bozkurt, A., Dülger, G., Gürdal, H., Kalyoncu, N., OktayŞ., Onaran, O., Örer, H. S., Tunçok, Y., Türker, A., Yarış, E. ve Yaşar, Ü., (2005) *Tıbbi Farmakoloji*, Oğuz Kayaalp, Hacettepe-Taş Kitabevi, Ankara, 188-193.
- Sefolosporin Simos C, Gonzalez BE. Infections of the Oral Cavity. In: Cherry JD, Harrison GJ, Kaplan SL, Steinbach WJ, Hotez PJ, editors. *Feigin and Cherry's Textbook of Pediatric Infectious Disease*. 8th ed. Philadelphia: Elsevier; 2018. p. 96-108.
- Shahbaz, K., 2017. Pharmaceutical and Biological Evaluations Cephalosporins: pharmacology and chemistry. 234-238. 235.
- Snyder, L. ve Champness, W., 2007. Third Edition *Moleküler Genetics of Bacteria*, Department of Microbiology and Molecular Genetics, Michigan State University East Lansing, Michigan Washington, DC, 492.
- Terzibaşoğlu, N., Özkınay, F., Sapmaz, G., Gündüz, C., Öztekin, K., Özkınay, C., 1997. Erken Fetal Kayıp Materyalinde İki Trizomi 16 Olgusu. *Perinatoloji Dergisi*, Cilt: 5, Sayı: 3-4.
- Topal, M., Uslu Şenel, G., Arslan Topal, EI., Öbek E., 2012. Antibiyotiklerin Kaynakları ve Çevresel Etkileri. *Bülent Ecevit Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 123):137-152.

- Topal, M., Uslu Şenel, G., Arslan Topal, EI., Öbek E., 2015. Antibiyotikler ve kullanım alanları. Erciyes Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi, 31(3):121-127.
- Ünal, S., Leblebicioğlu, H., 2001. Enfeksiyon Hastalıklarında Klinik Problemler El Kitabı. Güneş Tıp Kitabevi, s;170-200.
- Yalap, K.S., Balcıoğlu, I.A., 2008. Oksitetrasiklinin İleri Oksidasyon İle Artımına Su Bileşenlerinin Etkisi, İTÜ *Dergisi Su Kirlenme Kontrolü*, 18, 51-60.
- Yıldız, İ., Varkal, MA., Ünüvar, E., 2014. Günümüzde Sefalosporinler ve Antibiyotik Direnci. *Çocuk Dergisi*, 14: 22-27.
- Yüksel, S., 2005. “Bazı Sübsititüe Benzinidenilin Türevlerinin Mutajenik Aktivitelerinin Ames Salmonella Mikrozom Testi ile Araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, Anadolu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalı, s.20.

## 7. ÖZGEÇMİŞ

### Kişisel Bilgiler

Adı, Soyadı: Rukiye SİMEN

Uyruğu: T.C.

Doğum tarihi ve yeri: 27/10/1992 GAZİANTEP

Medeni hali: Evli

Telefon: (0) 5417959486

e-mail: Rukiye.1992271@gmail.com

### Eğitim

<u>Derece</u>	<u>Eğitim Birimi</u>	<u>Mezuniyet Yılı</u>
Lise	Hacı Muzaffer Bakbak Kız Meslek ve Teknik Lisesi	2011
Lisans	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi	2015
Yüksek Lisans	Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi	2019

### Yabancı Dil

İngilizce

### Yayınlar

1. Kayraldız, A., Dönbak, L., Karadaş, Ş., Kutlu, H.S., Gündüz, Rukiye. Sefaklor ve iki türevindeki mutajenik potasyellerin Salmonella/mikrozom test sistemi ile belirlenmesi. 5. Uluslararası Moleküler Biyoloji Kongresi Boğaziçi Üniversitesi, İstanbul. 8-10 Eylül, 2017.

### Hobiler

Doğa bilimleri, Yüzme