

**ANTİDEPRESAN OLARAK KULLANILAN PROZAC VE PAXİL
İLAÇLARININ İNSAN LENFOSİT KÜLTÜRÜNDEKİ GENOTOKSİK
ETKİLERİ**

Gökçe Hilal TARHAN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ**

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

EYLÜL 2006

ANKARA

Gökçe Hilal TARHAN tarafından hazırlanan ANTİDEPRESAN OLARAK KULLANILAN PROZAC VE PAXİL İLAÇLARININ İNSAN LENFOSİT KÜLTÜRÜNDEKİ GENOTOKSİK ETKİLERİ adlı bu tezin Yüksek Lisans tezi olarak uygun olduğunu onaylarım.

.....

Tez Yöneticisi

Bu çalışma, jürimiz tarafından oy birliği ile Biyoloji Anabilim Dalında Yüksek lisans/Doktora tezi olarak kabul edilmiştir.

Başkan: : _____

Üye : _____

Üye : _____

Üye : _____

Üye : _____

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

Bu tez, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tez yazım kurallarına uygundur.

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.

**ANTİDEPRESAN OLARAK KULLANILAN PROZAC VE PAXİL
İLAÇLARININ İNSAN LENFOSİT KÜLTÜRÜNDEKİ GENOTOKSİK
ETKİLERİ
(Yüksek Lisans Tezi)**

Gökçe Hilal TARHAN

**GAZİ ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
Eylül 2006**

ÖZET

Paxil ve Prozac, çeşitli psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılan antidepresan ilaçlardır. Bu çalışmada, Prozac ve etken maddesi fluoksetin hidroklorürün genetik etkileri, 1) kromozom anormallikleri (KA), 2) kardeş kromatid değişimi (KKD) ve 3) Mikronukleus (MN) testi ile incelenmiştir. Her iki maddenin de 1.25, 2.50, 5.00 ve 10.00 µg/ml'lik konsantrasyonları, 24 ve 48 saat süreyle, insan periferik lenfositlerine, in vitro koşullarda uygulanmıştır. Hem prozac ve hem de fluoksetin, her iki uygulama süresinde, kromozom anormalliklerinde doza bağlı bir artış meydana getirmiştir (Prozac'ta, 24 saatte $r=0.86$, 48 saatte $r=0.85$; fluoksetinde 24 saatte $r=0.90$, 48 saatte $r=0.90$). Her iki kimyasalın da en sık meydana getirdiği anormallikler, kromatid kırığı, disentrik kromozom ve kardeş kromatidlerde birleşmedir. Prozac ve fluoksetin, KKD oluşumunu önemli düzeyde uyarmışlardır. Her ikisi için de KKD/hücre sayısı, konsantrasyon artışına paralel olarak artış göstermiştir (Prozac'ta 24 saatte $r=0.92$, 48 saatte $r=0.97$; fluoksetin hidroklorürde 24 saatte $r=0.92$, 48 saatte $r=0.98$). Benzer şekilde her iki madde de mikronukleus frekansında doza bağlı artışa nedene olmuştur (Prozac'ta $r=0.98$, fluoksetin hidroklorürde $r=0.99$). Prozac ve etken maddesi fluoksetin hidroklorür mitotik indeksi doza bağlı olarak düşürmüştür (Prozac'ta 24 saat $r=-0.95$, 48 saatte $r=-0.80$; fluoksetin hidroklorür'de 24 saat $r=-0.95$, 48 saatte $r=-0.76$). Prozac ve

fluoksetin hidroklorür replikasyon indeksini etkilememiştir. Bu çalışmanın ikinci kısmında, Prozac ve Paxil kullanan hastalardan elde edilen periferik kanlarda da yukarıdaki üç genotoksik test uygulanmıştır. Prozac ve Paxil kullanan hastalarda kromozom anormalliklerinde bir artış meydana gelmiştir. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. KA/hücre sayısı Prozac için 30-39 yaş grubunda, Paxil için ise 20-29 yaş grubunda anlamlıdır. Prozac ve Paxil'i kullanan tüm hasta yaş gruplarında, KKD/hücre sayısı önemli düzeyde artış göstermiştir. MN oluşumunda Prozac ve Paxil kullanan hastalarda kontrole göre önemli bir farklılık yoktur. Prozac ve Paxil'i tedavi amaçlı kullanan kişilerde yapılan incelemelerde, Prozac'ın sadece 20-29 yaş grubunda, Paxil'in de 30-39 yaş grubunda MI'i anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir. Replikasyon indeksinde önemli bir farklılık yoktur. Bu çalışmada özellikle uygulama ve kontrol grupları arasında KA, KKD, MI ve MN frekanslarında anlamlı düzeyde farklılıklar gözlenmesi, Prozac ve fluoksetin hidroklorürün klastojenik, sitotoksik, mutajenik ve anöjenik olduğunu göstermektedir. Prozac ve Paxil kullanan hastalarda ise sadece KKD sayısında kontrole göre önemli artışlar gözlenmiştir.

Bilim Kodu : 203.1.048
Anahtar Kelimeler : Prozac, fluoksetin hidroklorür, Paxil, insan lenfosit kültürleri, genotoksik etkiler, kromozomal anormallik, kardeş kromatid değişimi, mitotik indeks, mikronukleus.
Sayfa Adedi : 72
Tez Yöneticisi : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

**GENOTOXIC EFFECTS OF PROZAC AND PAXIL USED AS
ANTIDEPRESSAN DRUG ON HUMAN LYMPHOCYTES CULTURE**

(M.Sc. Thesis)

Gökçe Hilal TARHAN

**GAZI UNIVERSITY
INSTITUTE OF SCIENCE AND TECHNOLOGY**

September 2006

ABSTRACT

Paxil and Prozac are two drugs used in the treatment of psychiatric disorders. Prozac and its active ingredient fluoxetine hydrochloride were evaluated using three genetic endpoints; 1) chromosomal aberrations (CAs), 2) sister chromatid exchanges (SCEs) and 3) Micronucleus (MN). Prozac and fluoxetine hydrochloride were used at final concentrations of 1.25, 2.50, 5.00 and 10.00 µg/ml for the treatment of human peripheral lymphocytes in vitro for 24 h and 48 h. All the treatment concentrations in both treatment times increased the frequency of CAs in a dose dependent manner (in Prozac, $r=0.86$ for 24 h and $r=0.85$ for 48 h. in fluoxetine hydrochloride, $r=0.90$ for 24 h and $r=0.90$ for 48 h). Most frequent type of aberrations were chromatid breaks, dicentric chromosomes and sister unions for both drugs. Prozac and fluoxetin hydrochloride significantly increased SCE frequency dose- dependently in both treatment times (in Prozac, $r=0.92$ for 24 h and $r=0.97$ for 48 h; in fluoxetine hydrochloride, $r=0.92$ for 24 h and $r=0.98$ for 48 h). Both chemicals also increased the number of micronuclei per cell in a dose dependent manner ($r=0.98$ for Prozac, $r=0.99$ for fluoxetine hydrochloride). Prozac and fluoxetine hydrochloride significantly decreased mitotic index at both treatment times in a dose dependent manner (in Prozac, $r=-0.95$ for 24 h and $r=-0.80$ for 48 h; in fluoxetine hydrochloride, $r=-0.95$ for 24 h and $r=-0.76$ for 48 h). Prozac and fluoxetine hydrochloride did not affect replicative index. In the second part of

this study, lymphocytes from Prozac and Paxil treated patients were examined using three genetic endpoints mentioned above. No statistically significant increase was found in the number of chromosomal aberrations in Prozac and Paxil treated patients. The number of CA/cell statistically increased in patients in 30-39 age group treated with Prozac and in 20-29 age group treated with Paxil. The number of SCE/cell increased in all age groups in patients treated with Prozac and Paxil. MN assay did not show significant differences between exposed and control groups. Mitotic index was significantly decreased in Prozac treated patients in age group of 20-29 and, in Paxil treated patients in age group of 30-39. Replication index did not show significant differences between exposed and control groups. In this study significant differences in CA, SCE, MI and MN frequency between exposed and control groups indicate that Prozac and fluoxetine hydrochloride are clastogenic, cytotoxic, mutagenic and aneugenic in cultured human lymphocytes. In patient treated with Prozac and Paxil only the number of SCE/cell increased significantly compared with their controls.

Science Code : 203.1.048
Key Words : Prozac, fluoxetine hydrochloride, Paxil, human lymphocyte culture, genotoxic effects, chromosomal aberrations (CAs), sister chromatid exchanges (SCEs), mitotic index (MI), micronuclei (MN).
Page Number : 72
Adviser : Prof. Dr. Fatma ÜNAL

TEŞEKKÜR

2003-2006 yılları arasında Gazi Üniversitesi, Biyoloji Bölümünde Prof. Dr. Fatma ÜNAL'ın danışmanlığı altında yürütülen bu çalışma yüksek lisans tezi olarak hazırlanmıştır. Tez çalışmamın başından sonuna kadar ilgi ve yardımını esirgemeyen, tecrübe ve eşsiz bilgilerinden yararlandığım hocam Prof. Dr. Fatma ÜNAL'a, laboratuvar çalışmalarında desteklerini, dostluklarını ve yardımlarını esirgemeyen Yrd. Doç. Dr. Deniz YÜZBAŞIOĞLU'na, Araş. Gör. Dr. Hüseyin AKSOY'a, Araş. Gör. Serkan YILMAZ'a ve laboratuvarında çalışan tüm arkadaşlarıma, yüksek lisans eğitimim süresince maddi ve manevi desteği ile her zaman yanımda olan Annem Seval TARHAN, Babam Hami TARHAN ve kardeşim Bekir Tolga Tarhan'a teşekkürü bir borç bilirim.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT	vi
TEŞEKKÜR	viii
İÇİNDEKİLER	ix
ÇİZELGELERİN LİSTESİ	xi
ŞEKİLLERİN LİSTESİ	xii
RESİMLERİN LİSTESİ	xiv
SİMGELER VE KISALTMALAR	xv
1. GİRİŞ	1
2. MATERYAL VE METOD	18
2.1. Materyal	18
2.1.1. Prozac'ın in vitro insan lenfosit kültürlerine uygulanması.....	18
2.1.2. Prozac ve Paxil antidepresan ilaçlarını kullanan hastalardan periferik kanların elde edilmesi	19
2.2. Metod.....	19
3. BULGULAR	25
3.1. İnsan lenfosit kültürlerinden elde edilen bulgular.....	25
3.1.1. Prozac'ın invitro insan periferik lenfositleri üzerine uygulanması sonucu oluşan etkisi	25
3.1.2. Prozac'ın etken maddesi Fluoksetin hidroklorür'ün kültüre alınmış insan periferik lenfositleri üzerine etkisi.....	32
3.1.3. Prozac ve Paxil antidepresan ilaçlarını kullanan hastaların lenfosit kültürlerinden elde edilen sonuçlar	41
4. SONUÇ VE ÖNERİLER	49

Sayfa

KAYNAKLAR.....	65
ÖZGEÇMİŞ.....	72

ÇİZELGELERİN LİSTESİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 3.1. Prozac'ın insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksi, mitotik indeks ve kardeş kromatid değişimine etkileri.....	26
Çizelge 3.2. Prozac'ın insan periferel lenfositlerinde oluşturduğu kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre frekansı ve KA/hücre sayısı.....	30
Çizelge 3.3. Prozac'ın insan periferel lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi.....	31
Çizelge 3.4. Fluoksetin hidroklorür'ün insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksi, mitotik indeks ve kardeş kromatid değişimine etkileri	34
Çizelge 3.5. Fluoksetin hidroklorür'ün insan periferel lenfositlerinde oluşturduğu kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre frekansı ve KA/hücre sayısı	38
Çizelge 3.6. Fluoksetin hidroklorür'ün insan periferel lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi.....	40
Çizelge 3.7. Prozac kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde, bu ilacın kardeş kromatid değişimi, replikasyon indeksi ve mitotik indeks değerleri	42
Çizelge 3.8. Paxil kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde, bu ilacın kardeş kromatid değişimi, replikasyon indeksi ve mitotik indeks üzerine etkileri.....	43
Çizelge 3.9. Prozac kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozomal anormallikler	45
Çizelge 3.10. Paxil kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozomal anormallikler	46
Çizelge 3.11. Prozac kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde mikronukleus oluşumu.....	47
Çizelge 3.12. Paxil kullanan hastalara ait lenfosit kültürlerinde mikronukleus oluşumu.....	47

ŞEKİLLERİN LİSTESİ

Şekil	Sayfa
Şekil 1.1. Serotoninin beyindeki normal davranışı.....	5
Şekil 1.2. Beyindeki nöral hücreler arasındaki sinaptik boşluk	6
Şekil 1.3. Faz I reaksiyonlarını katalizlediği düşünülen CYP izoenzimleri, aminoksidaz ve N –asetiltransferaz ile fluoksetin metabolizması.....	7
Şekil 1.4. Faz I reaksiyonlarını katalizlediği düşünülen enzimler ve paroksetin metabolizması: CYP2D6 ve katekol-O-metiltransferaz (COMT).....	10
Şekil 2.1. Fluoksetinin yapısal formülü	18
Şekil 3.1. Prozac’ın insan periferel lenfositlerinde MI üzerine etkisi	27
Şekil 3.2. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde mitotik indeks ve konsantrasyon arasındaki ilişki.....	27
Şekil 3.3. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksi ve konsantrasyon arasındaki ilişki	28
Şekil 3.4. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde KKD/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki.....	28
Şekil 3.5. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde KA/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki	29
Şekil 3.6. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde anormal hücre yüzdesi ve konsantrasyon arasındaki ilişki	31
Şekil 3.7. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde MN/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki	32
Şekil 3.8. Fluoksetin hidroklorür’ün insan periferel lenfositlerinde MI üzerine etkisi	33
Şekil 3.9. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde mitotik indeks ve konsantrasyon arasındaki ilişki.....	35
Şekil 3.10. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksi ve konsantrasyon arasındaki ilişki	35

Şekil	Sayfa
Şekil 3.11. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferallenfositlerinde KKD/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki.....	36
Şekil 3.12. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferallenfositlerinde KA/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki	37
Şekil 3.13. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferallenfositlerinde anormal hücre yüzdesi ve konsantrasyon arasındaki ilişki	37
Şekil 3.14. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferallenfositlerinde MN/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki.....	40

RESİMLERİN LİSTESİ

Resim	Sayfa
Resim 3.1. Prozac muamelesi sonucu oluşan kardeş kromatid değişimleri.....	28
Resim 3.2. Prozac ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozomal anormallikler.....	29
Resim 3.3. Prozac ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde binükleatlarda gözlenen mikronukleus oluşumları	32
Resim 3.4. Fluoksetin hidroklorür muamelesi sonucu oluşan kardeş kromatid değişimleri.....	36
Resim 3.5. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozom anormallikleri.....	39
Resim 3.6. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde binükleatlarda gözlenen mikronukleus oluşumları.....	40
Resim 3.7. Prozac kullanan hastalara ait periferik lenfosit kültürlerinde saptanan kardeş kromatid değişimleri	41
Resim 3.8. Prozac ve Paxil kullanan hastalara ait periferik lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozomal anormallikler	44
Resim 3.9 Prozac ve Paxil kullanan hastalara ait periferik lenfosit kültürlerinde binükleatlarda gözlenen mikronukleus oluşumları.....	48

SİMGELER VE KISALTMALAR

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, açıklamaları ile birlikte aşağıda sunulmuştur.

Simgeler

Açıklama

$^{\circ}\text{C}$

Santigrat derece

%

Yüzde

LD_{50}

Letal doz

$\mu\text{g/ml}$

Mikrogram/ Mililitre

rpm

Devir sayısı

Kısaltmalar

Açıklama

CAs

Chromosomal aberrations

Cyt-B

Sitokalsin-B

KA

Kromozomal anormallikler

KKD

Kardeş kromatid değişimi

MI

Mitotik indeks

MMC

Mitomycin-C

MN

Mikronükleus

NBI

Nükleer bölünme indeksi

RI

Replikasyon indeksi

SCE

Sister chromatid exchange

1. GİRİŞ

Dünyada gittikçe artış gösteren sağlık sorunlarından biri olan depresyon, kompleks psikolojik bir rahatsızlıktır. Bu rahatsızlığa sahip bireylerde tipik olarak aşırı alınganlık, sıkıntı, bitkinlik, uykusuzluk, psikomotor değişimler, suçluluk duygusu, kendine güvensizlik, konsantrasyon bozukluğu ve öğrenme güçlüğü ile ölüm ve intiharı düşünme gibi belirtiler gözlenir. Bu hastalık, diğer birçok hastalıkta olduğu gibi iç veya dış faktörlerden kaynaklanabilir [1].

Depresyon, gerek kişinin kendisinde oluşturduğu ciddi etkileri ve gerekse aile ve çevre sorunları ile toplum içinde oluşturduğu iletişim bozuklukları ve iş gücü kaybı nedeniyle önemli bir toplum sağlığı sorunudur [2].

Depresyon tedavisi öncelikle psikolojik yardıma ve çevresel desteğe dayanır. Buna ilave olarak, böyle bireylere fizyolojik ve psikolojik destek sağlayan çok çeşitli antidepresan ilaçlar verilmektedir. Bu ilaçların kullanılmasındaki amaç, hastanın günlük yaşamını en az bozan etkiyle, en iyi sonucu elde etmektir [3].

Depresyonun en etkili şekilde tedavisi için çeşitli antidepresan ilaçlar kullanılmaktadır. Son zamanlarda bu amaçla, özgül serotonin geri alım engelleyicileri (ÖSGE, SSRI=selective serotonin reuptake inhibitor) kullanılmaya başlanmıştır. Deney hayvanlarında yapılan klinik öncesi çalışmalar, ÖSGE'lerin genotoksik olmadığını göstermektedir. Fakat bu konuda yapılan çalışmalarda, bazı antidepresan ilaçların çeşitli organizmalarda yapılan testler sonucunda genotoksik oldukları belirlenmiştir [2].

Bu çalışmanın amacı, yaygın kullanımlarına rağmen, genetik etkileri açısından pek fazla incelenmeyen ÖSGE'lerden Paxil ve Prozac ile Prozacın etken maddesi fluoksetin hidroklorürün genetik etkilerini incelemektir. Bunun için Paxil ve Prozac kullanan hastalardan alınan periferik lenfositlerde ve Prozac ile bunun etken maddesi olan fluoksetin hidroklorürün kültürdeki insan lenfositlerinde, mitotik indeks ve

replikatif indeks ile kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus testleri uygulanmıştır.

Depresyon

İnsanlık tarihi kadar eski olan depresif bozukluğun nedenlerini açıklamaya yönelik görüşler Hipokrat'a (M.Ö. 460-357) kadar gider. Depresyonla ilgili çalışmalar günümüzde özellikle moleküler biyoloji ve beyin görüntüleme tekniklerindeki gelişmeler sayesinde oldukça yol kat etmiştir. Böylece hastalığın nedenleri ile ilgili çeşitli görüşler ortaya çıkmış, araştırmalar yapılmış ve hastalığın tedavisi için yeni imkanlar ortaya konmuştur [4]

Depresyon, insanın duygu durumunu ve mizacını etkileyen bir hastalıktır. Hastanın günlük hayatını etkileyecek düzeyde uzamış bir 'çökkünlük' hali ile hastalık tipik olarak tanımlanır. Depresyonla birlikte iştahta azalma, kilo kaybı, uyku düzensizlikleri, hafızada zorlanma, dikkat dağınıklığı, üzgün görüntü, değersizlik, umutsuzluk ve suçluluk duygusu, ölüm ve intiharı düşünme ve yetersiz kişisel bakım ve günlük aktivitelerden zevk alamama gibi belirtiler gözlenir.

Epidemiyolojik çalışmalar ruh sağlığı alanında, yaş ve cinsle ilişkili olarak farklı özellikler ortaya koymaktadır. Örneğin, 45 yaşın altındakilerde, 45 yaşın üstündekilere göre daha yüksek oranlarda ruhsal bozukluklar saptanmıştır. Keza tüm depresyon ve yaygın anksiyete bozukluklarında kadınlar erkeklere göre daha fazla risk taşımaktadır. Bunun aksine madde kullanımı ve antisosyal kişilik bozuklukları, erkeklerde daha sık görülmektedir. Temel sağlık hizmetlerine başvuran bireylerin yaklaşık 1/3'ünde ruhsal bozukluğa rastlandığı, bu bireylerin yaklaşık 1/20 oranında psikiyatrik başvuruda bulunduğu belirlenmiştir [5, 6].

Depresyon, genel tıp ve psikiyatri uygulamalarında karşılaşılan en yaygın hastalıklardan biridir [7]. Amerika Birleşik Devletleri'nde major depresyonun görülme sıklığı bayanlarda % 7 iken, erkeklerde % 2,6 ve yetişkinlerde görülme sıklığı da yıllık prevalansı % 5-10,3 arasındadır [8].

Türkiye'deki epidemiyolojik çalışmaların sonuçlarına göre toplum içinde klinik düzeyde depresyon prevalansı %10 dolayındadır ve hastaların yaklaşık üçte birinde ise depresyon kronikleşmiştir [9].

Psikiyatrik bozuklukların ortaya çıkmasında genetik etkilerin rol oynadığı uzun zamandır bilinmektedir. Şizofreni, bipolar bozukluk, depresyon gibi psikiyatrik bozukluklarda dizigotik ikizlerle kıyaslandığında monozigotik ikizlerde konkordans oranının yüksek olması genetik geçişin en önemli bulgularındandır. Bozukluklardan sorumlu olan genlerin belirlenmesi için bağlantı çalışmaları yapılmış ve bu çalışmalar sonucunda psikiyatrik bozuklukların Mendelyan kalıtım şekli göstermediği ortaya çıkmıştır. Bağlantı çalışmaları sonucunda tek bir mutasyonun sorumlu olmadığı anlaşıncaya, hasta kontrol çalışmaları önem kazanmıştır. Diyabet, hipertansiyon gibi hastalıklarda olduğu gibi psikiyatrik hastalıklarda da genetik geçiş komplekstir ve birçok gen hastalığın oluşumuna katkıda bulunabilir yani poligenetiktir [10].

Depresyonun tedavisinde, ilaçlar, psikoterapi, diyetin düzenlenmesi, egzersiz ve uykunun düzenlenmesi gibi yöntemler kullanılır. Klinikte kullanılan antidepresan ilaçlar doğrudan veya dolaylı olarak dopamin, norepinefrin veya serotoninin beyindeki etkilerini artırarak etki gösterirler. Diğer kanıtlarla beraber bu bilgi biyojenik amin teorisine yol açmıştır. Bu teori depresyonun beyindeki anahtar bölgelerinde norepinefrin, serotonin gibi monoaminlerin eksikliğine bağlı olarak ortaya çıktığı şeklindedir. Depresyonun amin teorisi, hastalığı çok basite indirgemektedir çünkü antidepresan ilaçların nörotransmitterlerin sinir hücrelerine alımı dışında pek çok başka biyolojik sistemi de etkiledikleri bilinmektedir.

Antidepresanlar, temel olarak dört grup altında toplanır. Bunlar :

1. Trisiklik antidepresanlar (TCA)
 - Amitriptilin
 - Amoksapin
 - Desipramin

- Doksepin
- İmipramin
- Maprotilin
- Nortriptilin
- Protriptilin
- Trimipramin

2. Özgül serotonin geri alım engelleyicileri (SSRI, selective serotoninine reuptake inhibitor)

- Fluoksetin
- Paroksetin
- Sertralin
- Fluvoksamin
- Nefazodon
- Trazodon
- Venlafaksin

3. Monoamin oksidaz inhibitörleri (MAO)

- İzokarboksazid
- Fenelzin
- Tranilsipromin

4. Lityum tuzlar

Tümkiye ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir araştırmaya göre hastaların kullandıkları ilaçlar açısından bakıldığında, yeni kuşak antidepresanlar arasında ÖSGE'lerin en sık reçete edilen ilaçlar (%'de 55,3) olduğu saptanmıştır [11].

Özgül serotonin geri alım engelleyicileri

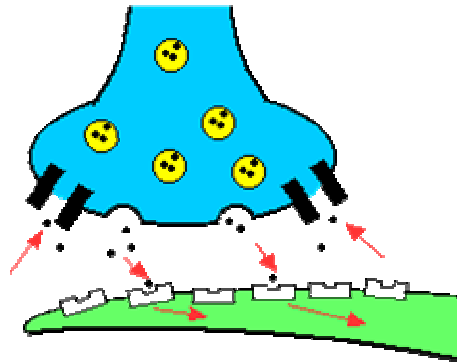
Özgül serotonin geri alım engelleyicileri, spesifik olarak serotonin geri alımını engelleyen ve çeşitli psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılan antidepresan

ilaçların içinde bir gruptur. Zimelidin, klinik uygulamada mevcut ilk ÖSGE olmuş fakat ilacın toksisitesi yüzünden bırakılmıştır. ÖSGE'ler, depresyon tedavisine ilaveten panik bozukluk ve başka anksiyete bozuklukları, obsesif kompulsif bozukluk (OKB) ve bulimiada yaygın şekilde kullanılabilir. Kullanımda bulunan SSRI'lar fluoksetin, fluvoksamin, sertralin, paroksetin ve sitalopramdır [12]. Selektif serotonin geri alım inhibitörleri, merkezi sinir sistemindeki membran taşıyıcılarını hedef alarak serotonin (5-hidroksitriptamin;5-HT) moleküllerinin sinaptik konsantrasyonlarını artırır [9].

Özgül serotonin geri alım engelleyicileri grubu ilaçların etki mekanizmaları

Etkilerini merkezi sinir sisteminde sinaps aralığına salıverilerek nörondan nörona impuls iletimini gerçekleştiren nörotransmitterlerden serotoninin presinaptik hücreye geri-alımını engelleyerek gösterirler. Bu gruptaki antidepresan ilaçların mekanizması

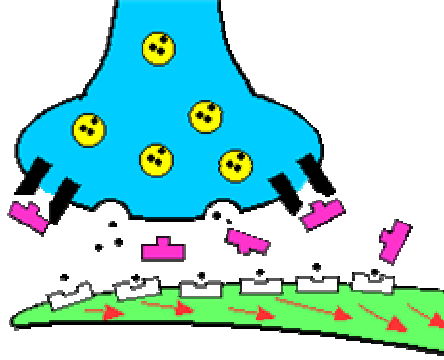
- 1) Serotonin mesajlarının gönderilmesiyle, serotonin paketleri hücreden salıverilir.
- 2) Serotonin sinaps aralığına geçer ve sinyal gönderen reseptörlere bağlanır
- 3) Sinyal gönderildikten sonra orijinal hücre kullanılmayan serotoninini geri absorbe ederek temizler. Prozac gibi bir ilaç kullanıldığında:



Şekil 1.1. Serotoninin beyindeki normal davranışı

- 1) Seçici serotonin geri-alım inhibitörleri, geri-alım kanallarını bloke ederek hücreye serotoninin geri alımını engeller.

2) Sonuçta daha fazla serotonin sinapsta kalır ve bunlar daha fazla reseptöre bağlanır.Bu durum beyindeki sinyali uzatır.



Şekil 1.2. Beyindeki nöral hücreler arasındaki sinaptik boşluk

Fluoksetin

Tedavide kullanımı

Fluoksetin, Prozac adlı ilacın etken maddesidir ve primer kullanım alanı, trisiklik antidepressanlar kadar etkili olduğu depresyondur. Blumia nervoza ve obsesif-kompulsif bozuklukların tedavisinde etkilidir. Anoreksiya nervoza, panik bozukluklar, diyabetik nöropatiye bağlı ağrılar ve premenstrual sendromun tedavisinde de kullanılır.

Temel farmakolojisi

Fluoksetin, birçok ülkede klinik olarak kullanıma sunulan ilk SSRI'dır [13]. S-enantiyomer ve R-enantiyomerin rasemik karışımıdır. Her iki bileşik de demetilizasyon ile aktif metabolitleri olan norfluoksetine çevrilirler [14]. Fluoksetin ve norfluoksetin vücuttan yavaş yavaş atılırlar. Ana bileşiğin yarılanma ömrü 1 ile 10 gün, aktif metabolitin yarılanma ömrü ise 3 ile 30 gün arasında değişir. Fluoksetin, oral kullanımı sonrası iyi absorbe edilir ve 40mg'lık bir tek dozdan 6-8 saat sonra 15-55 ng/ml arasında değişen maksimal plazma düzeyine ulaşır. % 94.5 oranında serum proteinlerine bağlanır. Sabit doz uygulamasıyla ilacın plazma kararlı durum

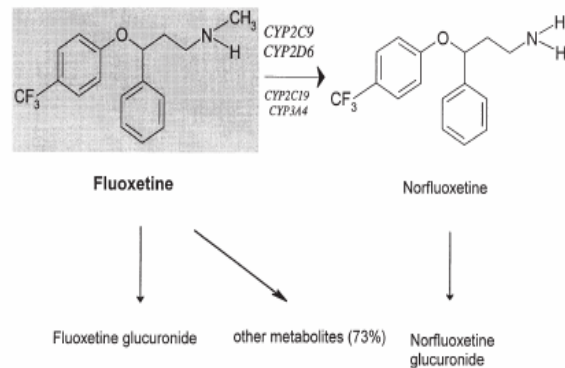
konsantrasyonuna, tedaviye başladıktan haftalar sonra ulaşılır. Diğer lipofilik ilaçlara benzer bir şekilde, fluoksetin 14 ile 100 L/kg arasında değişen geniş bir dağılım hacmine (Vd) sahiptir ve bu da fluoksetinin dokularda yüksek oranda biriktiğini gösterir. Tüm SSRI'lar içinde Vd değeri en yüksek olan fluoksetindir [15]. Birikimin en yüksek olduğu organ lizozomlarca zengin olan karaciğerlerdir [16].

Fluoksetin, karaciğerde trisiklik antidepresanları, nöroleptik ilaçları ve bazı anti aritmik ve B-bloke edici ilaçları metabolize eden sitokrom P-450 izoenzim sisteminin güçlü inhibitörüdür. Beyaz ırkın yaklaşık % 7 'sinde P-450 enzimi yoktur ve fluoksetini çok yavaş metabolize ederler.

Metabolizması

Fluoksetin, norfluoksetin ve çok sayıdaki diğer metabolitlerine dönüşebilmek için oldukça yoğun bir metabolik dönüşüm geçirir (Şekil 1.3). Karaciğerde metabolize edilerek aktif metaboliti norfluoksetine ve diğer tanımlanmamış metabolitlerine dönüşür. Vücuttan öncelikle karaciğerden metabolize edilir sonrasında ise böbreklerden atılarak uzaklaştırılır.

Fluoksetin, oral uygulamadan sonra temel olarak ürün şeklinde, % 10'dan daha az bir kısmı değişime uğramadan veya fluoksetin N-glukuronid olarak atılır [17].



Şekil 1.3. Faz I reaksiyonlarını katalizlediği düşünülen CYP izoenzimleri, aminoksidaz ve N –asetiltransferaz ile fluoksetin metabolizması

Bugüne kadar CYP izoenzimlerinin fluoksetin metabolizmasıyla ilgili yapılan çalışmalara göre CYP2D6, fluoksetinin ve paroksetinin N-demetilasyonu üzerinde etkili bir enzimdir [18]. Yapılan bir başka invitro çalışmaya göre, CYP2C9, fluoksetinin N-demetilasyonunda, kilit bir role sahiptir [19].

Fluoksetin ile ilgili yapılan çalışmalar ve canlılar üzerindeki etkileri

Floksetin en sık reçete edilen selektif serotonin geri alım inhibitörlerinden biridir . Depresyon dışında, serotoninin rol oynadığı pek çok psikiyatrik ve tıbbi durumlarda da kullanılır. Fluoksetinin sık rastlanılan yan etkileri, bulantı, anksiyete, uykusuzluk, seksüel disfonksiyon, iştahsızlık, kilo kaybı ve tremordur. Fluoksetinin aşırı dozları kardiyak aritmilere neden olmaz ancak konvülziyonlar görülebilir [13].

Fluoksetinin rat karaciğer mitokondrisindeki in vivo ve in vitro etkilerinin araştırıldığı bir başka araştırmanın sonuçlarına göre fluoksetin, rat karaciğer mitokondrisi enerji metabolizması üzerinde çok yönlü etkiye sahiptir ve yüksek dozları toksik etki göstermektedir [20]. Fluoksetin hidroklorürün rat ve faredeki karsinojenite çalışmaları, fare ve ratda meydana gelen kendiliğinden tümör oluşum oranında herhangi bir artış olduğuna dair bir bulguya raslanmadığını ve kanserojen olmadığını göstermiştir [21]. Fluoksetinin oral olarak rat ve tavşanlara uygulandığı bir araştırmada; fluoksetinin maternal olarak toksik dozlarına maruz kalan rat ve tavşanda herhangi bir toksisite bulgusuna rastlanmamıştır [22].

Antidepressan ilaçlardan fluoksetin, clomipramin, amitriptilin, imipramin ve citalopram'ın insan lenfositlerinde mitojen stimülasyonu üzerine etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada fluoksetin ve clomipramin 'in % 50-60 mitojen stimülasyonuna neden olduğu diğer ilaçların ise böyle bir etkiye sahip olmadıkları bulunmuştur. Mitojen stimülasyonu ise ilerde kanser oluşumuna neden olabilmektedir [23].

Fluoksetinin hamile fare kemik iliği hücreleri üzerindeki genotoksik etkileri araştırılmış, 80 adet fareye gebeliğin belli dönemlerinde farklı dozlarda fluoksetin

verilmiştir. Mitotik indeksteki düşüş tüm dozlarda anlamlı olduğundan ilacın, kemik iliği hücrelerinde sitotoksik etkili olduğu saptanmıştır. Ayrıca kromozomal anormalliklerden kırık, disentrik oluşumlar, halka oluşumu ve poliploidi gözlenmiş bunların sayısı da kontrollerle karşılaştırıldığında doza bağlı anlamlı artış gösterdiği bulunmuştur [24].

Paroksetin

Tedavide Kullanımı

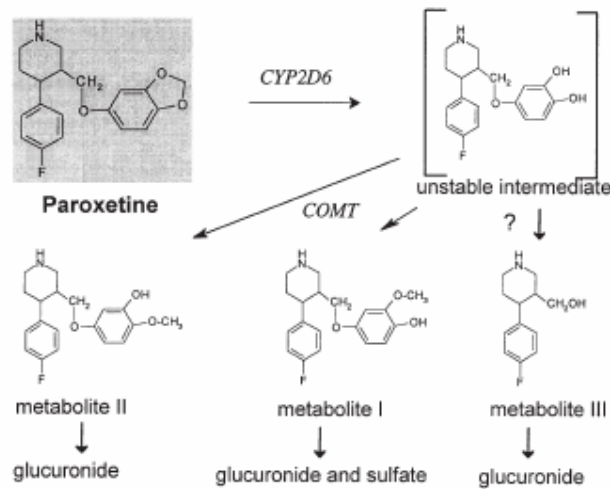
Paroksetin, özgül serotonin geri alım engelleyicileri grubuna ait olan Paxil adlı ilacın etken maddesidir. Başlangıçta sadece depresyon tedavisinde kullanılırken daha sonraları obsesif kompulsif ve panik bozukluklarda da hatta sosyal fobinin tedavisinde de kullanılmaktadır.

Temel farmakolojisi

Paroksetin, klinik olarak yararlanılan en güçlü serotonin geri alım engelleyicisidir [25]. Paroksetin ağız yoluyla alınır ve gıdalar emilimini etkilemez. Alındıktan yaklaşık 5 saat sonra maksimum sistemik konsantrasyona ulaşır. %95-93 oranında ve 100-400 ng/ml'lik konsantrasyonlarda serum proteinlerine bağlanır. Doz ayarlandıktan 5-10 gün sonra uygun plazma konsantrasyonuna ulaşılır. Paroksetin, mide-bağırsak sisteminden etkin bir şekilde geri emilir ve karaciğerden ilk geçişi sırasında kolayca metabolize olur. Önemli miktardaki paroksetin (yaklaşık % 36) feçesle atılır bunun % 1'den az bir kısmı değişime uğramamış paroksetindir [26]. Vücutta ilacın dağılım hacmi 2-12 L/kg'dır, yarılanma süresi maruziyet süresi ve doza bağlı olarak değişkendir. 20 mg/gün'lük dozun oral alımından 15 gün sonra , yarılanma süresi yaklaşık % 12 (16,4-18,3 saat) artar ve 30 mg/gün'lük paroksetin alımından sonra % 100'den (9,8-21,0 saat) fazladır. Fluoksetin gibi karaciğerde sitokrom P450 enzim sistemi yardımıyla metabolize edilir [27].

Metabolizması

Diğer lipofilik psikotrofik ilaçlar gibi paroksetin de hidrofilik atılabilir ürünleri oluşturmak üzere karaciğerde geniş çapta metabolize edilir. Paroksetin CYP2D6 izoenziminin de dahil olduğu sitokrom P450 (CYP) sistemi yardımıyla oksidasyon ve metilasyon aşamalarından geçerek metabolitlerine dönüşür. Metabolizma, metilendioksi köprüsünden oksidatif ayrılmayla sağlayan meta pozisyonundan meta metoksi türevine veya para pozisyonundan para metoksi türevine dönüşüme aracılık eden ve daha ileri metillenmeyi sağlayan kararsız bir bileşik olan katekol oluşumu ile sonuçlanır. Her iki metabolit de sülfirik asit veya glukuronik asit ile birleşir (Şekil 1.4) [26].



Şekil 1.4. Faz I reaksiyonlarını katalizlediği düşünülen enzimler ve paroksetin metabolizması: CYP2D6 ve katekol-O-metiltransferaz (COMT).

Oksidatif ayrılmanın CYP izoenzimleri tarafından gerçekleştirildiği düşünülürken, metilasyon için diğer enzimler gereklidir.

Paroksetin ile ilgili yapılan çalışmalar ve canlılar üzerindeki etkileri

Paroksetinin yan etkileri; terleme, mide bulantısı, baş dönmesi, uykusuzluk, titreme, sinirlilik ve genital bir takım bozukluklardır. ÖSGE grubuna ait bu ilaçla ilgili çok sayıda araştırma mevcuttur. Paroksetinle ilgili yapılan bir çalışmada akut toksisite rodent modeli geliştirilmiş ve tek doz uygulanmak suretiyle test uygulanmıştır. Paroksetine maruz kalan grupta vücut ağırlığı, gıda ve su tüketimi gibi parametreler dikkate alınmış ve 7 gün sonunda kırmızı kan hücrelerinde ve hemoglobinde doza bağlı olarak artış görülmüştür. Kullanılan deney hayvanlarının karaciğerlerinin ağırlığında yüksek dozda artış görülmüştür. İlacın tek yüksek doz uygulanması birçok parametre ile incelenmiş ve yüksek dozlarının toksisiteye neden olabileceği sonucuna varılmıştır [28]. Kim ve arkadaşlarının yapmış olduğu bir çalışmada, panik bozukluğu olan 3 ay boyunca paroksetin tedavisi gören 26 hasta ve aynı sayıdaki kontrol gruplarıyla çalışılmış ve ilaç tedavisinden sonra T lenfosit sayısında belirgin bir artış görülürken B lenfosit sayısında da azalma görülmüştür. Bu bulgular ilaç tedavisinin panik bozukluklarda bağışıklık sistemini etkilediğini göstermiştir [29].

Antidepresan kullanımı ve göğüs kanseri ilişkisi ile ilgili deney hayvanlarıyla yapılan araştırmalar, doğum sonrasındaki bir aylık dönemde antidepresanlara maruz kalındığında bu ilaçların meme tümörü gelişimini tetiklediği ve ratlarda kolon kanseri oluşumuna neden olabildiği yönündedir [30]. Paroksetinin kanserojenite çalışmalarında farede tümör sayısındaki artışın doza bağlı olduğu ilaca bağlı olmadığı saptanmıştır. İnsandaki kanserojenik etkileri ise bilinmemektedir. Antidepresan kullanımı ve göğüs kanseri riski arasında bir ilişki olduğuna dair hayvan ve insanlarda pek çok çalışma yapılmıştır. Steingart paroxetine ve sertralin kullanan hastalarla vaka kontrol çalışması yapmış uzun süreli ilaç kullanımı ile göğüs kanseri arasında az da olsa bir ilişki olduğunu belirlemişlerdir [31].

Mutajenite testleri

İnsanların çeşitli yollarla maruz kaldıkları çeşitli kimyasal maddelerin, mutasyonlara neden olması durumunda, hem bireyin kendisini etkileyen ve hem de ileriki jenerasyonları etkileyebilecek anormallikler ortaya çıkabilir. Bu nedenle, insanların maruz kaldıkları kimyasalların mutasyona neden olup olmadığının belirlenmesi büyük önem taşımaktadır. İşte bu amaçla kısa süreli genotoksisite testleri olarak bilinen testler uygulanmaktadır. Bu testlerde hem farklı tipte organizmalar ve hem de farklı tipte test metodları kullanılmaktadır.

Bu testlerden birisi Ames testi olarak adlandırılır ve *Salmonella typhimurium*'un iki farklı suşunda çalışılır. TA98 suşu, çerçeve kayması mutasyonları için, TA100 suşu ise baz çifti değişimleri için kullanılır. Bu test ile, kullanılan kimyasalın DNA molekülünde nokta mutasyonlarına neden olup olmadığı belirlenir [32]. Sıkça kullanılan testlerden bir diğeri, *Drosophila melanogaster*' de eşeye bağlı resesif letal testidir. Bu teknikte, hem nokta mutasyonları hem de küçük delesyonlar belirlenmektedir. Mayalarda ise, *Saccharomyces cerevisiae* ve *Saccharomyces pompe* gibi türler kullanılarak genotoksisite testleri yapılır. Genotoksisite çalışmalarında, pH ve sıcaklık değişimlerini tolere edebilecek fizyolojik yapıları ve yüksek yapılı organizmaların hücre yapılarına benzemeleri nedeniyle ökaryotlar içinde en çok çalışılan gruptur. *Saccharomyces cerevisiae*'nin hem diploid hem haploidlerin, *Saccharomyces pompe*'nin ise sadece haploidlerde gen mutasyonları için genotoksisite testleri yapılmaktadır [33].

Yukarıdaki testlerin dışında, memelilerde in vivo ve in vitro kromozom anormallikleri metodu da çokça kullanılmaktadır. İn vivo mutajenite testlerinde fare, rat gibi memelilerin kemik iliği kullanılarak kromozomlarda oluşabilecek yapısal değişimlerin saptanması amacıyla kromozom anormallikleri incelenir. İn vitro kromozom anormallikleri metodunda, kültürdeki memeli hücrelerinde belli bir ajanın meydana getirdiği yapısal kromozom anormallikleri belirlenir. Yapısal kromozom anormallikleri iki tipte oluşur, bunlar kromozom tipi ve kromatid tipi anormalliklerdir. Kimyasal mutajenlerin büyük bir kısmı kromatid tipi anormallikler

oluştururken, bir kısmı kromozom tipi anormallikler de oluşturmaktadır. Bazen belli bir kimyasalın etkisiyle poliploidi de meydana gelebilir. Böyle bir durum, sayısal anormallik olarak değerlendirilir. İnsan popülasyonları üzerinde yapılan çalışmalar, periferik lenfositlerdeki spontan kromozomal anormallik frekansları ile kanser oluşumu arasında pozitif korelasyon olduğunu ortaya koymaktadır [34].

Diğer bir önemli test, kardeş kromatid değişimi testidir. Bu test bir kromozomun iki kardeş kromatidi arasında karşılıklı değişimin ortaya çıkarılmasında kullanılır. Bu değişimin gerçekleşmesi için, DNA kırılmalarının olması ve bunların yeniden düzenlenmesi gerekir. Kardeş kromatid değişiminin saptanabilmesi için kültür ortamına BrdU ilave edilir. Bu madde DNA replikasyonu sırasında sentezlenen yeni polinükleotid zincirinde timinin yerini alır. BrdU'yu bünyesine almış DNA, ışınlanmaya maruz kalırsa boyama sonucunda bu bölgeler açık renkli gözlenir. Bu boyanma farkı da DNA'da kardeş kromatidler arası değişimleri göstermektedir [35].

Mikronukleus testi ise bir veya birkaç kromozomun ya da kromozomdan kopan parçaların mitoz esnasında ana çekirdekten ayrı bir şekilde hücre içinde oluşturdukları küçük çekirdekleri belirler. Kromozomal hasarın ölçülmesinde bu yöntem; genotoksisite ve sitotoksisite çalışmalarında kromozom kırığı, kromozom kaybı ve hücre bölünmesinin inhibe edilmesini basit morfolojik kriterlerle ölçümünü sağlar. Cyt B, aktin polimeraz inhibitörü olup nükleer bölünmeyi durdurmadan, mitotik sitokinezi yani sitoplazmanın bölünmesini durdurur. Cyt B etkisiyle, hücre çekirdeği bölünürken, sitoplazma bölünmesi (sitokinez) durur ve binükleer hücreler ortaya çıkar. Ayrıca nükleer bölünme indeksi hesaplanması ile test edilen kimyasal veya fiziksel ajanın sitostatik etkinliği hakkında bilgi edinilir [36].

Çeşitli materyal ve test yöntemleriyle yapılan genotoksik araştırmalar

Yapılan araştırmalar doğal çevremizde bulunan pek çok kimyasal maddenin immünotoksik, genotoksik, mutajenik, kanserojenik ve teratojenik olduğu gerçeğini ortaya koymaktadır. Bu etkilere sahip olma potansiyeli olan kimyasallardan biri de ilaçlardır. Bu nedenle, ilaçların insanda tedavi edici etkilerinin belirlenmesinin

yanında, bunların insan genomunda mutasyonlara sebep olup olmadıklarının ortaya çıkarılması da son derece önem taşımaktadır. Bir kimyasal maddenin, potansiyel genotoksik olup olmadığının belirlenmesi için çeşitli testler yapılmaktadır. Bunun için kullanılan testlerden bazıları, kardeş kromatid değişimi (KKD) analizi, kromozom anormallikleri (KA) analizi ve mikronukleus (MN) analizidir. Bir ilacın genetik etkilerinin olup olmayacağının belirlenmesi için de benzer analizler kullanılmaktadır. İlaçların genotoksikite profilinin belirlenmesiyle ilgili olarak yapılmış çok sayıda araştırma vardır. Megazol adlı ilacın genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada mitotik indeks ve kromozom anormallliği sıklığında anlamlı düzeyde artış görülmüştür [37]. Sulfamethoksazol antimikrobiyal ilacıyla kültüre edilmiş insan periferik lenfositleri kullanılarak yapılan bir çalışmada KKD ve MN frekansları incelenmiş her iki test de DNA hasarı, klastojenite ve anojenite gibi genetik hasarların saptanmasını sağlamaktadır. KKD ve MN frekanslarında en yüksek dozlarda artış görülmüş ve anlamlı bulunmuştur [38]. Yine Antimikrobiyal bir ilaç olan trimethoprim'in ve kuinolon'un MN frekansını önemli oranda artırdığı ayrıca DNA hasarında da görülen artış nedeniyle de genotoksik etkili olduğu bildirilmiştir [39,40]. Antibiyotik olarak kullanılan violasein'in memeli hücre kültürlerinde yapılan bir çalışmada MN frekansında artışa neden olduğu saptanmıştır [41]. Abou-Eishaa , antimikrobiyal bir ilaç olan sulfamethoksazol'un, KKD frekansında doza bağlı bir artışa neden olduğunu, bu artışın sadece en yüksek dozda (500 µg/ml) istatistiksel olarak anlamlı olduğunu ve bu nedenle insan lenfosit kültürlerinde bu ilacın, zayıf da olsa kromozomal hasara ve sitotoksik etkiye neden olduğu sonucuna varmıştır [38].

Teo, hiperaktivite bozukluğu için kullanılan bir ilaç olan d-metilfenidat'ın, in vitro ve in vivo genotoksikite denemelerinde KKD'inde anlamlı bir artışa neden olmadığından genotoksik ve klastojenik olmadığını bulmuştur [42]. Anestezik cerrahide kullanılan diazepam ve propofol kullanılarak açık kalp ameliyatı olan hastalarda, kromozomal aberasyon testi uygulanmış ve bu ilaçların herhangi bir genotoksik etkisi olmadığı sonucuna varılmıştır [43]. İkbal ve arkadaşları, uyku ilacı olarak kloral hidrati kullanan çocukların periferik lenfositleriyle yaptıkları bir çalışma sonucunda, bu ilacın KKD ve mikronukleus frekansında belirgin bir artışa

neden olduğunu, bu nedenle ilacın az da olsa genotoksik potansiyele sahip olduğunu bulmuşlardır [44].

Wu ve arkadaşları, 53 florozisli hastanın lenfositleriyle MN ve KKD testi uygulayarak kontrol gruplarına göre KKD ve MN frekansının anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamıştır. Bu sonuçlardan florozisli hastalarda DNA'nın ciddi şekilde hasar gördüğü sonucuna varmışlardır. Florinin DNA ve kromozom hasarına yol açan mutajenik bir ajan olduğunu saptamışlardır [45].

Antimikrobiyal bir ilaç olan enrofloksasin ve metaboliti siprofloksasin kullanan 8 bireye ait kültürdeki insan periferik lenfositlerinde mitotik indeks ve kromozom anormallikleri incelenmiş ve kromozom anormallik frekansında her iki grupta da kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu ve en sık kromatid ve kromozom kırıkları anormalliklerinin görüldüğü bundan da ilaçların genotoksik olduğu sonucuna varmışlardır. Kontrolle kıyaslandığında mitotik indekste görülen azalma ise bu antimikrobiyalin sitotoksik etkili olduğunu göstermektedir. Enrofloksasin ayrıca KKD frekansını da arttırdığından bu ilacın genotoksik etkili olduğu saptanmıştır [46].

Öztürk ve arkadaşları miyelodisplastik sendromlu 16 hastayla yapılan bir araştırmada KKD'nin kontrole göre anlamlı düzeyde arttığını gözlemişlerdir. DNA hasarı göstergesi olan KKD'deki bu artışın hastalığın ilerlemesinde rol oynayabildiği sonucuna varmışlardır [47].

Kanser hastanesinde çalışan ilaç teknisyenleri ve hemşirelerin lenfositleri üzerinde antineoplastik ilaçların genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada, kontrol grupları ile ilaçlara maruz kalan kişiler arasında mikronukleusda önemli bir değişiklik görülmezken yatak epitelyum hücrelerinin MN testinde ise önemli farklılıklar gözlenmiştir. Yine CA frekansında da önemli derecede artış gözlenmiştir [48]. Ballard ve arkadaşları, iodin-131 tedavisi gören tiroid kanserli hastalarla yapmış oldukları bir çalışmada MN frekansında anlamlı düzeyde artış olduğunu tespit etmişlerdir [49]. Bir başka çalışmada kanser ilacı olarak kullanılan Arjentatin-

A ve Arjentatin-B'nin insan lenfositleri üzerindeki genotoksik etkileri MN testi ile incelenmişlerdir. Sonuçta ilaçların herhangi bir genotoksik etkilerinin olmadığı saptanmıştır [50].

Hiperaktivite ve dikkat dağınıklığı tedavisinde kullanılan bir ilaç olan metilfenidat tedavisi gören 12 çocukla yapılan bir çalışmada, bu ilacın mutajenite ya da kanserojenite ile bağlantısının olup olmadığı araştırılmıştır. Kromozom anormallikleri, KKD ve MN frekanslarında önemli oranda artış gözlenmiştir. Araştırmacılar bu durumun kanser riskini artırdığı sonucuna varmışlardır [51].

Ektoparazitlere karşı kullanılan bir ilaç olan apitol'un kültüre alınmış insan periferik lenfositleri üzerindeki genotoksik etkilerinin incelendiği bir çalışmada KKD frekansında ve mitotik indekste tüm konsantrasyonlarda anlamlı oranda artış gözlenmiş ve tüm bu bulgulardan ilacın genotoksik potansiyeli olabileceği sonucuna varılmıştır. Apitol'un aynı zamanda yapısal kromozom aberasyonlarında artışa neden olup en çok da kromozom kırıklarına yol açtığı bulunmuştur [52].

Psikiyatri bölümünde 18'i lityum karbonat ve 18'i de benzodiazepin ilaçları ile tedavi gören 36 hasta ile yapılan bir çalışmada her iki grupta da kromozom aberasyon oranındaki artışın önemli düzeyde olduğu en sık görülen anormalliklerin disentrik kromozom ve kromatid değişimi olduğu ve hücre başına düşen KKD frekansında da anlamlı oranda artış olduğu ancak her iki grup arasındaki aberasyon ve KKD/hücre frekansı arasında bir farklılık olmadığı saptanmıştır [53]. Bozkurt ve arkadaşları, selektif serotonin geri alım inhibitörlerinden biri olan sertalin kullanan hastaların periferik lenfositlerindeki KKD ve kromozom aberasyonu frekanslarını, kontrol gruplarıyla karşılaştırmak suretiyle incelemişler ve sonuçta ilacı kullanan kişilerde sağlıklı bireylere göre KKD frekansı daha fazla olsa da, bu artışın istatistiksel olarak anlamlı olmadığını ortaya koymuşlardır [54].

Amaç

İlaçlar insanların en sık maruz kaldığı kimyasallardan biridir. Pek çok kimyasal gibi ilaçların da genotoksik etkili olup olmadığının saptanmasında yapısal kromozom aberasyonları (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD) ve mikronukleus (MN) testi gibi çok sayıda test kullanılmaktadır.

ÖSGE grubu ilaçlar ile laboratuvar hayvanlarında yapılan klinik öncesi testlere göre , bu ilaçların genotoksik olduğuna dair kesin bir kanıt bulunamamıştır. ÖSGE'lerin insan hücre sistemleri üzerindeki etkilerinin araştırıldığı in vitro çalışmaların sayısı yeterli değildir. Ayrıca pek çok psikotik ilaç genotoksisite yönünden test edilmiştir ancak bazı araştırmaların sonuçları birbirleriyle çelişmektedir. Örneğin diazepam olarak da bilinen antipsikotik ilaç, benzodiazepin ile ilgili çok sayıda genotoksisite testi yapılmıştır. Bu ilacın genotoksik olup olmadığı ile ilgili negatif ve pozitif sonuçlar elde edilmiştir. Yine deney hayvanlarıyla yapılan bazı araştırmalara bakılarak bu ilaçların insanda oluşturabileceği etkileri tahmin etmek oldukça büyük bir problemdir. Tüm bu nedenlerden dolayı daha çok araştırma yapılarak daha net sonuçlara ulaşılabilir.

Bu amaçla çalışmamızda; depresyon, anksiyete, bulimia nevroza ve obsesif-kompulsif gibi çeşitli rahatsızlıkların tedavisinde kullanılan ilaçların (etken maddesi paroksetin olan Paxil ve etken maddesi fluoksetin olan Prozac), kültürdeki insan periferik lenfosit hücrelerinde; mitotik indeks, replikatif indeks, kardeş kromatid değişimi, kromozomal anormallikler ve mikronukleus oluşumları üzerine etkileri kontroller ile karşılaştırılmak suretiyle araştırılmıştır.

2. MATERYAL VE METOD

2.1. Materyal

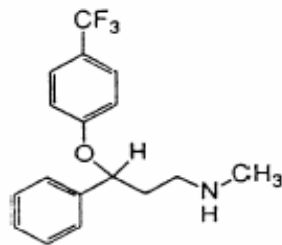
2.1.1. Prozac'ın in vitro insan lenfosit kültürlerine uygulanması

Periferik kanların elde edilmesi

Antidepresan olarak kullanılan Prozac'ın insan periferik kanından elde edilen lenfositlerdeki genetik etkilerini incelemek amacıyla, sigara, alkol veya ilaç kullanmayan, herhangi bir hastalığı saptanmamış sağlıklı kişilerden (25 yaşında bir bayan ve bir erkek donörden) kan temin edilmiştir.

Test Materyali

Bu araştırmada kullanılan antidepresan ilacın ticari adı: Prozac, etken maddesi: fluoksetin hidroklorür, IUPAC adı: N-metil-3-phenil-3-[4-(trifluorometil)phenoksi]-propan-1-amin, kimyasal formülü: $C_{17}H_{18}F_3NO \cdot HCl$, Fare ve ratdaki LD_{50} değeri sırasıyla 248 ve 452 mg/kg' dır (oral olarak verildiğinde) . Yapısal formülü Şekil 2.1'de verilmiştir.



Şekil 2.1. Fluoksetinin yapısal formülü

2.1.2. Prozac ve Paxil antidepresan ilaçlarını kullanan hastalardan periferik kanların elde edilmesi

Bu araştırma için kullanılacak kan, belli bir süredir antidepresan olarak Paxil ve Prozac ilaçlarını kullanan, sigara, alkol veya başka bir ilaç kullanmayan kişilerden alınmıştır. Kanlar, Gazi Üniversitesi Tıp Fakültesi'nde, depresyon ve anksiyete tedavisi gören hastalardan temin edilmiştir. Ayrıca, hasta kişiler ile aynı cinsiyet ve aynı yaşta olmak üzere, tıbbi tedavi altında olmayan normal kişilerden de periferik kan temin edilmiştir. Bu çalışmada, söz konusu ilaçları kullanan toplam 24 hastadan kan alınmıştır. Paxil kullanan hasta sayısı 12, Prozac kullanan hasta sayısı 12 olmak üzere hastalar; 20-29, 30-39 ve 40-49 olarak üç yaş grubuna ayrılmıştır. Buna göre 20-29 yaş grubunda Paxil kullanan 1 kişi, Prozac kullanan 5 kişi, 30-39 yaş arasında Paxil kullanan 5 kişi, Prozac kullanan 3 kişi, 40-49 yaş arasında ise Paxil kullanan 6, Prozac kullanan ise 4 kişi vardır.

2.2. Metot

Laboratuarda kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi

Fluoksetin hidroklorür ile ilgili daha önce yapılan çalışmalarda, bu etken madde için LD₅₀ değeri 248 mg/kg olarak belirlenmiştir. Bu çalışmada; Prozac adlı ilacın LD_{50/25}, LD_{50/50}, LD_{50/100} ve LD_{50/200}'lük konsantrasyonları olan 1,25 , 2,5 , 5 ve 10 µg/ml'lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Prozacın belirlenen bu konsantrasyonları ile insan lenfosit kültürleri 24 ve 48 saat süre boyunca muamele edilmiştir. Ayrıca çalışmalarda hiçbir kimyasal uygulanmamış negatif bir kontrol grubu ve mitomycin C (MMC) eklenmiş pozitif bir kontrol grubu da kullanılmıştır.

Prozac ve Paxil ilaçlarını kullanan hastalar için sadece negatif kontrol grubu kullanılmış, periferik kan hastalardan temin edilerek kültür ortamına ekilmiş ve KKD, KA ve MN saptanması için ilaç ilavesi yapılan yukarıdaki aynı teknik takip edilmiştir.

Kromozom anormallikleri (KA) testi ve kardeş kromatid değişimlerinin (KKD) belirlenmesi

Hücre kültürlerinin hazırlanması amacıyla, sağlıklı, sigara içmeyen bir bayandan ve bir erkekten ayrı ayrı alınan ve 1/10 oranında heparinize edilmiş periferik kanın 0,2 ml'si (6 damla) steril şartlarda 2,5 ml'lik kromozom medyum (Chromosome Medium B) içeren tüplere ekilmiştir. Daha önce sartorius membran filtre ile steril edilerek hazırlanan BrdU solüsyonundan her tüpe 10 µg/ml olacak şekilde toplam 50 µl ilave edilmiş ve tüpler alt üst edilerek karışmaları sağlanmıştır. Ardından kültür tüpleri alüminyum folyo ile sarılarak, eğik pozisyonda, 37°C'deki inkübatörde 72 saat bekletilmiştir.

Prozac ve etken maddesi fluoksetin hidroklorür için belirlenen uygulama dozlarının kültür tüplerine ilave edilmesi şu şekilde yapılmıştır; Prozac'ın ve fluoksetin hidroklorür'ün 24 saatlik etkisini araştırmak amacıyla kültür süresinin (72 saat) bitiminden 24 saat önce her bir tüpe sırasıyla 1,25 µg/ml, 2,5 µg/ml, 5 µg/ml ve 10 µg/ml olacak şekilde Prozac ilave edilmiş, kontrol grubu olan 1. tüpe test maddesi eklenmemiş, pozitif kontrol grubu olan 2. tüpe son konsantrasyonu 0,1 µg/ml olacak şekilde mitomycin-C (MMC) eklenmiştir. İlacın 48 saatlik etkisinin araştırılması için, kültür süresi bitiminden 48 saat önce aynı işlemler tekrarlanmıştır. İlacın belirtilen uygulama dozları tüplere ilave edilmiş, tüpler tekrar inkübatöre alınarak 72 saatlik toplam kültür süresinin dolması beklenmiştir. Kültür süresi bitiminden 2 saat önce (kültürün 70. saatinde) her tüpe steril saf su içinde hazırlanmış kolkisin solüsyonundan (kullanılan kültürün her ml'sinde 0,06 µg olacak şekilde) eklenmiş ve tüpler hafifçe sallanıp karışmaları sağlanmıştır. Bu şekilde hücreler 2 saat boyunca 37°C'deki inkübatörde kolkisin ile ön işleme tabi tutulmuştur.

Tüpler, kültür süresi bitiminde 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve üstte kalan sıvı (süpernatant) uzaklaştırılmıştır. Lenfosit hücrelerini içeren tüpün dibindeki 0,5-0,7 ml'lik kısım iyice karıştırılarak, hücrelerin kalan sıvı içinde homojen olarak dağılması sağlanmıştır. Ardından bu tüplere, önceden 37°C'ye getirilmiş etüvde bekletilen 0,075 M KCl hipotonik solüsyonundan, otomatik karıştırıcıda damla

damla (5'er ml) ilave edilerek 30-60 saniye karışmaları sağlanmıştır. Tüplere hipotonik solüsyonun homojen bir şekilde karışması sağlandıktan sonra tüplerin ağzı tekrar kapatılarak, 37°C'deki etüvde 30 dakika hipotonik solüsyonda bekletilmiştir. Bu süre sonunda tüpler 1200 rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiş ve süpernatant atıldıktan sonra , önceden buzdolabında soğutulmuş 3:1 metanol:asetik asitten oluşan soğuk fiksatiften 5'er ml yavaş yavaş otomatik karıştırıcıda karıştırılarak tüplere eklenmiştir. Fiksatifle yıkama işlemi üç kez tekrarlanarak tüpte kalan sıvının tamamen berraklaşması sağlanmıştır. Tüpler her yıkama işleminden sonra santrifüj edilmiş, son fiksatifle muamele sonunda dipte 0,5-0,7 ml kalacak şekilde süpernatant atılmıştır.

Süpernatantın son kez atılmasının ardından dipte kalan sıvı, pipetaj yapıp içindeki hücreler homojen hale getirilmiştir. Daha sonra bu hücre süspansiyonu pastör pipetine çekilmiştir. Bu süspansiyonun, daha önce 1N HNO₃'te temizlenmiş ve etil alkolde buzdolabında bekletilen nemlendirilmiş lamlar üzerine, 15-20 cm yükseklikten, farklı alanlara birer damla damlatılarak yayılması sağlanmıştır. Hazırlanan preparatlar kurumak üzere 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir [55].

Mikronukleus (MN) testi

İnsan periferik lenfosit hücre kültürlerinin hazırlanması için steril koşullarda sağlıklı, sigara içmeyen bir bay ve bir bayandan alınan ve 1/10 oranında heparinize edilmiş periferik kanın 0,2 ml'si (6 damla), içerisinde 2,5 ml'lik kromozom medyumunu bulanan (Chromosome Medium) tüplere ekilmiştir. Bu tüpler 37°C sıcaklıktaki etüve 45° eğik şekilde yerleştirilmiştir.

Kültürdeki hücreler, MN çalışması için Prozac'ın ve fluoksetin hidroklorür'ün yukarıda verilen konsantrasyonları ile yalnızca 48 saat muamele edilmiştir. Kültür süresi başlangıcından 24 saat sonra dört tüpe daha önce de bildirilen konsantrasyonlarda ilaç ilavesi yapılırken, kalan iki tüpten 1. sine (negatif kontrol) ekim yapılmamış 2. tüpe pozitif kontrol için 0,1 µg/ml MMC ekimi yapılmıştır. Sitokinezi engellemek için 44. saatte 5,2 µl Cytochalasin-B eklenmiştir. Kültür süresi

dolduğunda tüpler, 10 dakika boyunca 1000 rpm’de santrifüj edilmiş, ardından üstte kalan süpernatant atılmıştır. Geriye kalan 0,5-0,7 ml’lik kısım vorteks yardımıyla homojenize edildikten sonra, 37°C’deki 0,075 M KCl solüsyonundan tüplere vorteks üzerinde karıştırarak damla damla 5 ml ilave edilmiş ve ardından buzdolabında 5 dakika bekletilmiştir. Tüpler buzdolabından çıkarılarak, 1000 rpm’de 10 dakika santrifüj edilip süpernatant atıldıktan sonra, tüplere, 5’er ml 3:1 metanol: asetik asitten oluşan soğuk fiksatiften ilave edilmiştir. Ardından tüpler buzdolabında 10 dakika bekletilmiştir. Bu işlem 2 kez tekrarlandıktan sonra 3. fiksatife son konsantrasyon 0,01 olacak şekilde 5 ml formaldehit ilave edilmiş ve son kez santrifüj edilmiştir. Tüplerdeki süpernatant atılmış, geriye kalan hücre süspansiyonu pipetle yavaşça homojenize edilmiştir. Daha önce 1N HNO₃’de temizlenmiş ve buzdolabında etil alkolde bekletilmiş ve sonrasında kurulanmış lamalar üzerine 15-20 cm yükseklikten farklı alanlara birer damla damlatılarak süspansiyonun yayılması sağlanmıştır. Preparatlar kuruması için 24 saat oda sıcaklığında bırakılmıştır.

Preparatların boyanması

Mitotik indeks, kromozomal anormallikler ve mikronükleusların gözlenmesi amacıyla hazırlanmış olan preparatlar % 5’lik giemsa’da 15-20 dakika boyanmıştır. Bir kromozomdaki kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını sağlamak amacıyla Speit ve Haupter (1985)’in geliştirdikleri metot modifiye edilerek kullanılmıştır [56]. Bu uygulamaya göre bir gün boyunca kurutulan preparatlar düz bir cam tepsiye konularak üzerleri ince bir tabaka halinde fosfat tamponu (pH 6.8) ile kapatılmıştır. Sonraki aşamada preparatlar, 15 cm yükseklikten, 254 nm dalga boyunda ışık yayabilen UV lambası ile karanlıkta 13 dakika ışınlanmıştır. Işınlama bitiminin ardından preparatlar, önceden 60 ° C sıcaklığa getirilen 2xSSC solüsyonunda 35 dakika inkübe edilmiştir. Son olarak preparatlar, fosfat tamponu ile hazırlanan % 5’lik giemsa ile (pH 6.8) 15-20 dakika boyanmıştır.

Boyama süresinin dolmasından sonra, her iki yöntemde de boyadan çıkarılan preparatlar, fazla boyanın akması için üç ayrı kaptaki saf sudan geçirilerek yıkanmıştır. Sonra preparatlar dik bir şekilde kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan

preparatlara DPX damlatılıp lamelle kapatılarak daimi hale getirilmiştir ve bir gün kurumaya bırakıldıktan sonra mikroskopik incelemeye alınmıştır.

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

Mitotik indeksin tespit edilmesi amacıyla bütün uygulamalar için kadın ve erkek bireye ait preparatların her birinden 1000'er hücre incelenmiş ve bu hücreler içinde metafaz evresindeki hücre sayısının toplam hücre sayısına oranı yüzde cinsinden hesaplanmıştır. Kromozomal anormalliklerin belirlenmesi için her bir uygulama grubunda, kromozomları iyi dağılmış olan 100'er hücre incelenmiştir. İncelenen toplam hücre içindeki anormal hücrelerin yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom anormalliği sayısı belirlenmiştir. İlacın etkisiyle mitotik indeks ve kromozom anormalliklerinde oluşan değişimlerin negatif kontrole göre önemli olup olmadıklarının belirlenmesi için z-testi uygulanmış ve her bir grubun regresyon denklemi ile korelasyon katsayısı (r) bulunup regresyon doğrusu çizilerek doz etki ilişkisi saptanmıştır.

Kardeş kromatid değişiminin (KKD) saptanması

Her bir uygulama için, mitoz 1 (M1), mitoz 2 (M2) ve mitoz 3 (M3) safhalarındaki toplam 100 hücre, kardeş kromatid değişimi sayısının saptanması amacıyla incelenmiştir. Kardeş kromatid değişimi sayısı, bir kromozomun açık boyanmış kromatidindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatidindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla, oluşan kırılma sayısına göre birli, ikili, üçlü ve dörtlü değişimler olarak değerlendirilmiştir. Uygulama gruplarının her birinde oluşan KKD'nin negatif kontrole göre anlamlı olup olmadığı t-testi ile analiz edilmiştir. Tek yönlü varyans analizi metodu ile hücre başına düşen KKD oranı için her bir grubun ortalamaları arasındaki farkın önemli olup olmadığı saptanmıştır. Yine her bir grubun regresyon denklemi ile korelasyon katsayısı (r) bulunup regresyon doğrusu çizilerek doz etki ilişkisi saptanmıştır.

Replikasyon indeksinin saptanması

Preparatların her birinden 100 hücre, replikasyon indeksini hesaplamak amacıyla incelenmiştir. İncelenen hücreler arasında birinci (M1), ikinci (M2) ve üçüncü (M3) metafaz evresindeki hücreler sayılmış ve replikasyon indeksi $RI = 1x(M1) + 2x(M2) + 3x(M3)/N$ (N=incelenen toplam hücre sayısı) formülü yardımıyla hesaplanmıştır [57]. Doz etki ilişkisini saptamak için her grubun r değeri bulunarak regresyon doğruları çizilmiştir.

3. BULGULAR

3.1. İnsan lenfosit kültürlerinden elde edilen bulgular

3.1.1.Prozac'ın invitro insan periferel lenfositleri üzerine uygulanması sonucu oluşan etkisi

Prozac'ın 24 ve 48 saatlik uygulamaları, replikasyon indeksi üzerinde doza bağlı olarak düşmeye neden olsa da (24 saat için $r=-0,68$ ve 48 saat için $r=-0,41$), bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir. 24 ve 48 saatlik uygulamalarda doz artışına bağlı olarak M1, M2 ve M3'te çeşitli değişimler gözlenmiş ise de, bu değişimlerin doz artışıyla ilişkili olmadığı belirgindir. 24 saatlik uygulamada Prozac, mitotik indeksi doza bağlı olarak azaltmıştır ($r=-0,95$). Bu azalma sadece en yüksek dozda (10 $\mu\text{g/ml}$), istatistiksel olarak anlamlıdır. 48 saatlik uygulamada da mitotik indeks doza bağlı olarak azalmıştır ($r=-0,80$) (Çizelge 3.1). Bu azalma bütün konsantrasyonlarda anlamlı düzeydedir. Prozac'ın 24 ve 48 saatlik uygulamalarında, konsantrasyon artışına bağlı olarak mitotik indekste oluşturduğu azalma Şekil 3.1'de , mitotik indeks ile konsantrasyon arasındaki doz-etki ilişkisi Şekil 3.2'de, replikasyon indeksi ile konsantrasyon arasındaki doz-etki ilişkisi ise Şekil 3.3de gösterilmiştir.

Prozac'ın KKD üzerine etkileri incelendiğinde, 24 saatlik uygulamada 1,25 $\mu\text{g/ml}$ 'lik doz hariç, diğer tüm dozlarda KKD oluşumu istatistiksel olarak anlamlı bir artış göstermiştir. Konsantrasyon ve KKD/hücre sayısı arasında güçlü bir korelasyon vardır ($r=0,92$), 48 saatlik uygulamada da tüm dozlar kontrol ile kıyaslandığında KKD oluşumunu anlamlı düzeyde artırmaktadır. Burada da KKD/hücre sayısı ile doz artışı arasında bir korelasyon vardır ($r=0,97$) (Şekil 3.4. a-b). Çizelge 1.1'de en düşük ve en yüksek sayıdaki KKD'ler ve hücre başına düşen KKD sayısı gösterilmiştir. Prozac muamelesi sonucu oluşan kardeş kromatid değişimi ikinci mitozu geçiren lenfositlerde (M2) gözlenmektedir (Resim 3.1).

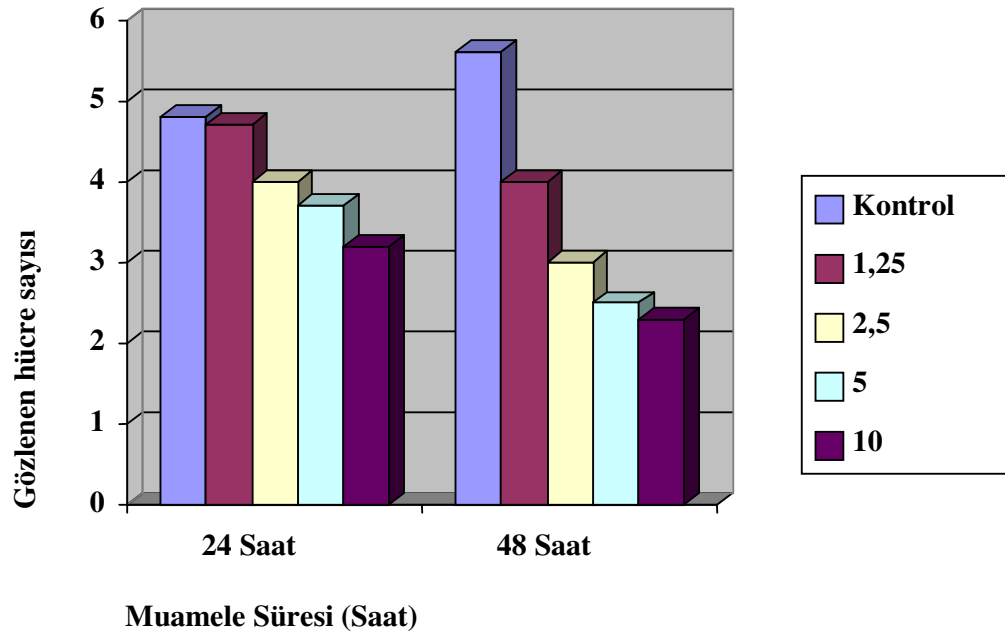
Çizelge 3.1. Prozac'ın insan periferal lenfositlerinde replikasyon indeksi, mitotik indeks ve kardeş kromatid değişimi üzerine etkileri

Test maddesi	Uygulama		Min-max	KKD/hücre ± SH	M1	M2	M3	RI ± SH	MI ± SH
Prozac			KKD						
	Süre	Doz							
	(saat)	(µg/ml)							
Negatif kontrol	24 h	0,0	0-3	0,46±0,12	110	75	15	1,53±0,045	4,8±0,047
Pozitif kontrol	24 h	0,10	7-21	10,82±0,42	123	51	26	1,52±0,051	3,0±0,038
Prozac	24 h	1,25	1-5	0,60±0,13	60	129	11	1,76±0,039	4,7±0,047
		2,50	1-5	0,88±0,17*	136	61	3	1,34±0,036	4,0±0,043
		5,00	1-6	2,12±0,36*	97	87	16	1,60±0,045	3,7±0,042
		10,00	2-8	2,26±0,29*	143	50	7	1,32±0,038	3,2±0,039a ¹
Negatif kontrol	48 h	0,0	1-3	0,62±0,11	42	50	108	2,33±0,057	5,6±0,051
Pozitif kontrol	48 h	0,10	9-38	13,5±0,80	24	50	126	2,51±0,050	1,6±0,028
Prozac	48 h	1,25	1-5	1,86±0,13*	22	74	104	2,41±0,048	4,0±0,044 a ¹
		2,50	1-6	3,01±0,17*	12	58	130	2,59±0,043	3,0±0,038a ²
		5,00	2-7	4,03±0,16*	40	58	102	2,31±0,056	2,5±0,035 a ²
		10,00	2-9	6,02±0,24*	46	50	104	2,29±0,058	2,3±0,034 a ²

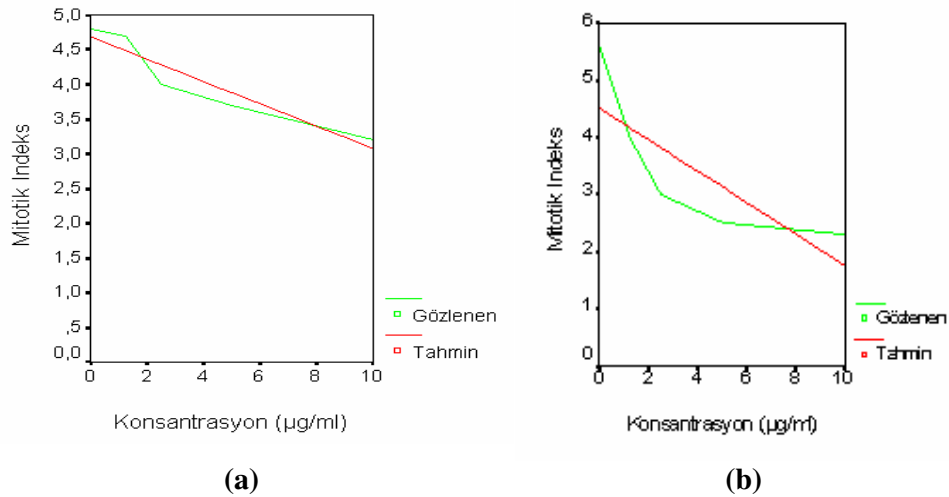
a¹ kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z test)

a² kontrole göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z test)

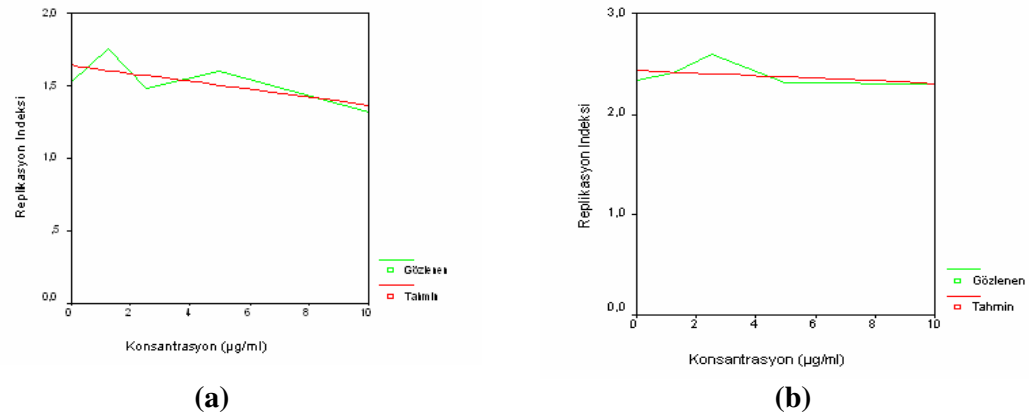
* kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (t-test)



Şekil 3.1. Prozac'ın insan periferik lenfositlerinde MI üzerine etkisi



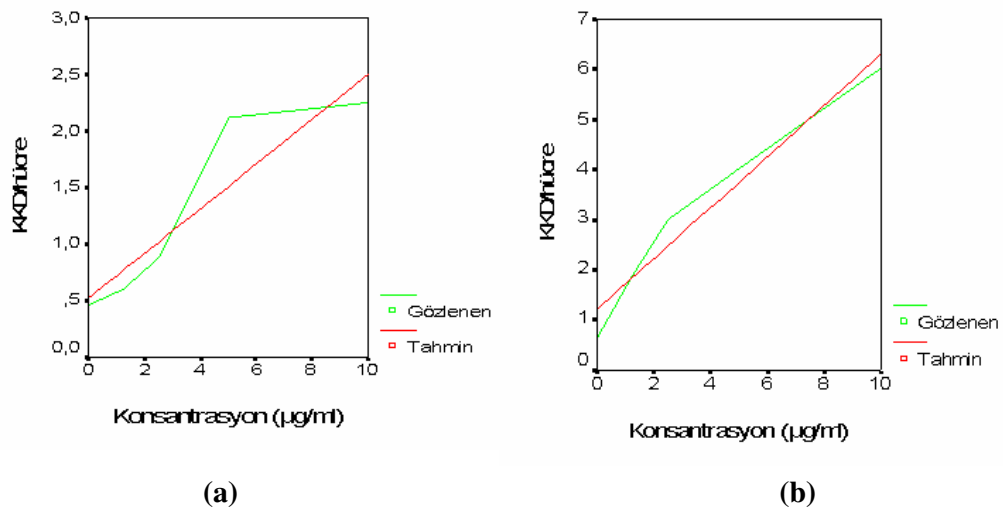
Şekil 3.2. Prozac ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde mitotik indeks ve konsantrasyon arasındaki doz-etki ilişkisi. a) 24 saatlik uygulama ($r=-0,95$), b) 48 saatlik uygulama ($r=-0,80$).



Şekil 3.3. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksi ve konsantrasyon arasındaki ilişki. a) 24 saatlik uygulama ($r=-0,68$), b) 48 saatlik uygulama ($r=-0,41$).



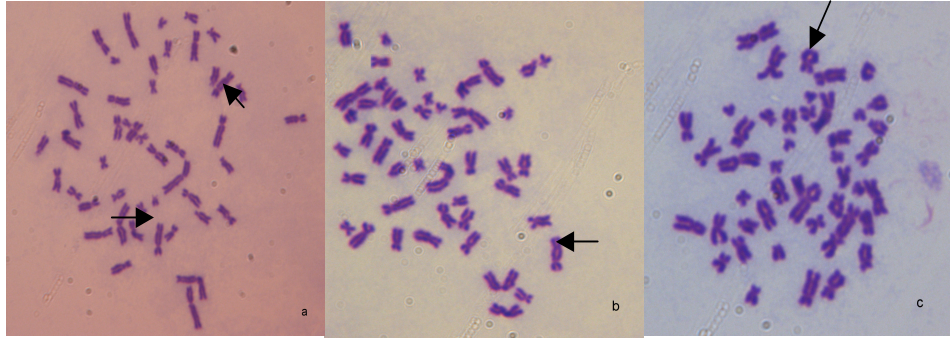
Resim 3.1. Prozac muamelesi sonucu oluşan kardeş kromatid değişimleri



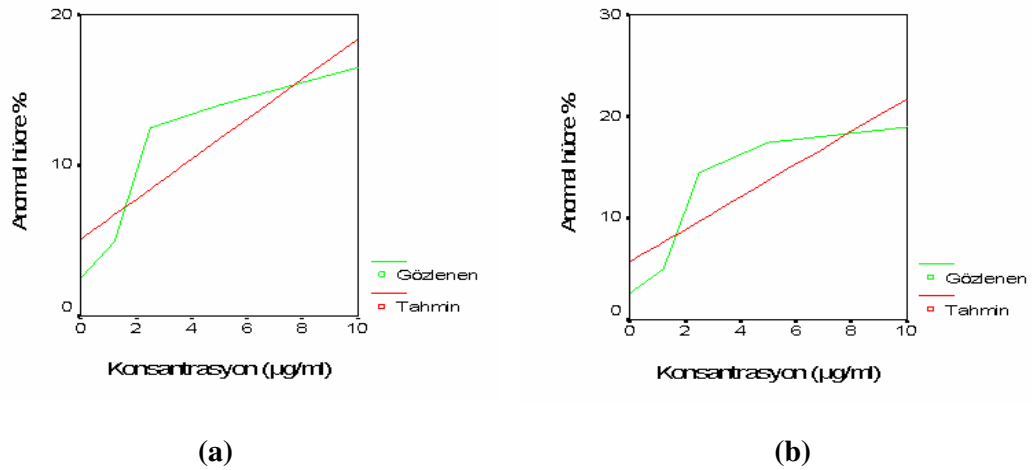
Şekil 3.4. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde KKD/hücre ve konsantrasyon arasındaki korelasyon a) 24 saatlik uygulama ($r=0,92$), b) 48 saatlik uygulama ($r=0,97$).

Lenfosit kültürlerinin Prozac ile 24 ve 48 saatlik muamelesi sonucunda anormal hücre frekansında (24 saatte $r=0,86$, 48 saatte $r=0,85$) ve hücre başına düşen kromozomal anormallik sayısında (24 saatte $r=0,74$, 48 saatte $r=0,88$) doz artışına bağlı olarak artış gözlenmiştir (Şekil 3.5 a-b ve Şekil 3.6 a-b). Bu artış her iki muamele süresi için de $2,50 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyondan itibaren istatistiksel açıdan önemlidir (Çizelge 3.2).

Prozac'ın etkisiyle insan lenfositlerinde en sık görülen kromozomal anormallikler sırasıyla kromatid kırığı, disentrik kromozom, kardeş kromatidlerde birleşme ve kromozom kırığıdır (Resim 3.2).



Resim 3.2. Prozac ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozomal anormallikler. a) Kromatid kırığı ve kromozom kırığı, b) disentrik kromozom, c) kardeş kromatidlerde birleşme



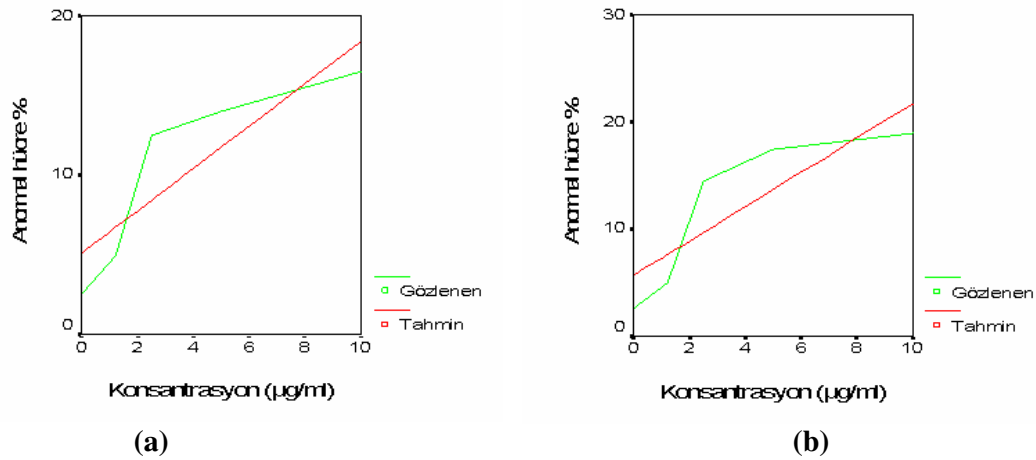
Şekil 3.5. Prozac ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde KA/hücre ve konsantrasyon arasındaki korelasyon. a) 24 saatlik uygulama ($r=0,74$), b) 48 saatlik uygulama ($r=0,88$).

Çizelge 3.2. Prozac'ın insan periferal lenfositlerinde oluşturduğu kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre frekansı ve KA/hücre sayısı

Test maddesi Prozac	Uygulama		Anormallikler				Anormal hücre $\pm$ SH (%)	KA/Hücre $\pm$ SH
	Süre (saat)	Doz (μ g/ml)	Kkb	Ktk	Dk	Kzk		
Negatif kontrol	24 h	-	2	3	-	-	2,50 $\pm$ 1,10	0,025 $\pm$ 0,011
Positif kontrol	24 h	0,10	18	15	27	9	29,50 $\pm$ 1,50	0,345 $\pm$ 0,033
Prozac	24 h	1,25	1	6	3	-	5,00 $\pm$ 2,50	0,050 $\pm$ 0,015
		2,50	5	15	8	1	12,50 $\pm$ 2,90*	0,145 $\pm$ 0,025*
		5,00	4	15	21	3	14,00 $\pm$ 2,90*	0,215 $\pm$ 0,029*
		10,00	8	18	13	4	16,50 $\pm$ 3,40*	0,215 $\pm$ 0,029*
Negatif kontrol	48 h	-	-	3	2	-	2,50 $\pm$ 1,10	0,025 $\pm$ 0,011
Positif kontrol	48 h	0,10	19	17	28	10	30,50 $\pm$ 3,21	0,370 $\pm$ 0,015
Prozac	48 h	1,25	1	3	4	2	5,00 $\pm$ 1,54	0,050 $\pm$ 0,015
		2,50	5	15	10	-	14,50 $\pm$ 2,48*	0,150 $\pm$ 0,025*
		5,00	6	16	23	-	17,50 $\pm$ 2,68*	0,225 $\pm$ 0,029*
		10,00	4	19	15	9	19,00 $\pm$ 2,77*	0,235 $\pm$ 0,029*

Kkb:Kardeş Kromatidlerde Birleşme, Dk:Disentrik Kromozom, Ktk: Kromatid kırığı, Kzk:Kromozom kırığı

* kontrole göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z test)



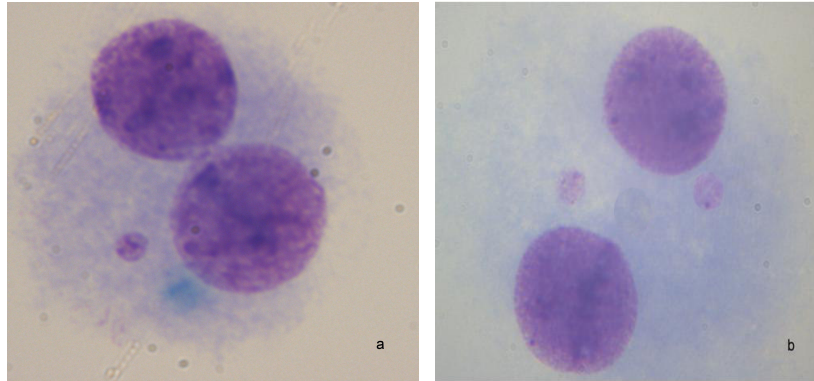
Şekil 3.6. Prozac ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde anormal hücre yüzdesi ve konsantrasyon arasındaki ilişki. a) 24 saatlik uygulama ($r=0,86$), b) 48 saatlik uygulama ($r=0,85$).

İnsan lenfosit kültürlerinde Prozac ile muamele sonucu 1-2 mikronukleuslu hücreler gözlenmiştir (Resim 3.3). Prozac antidepresan ilacının 48 saatlik uygulaması sonucunda tüm uygulama dozlarında MN/hücre sayısında artış meydana gelmiştir ($r=0,98$). Ancak bu artış sadece en yüksek doz olan 10 µg/ml’lik konsantrasyonda negatif kontrole göre anlamlıdır. Nükleer bölünme indeksi kontrolle kıyaslandığında doz arttıkça azalmıştır ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir. MN sayısı, MN taşıyan hücrelerin frekansı ve nükleer bölünme indeksi Çizelge 3.3’de verilmiştir. Şekil 3.7 mikronukleus oluşumu ile konsantrasyon arasındaki korelasyonu göstermektedir.

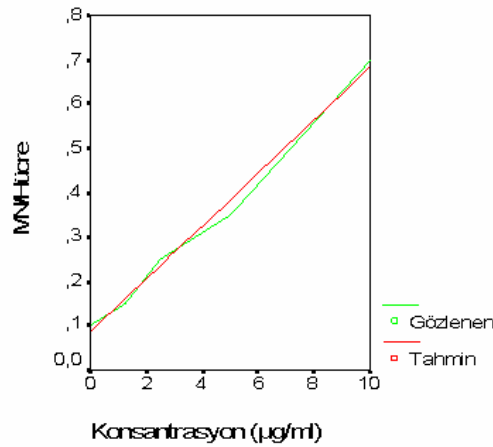
Çizelge 3.3. Prozac’ın insan periferel lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi

Test Maddesi	Uygulama		BN Hücre sayısı	MN’un sayısına göre BN hücrelerin tanımlanması		MN/Hücre	Nükleer bölünme İndeksi (CBPI)
	Süre (saat)	Doz (µg/ml)		(1)	(2)		
Negatif Kontrol	48	-	2000	2	-	0,10 ± 0,07	1,77 ± 0,42
Pozitif Kontrol (MMC)	48	0,10	2000	50	12	3,70 ± 0,42	1,38 ± 0,37
Prozac	48	1,25	2000	3	-	0,15 ± 0,08	1,73 ± 0,41
		2,50	2000	5	-	0,25 ± 0,11	1,72 ± 0,41
		5,00	2000	3	2	0,35 ± 0,13	1,64 ± 0,40
		10,00	2000	8	3	0,70 ± 0,19*	1,60 ± 0,39

*kontrolle göre $p<0,05$ düzeyinde anlamlı (z test)



Resim 3.3. Prozac ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde binükleatlarda gözlenen mikronukleus oluşumları.a) 1 mikronukleuslu b) 2 mikronukleuslu



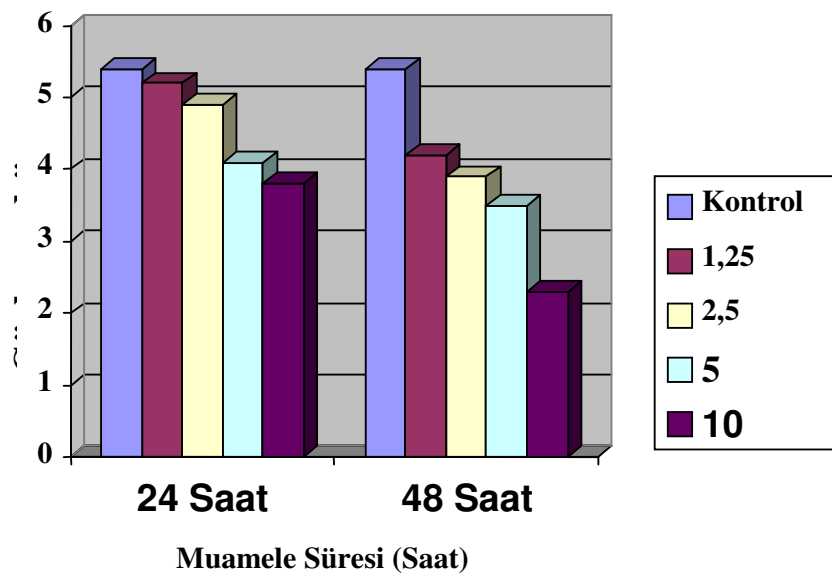
Şekil 3.7. Prozac ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde MN/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki ($r=0,98$).

3.1.2.Prozac'ın etken maddesi Fluoksetin hidroklorür'ün kültüre alınmış insan periferik lenfositleri üzerine etkisi

Fluoksetin hidroklorürün, 24 ve 48 saatlik uygulamaları sonucunda replikasyon indeksiindeki değişimler istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Replikasyon indeksi ile doz artışı arasında bir korelasyon belirlenmemiştir (24 saat için $r = -0,11$ ve 48 saat için $r = -0,31$) (Şekil 3.10). Etken madde ile 24 ve 48 saatlik muamele sonucunda mitotik indeks, doza bağlı olarak azalmıştır (24 saat için $r = -0,95$ ve 48 saat için $r = -0,76$). Bu azalma, 24 saatlik uygulamada sadece 10 µg/ml'lik dozda istatistiksel açıdan

önemli iken 48 saatlik uygulamada bütün konsantrasyonlarda önemli düzeydedir (Çizelge1.4) (Şekil 3.9). Mitotik indeks ile konsantrasyon arasındaki korelasyon, Şekil 3.8’de ve Şekil 3.9’da gösterilmiştir.

Fluoksetin hidroklorür, 24 ve 48 saatlik uygulamalarda tüm dozlarda, KKD üzerinde doza bağlı bir artışa neden olmuştur (24 saat için $r=0,92$ ve 48 saat için $r=0,98$). Bu artış bütün konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlıdır (Şekil 3.11 a-b).En düşük ve en yüksek sayıdaki KKD’ler ve hücre başına düşen KKD sayısı Çizelge 3.4’de gösterilmiştir.



Şekil 3.8. Fluoksetin hidroklorür’ün insan periferel lenfositlerinde MI üzerine etkisi

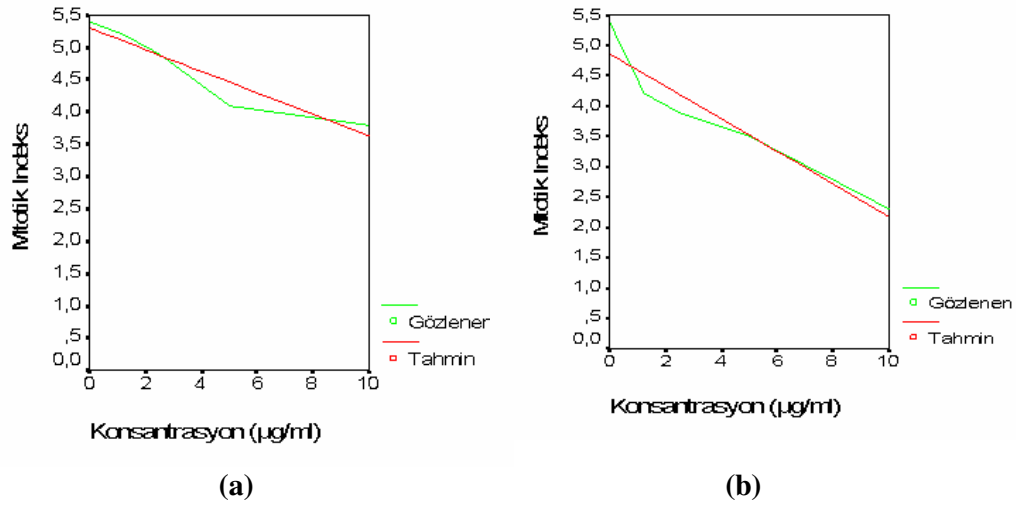
Çizelge 3.4. Fluoksetin hidroklorür'ün insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksi, mitotik indeks ve kardeş kromatid değişimine etkileri

Test maddesi Fluoksetin Hidroklorür	Uygulama		Min-max KKD	KKD/hücre $\pm$ SH	M1	M2	M3	RI $\pm$ SH	MI $\pm$ SH
	Süre (saat)	Doz (μ g/ml)							
Negatif kontrol	24 h	0,0	1-3	1,27 $\pm$ 0,10	82	52	66	1,92 $\pm$ 0,061	5,4 $\pm$ 0,051
Pozitif kontrol	24 h	0,10	8-25	12,20 $\pm$ 0,66				2,53 $\pm$ 0,049	2,7 $\pm$ 0,036
Fluoksetin	24 h	1,25	1-3	1,63 $\pm$ 0,12*	22	50	128	1,73 $\pm$ 0,057	5,2 $\pm$ 0,050
Hidroklorür		2,50	1-5	2,56 $\pm$ 0,15*	100	54	46	2,32 $\pm$ 0,054	4,9 $\pm$ 0,048
		5,00	1-6	2,64 $\pm$ 0,26*	36	64	100	1,63 $\pm$ 0,077	4,1 $\pm$ 0,044
		10,00	2-8	3,32 $\pm$ 0,26*	112	50	38	2,05 $\pm$ 0,061	3,8 $\pm$ 0,043 ^{a1}
					70	50	80		
Negatif kontrol	48 h	0,0	1-3	1,27 $\pm$ 0,10	82	52	66	1,92 $\pm$ 0,061	5,4 $\pm$ 0,051
Pozitif kontrol	48 h	0,10	9-38	14,1 $\pm$ 1,01				2,00 $\pm$ 0,061	2,5 $\pm$ 0,035
Fluoksetin	48 h	1,25	1-5	2,02 $\pm$ 0,11*	75	50	75	2,11 $\pm$ 0,057	4,2 $\pm$ 0,045 ^{a1}
Hidroklorür		2,50	1-6	3,13 $\pm$ 0,17*	56	66	78	2,31 $\pm$ 0,055	3,9 $\pm$ 0,043 ^{a2}
		5,00	1-8	4,52 $\pm$ 0,35*	38	62	100	1,97 $\pm$ 0,061	3,5 $\pm$ 0,041 ^{a2}
		10,00	3-10	6,30 $\pm$ 0,32*	76	54	70	2,19 $\pm$ 0,060	2,3 $\pm$ 0,034 ^{a2}
					56	50	94		

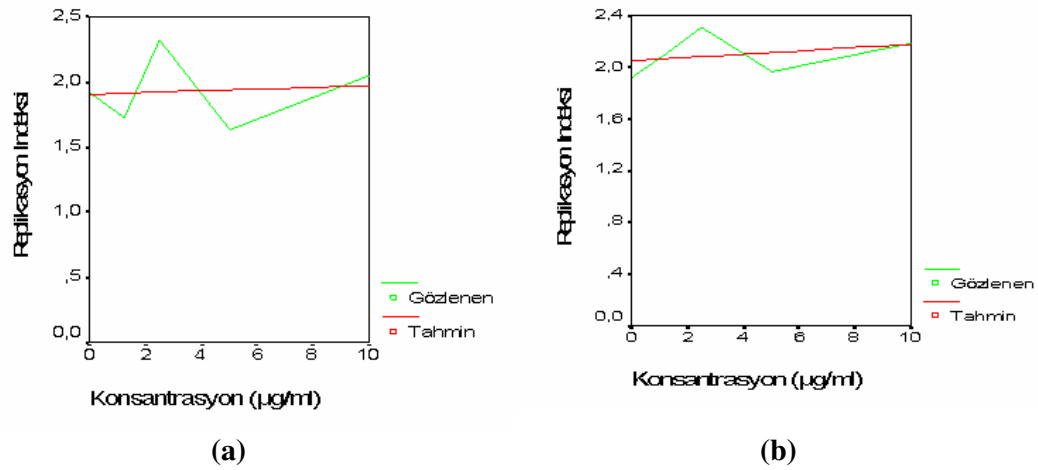
a¹ kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z test)

a² kontrole göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z test)

* kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (t-test)



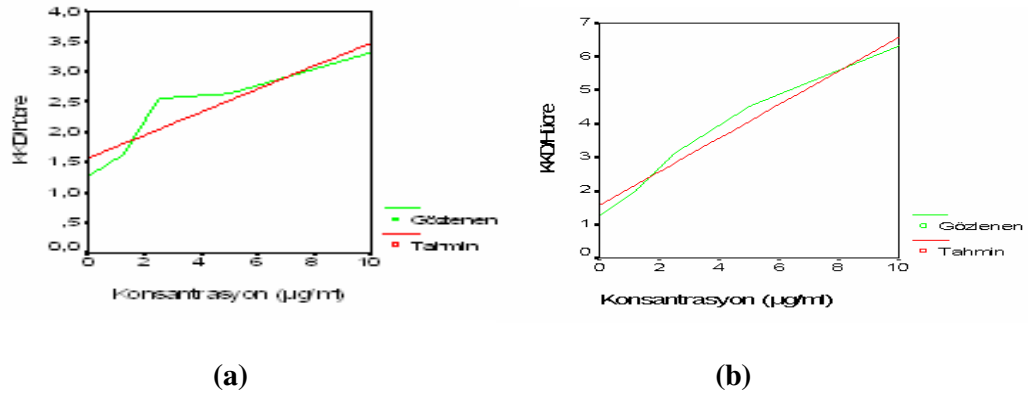
Şekil 3.9. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde mitotik indeks ve konsantrasyon arasındaki korelasyon. a) 24 saatlik uygulama ($r=-0,95$), b) 48 saatlik uygulama ($r=-0,76$).



Şekil 3.10. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde replikasyon indeksi ve konsantrasyon arasındaki ilişki. a) 24 saatlik uygulama ($r=-0,11$), b) 48 saatlik uygulama ($r=-0,31$).



Resim 3.4. Fluoksetin hidroklorür muamelesi sonucu oluşan kardeş kromatid değişimleri

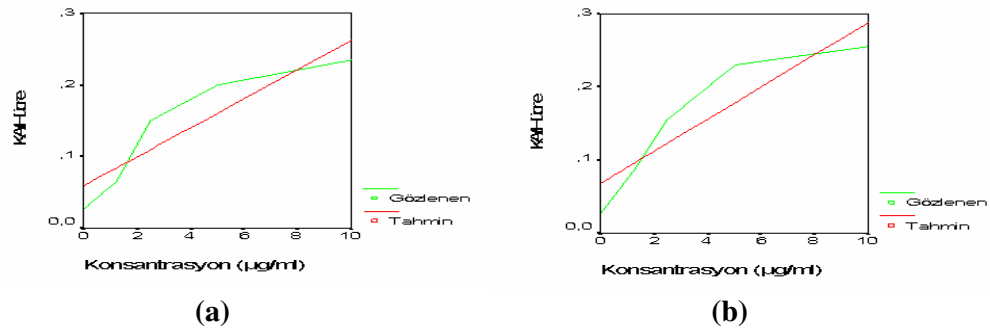


Şekil 3.11. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde KKD/hücre ve konsantrasyon arasındaki korelasyon. a) 24 saatlik uygulama (r=0,92), b) 48 saatlik uygulama (r=0,98)

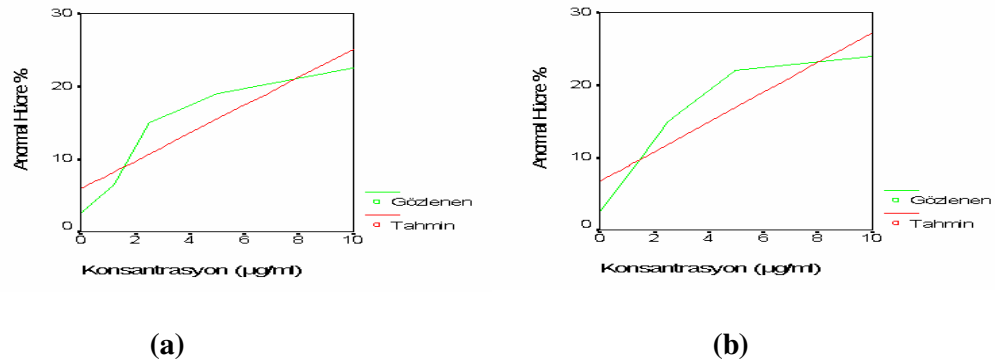
Fluoksetin hidroklorür ile 24 ve 48 saatlik uygulamalar sonucunda oluşan anormal hücre frekansı (24 saatte $r=0,90$ ve 48 saatte $r=0,90$) ve hücre başına düşen kromozomal anormallik sayısında (24 saatte $r=0,91$ ve 48 saatte $r=0,90$) doza bağlı artış gözlenmiştir. Bu artış 24 saatlik uygulama için anormal hücre frekansında ve hücre başına düşen kromozomal anormallik frekansında $2,5 \mu\text{g/ml}$ 'lik dozdan itibaren istatistiksel olarak $p<0,001$ 'e göre anlamlı iken, 48 saatlik uygulama için anormal hücre frekansı ve hücre başına düşen kromozomal anormallik frekansı $1,25$ 'lik dozda $p<0,01$ düzeyinde, $2,5 \mu\text{g/ml}$ 'lik dozdan itibaren ise $p<0,001$ düzeyinde istatistiksel yönden önemlidir. Fluoksetin hidroklorür'ün neden olduğu

kromozomal anormallikler ile anormal hücre frekansı ve KA/hücre sayısı Çizelge 3.5’de gösterilmiştir.

Fluoksetin hidroklorür’ün etkisiyle insan lenfositlerinde en sık görülen kromozomal anormallikler sırasıyla disentrik kromozom, kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme ve poliploididir. Bu anormallikler dışında yüksek dozlarda kromozom morfolojisinde bozukluklar ve kromozomlarda kontraksiyon da gözlenmiştir. Fluoksetin hidroklorür muamelesine bağlı olarak ortaya çıkan anormalliklerin fotoğrafları Resim 3.5’de gösterilmiştir.



Şekil 3.12. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde KA/hücre ve konsantrasyon arasındaki ilişki. a) 24 saatlik uygulama (r=0,91), b) 48 saatlik uygulama (r=0,90).



Şekil 3.13. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferel lenfositlerinde anormal hücre yüzdesi ve konsantrasyon arasındaki korelasyon. a) 24 saatlik uygulama (r=0,90), b) 48 saatlik uygulama (r=0,90).

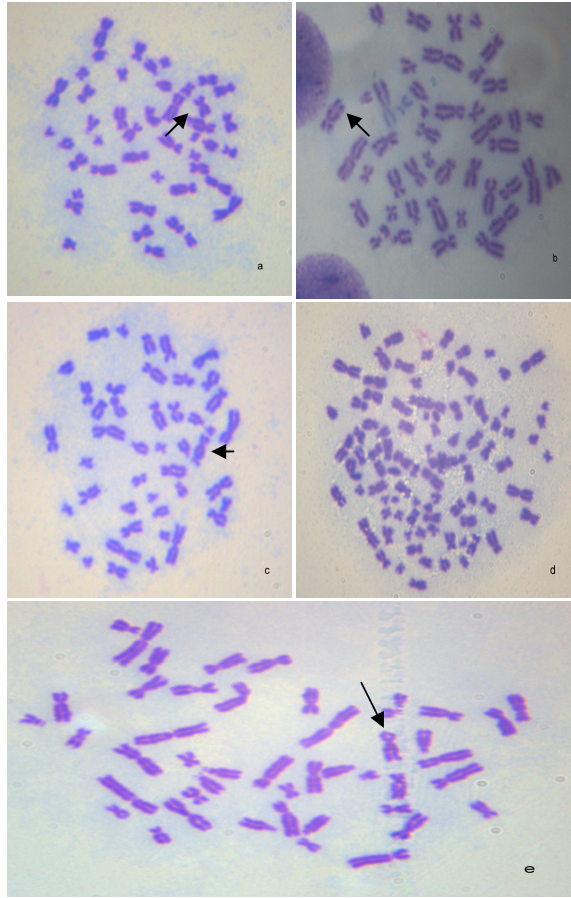
Çizelge 3.5. Fluoksetin hidroklorür'ün insan periferal lenfositlerinde oluşturduğu kromozomal anormallik tipleri, anormal hücre frekansı ve KA/hücre sayısı

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler						Anormal hücre $\pm$ SH (%)	KA/Hücre $\pm$ SH
	Süre (saat)	Doz (μ g/ml)	Kkb	Ktk	Dk	Kzk	Kd	P		
Fluoksetin Hidroklorür										
Negatif kontrol	24 h	-	-	3	2	-	-	-	2,50 $\pm$ 1,10	0,025 $\pm$ 0,011
Pozitif kontrol	24 h	0,10	10	17	25	15	3	2	34,00 $\pm$ 3,35	0,360 $\pm$ 0,034
Fluoksetin Hidroklorür	24 h	1,25	2	5	5	1	-	-	6,50 $\pm$ 1,74	0,065 $\pm$ 0,017
		2,50	2	10	12	6	-	-	15,00 $\pm$ 2,52*	0,150 $\pm$ 0,025*
		5,00	8	12	16	4	-	-	19,00 $\pm$ 2,77*	0,200 $\pm$ 0,028*
		10,00	6	11	19	9	-	2	22,50 $\pm$ 2,95*	0,235 $\pm$ 0,030*
Negatif kontrol	48 h	-	-	3	2	-	-	-	2,50 $\pm$ 1,10	0,025 $\pm$ 0,011
Pozitif kontrol	48 h	0,10	17	19	27	13	10	-	35,00 $\pm$ 3,37	0,390 $\pm$ 0,034
Fluoksetin Hidroklorür	48 h	1,25	2	3	8	4	-	-	8,50 $\pm$ 1,97 a ¹	0,085 $\pm$ 0,020a ¹
		2,50	5	8	10	8	-	-	15,00 $\pm$ 2,52*	0,155 $\pm$ 0,026*
		5,00	5	18	13	10	-	-	22,00 $\pm$ 2,92*	0,230 $\pm$ 0,029*
		10,00	7	12	17	13	1	1	24,00 $\pm$ 3,02*	0,255 $\pm$ 0,031*

Kkb:Kardeş Kromatidlerde Birleşme, Dk:Disentrik Kromozom, Ktk: Kromatid kırığı, Kzk:Kromozom kırığı, Kd:Kromatid değişimi, P:Poliploidi

* kontrole göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z test)

a¹ kontrole göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z test)



Resim 3.5. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozom anormallikleri. a) Kromatid kırığı, b) Kromozom kırığı c) Disentrik kromozom, d) Poliploidi, e) Kardeş kromatidlerde birleşme

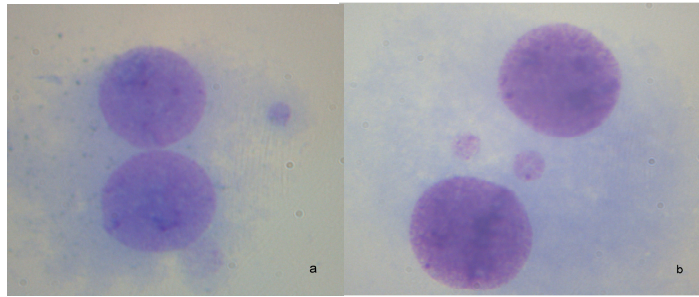
İnsan lenfosit kültürlerinde fluoksetin hidroklorür ile muamele sonucunda 1-2 arası mikronukleuslu hücreler gözlenmiştir. MN/hücre sayıları Çizelge 3.6'da ve MN oluşumlarının fotoğrafları Resim 3.6'da gösterilmiştir. Yapılan incelemede en çok bir MN içeren binükleat hücre görülmüştür. Daha sonra 2 MN içeren ve en az da 3 MN içeren binükleat hücreler sayılmıştır. Fluoksetin hidroklorür etken maddesinin 48 saatlik uygulaması sonucunda tüm uygulama dozlarında MN/hücre sayısında kontrole göre artış gözlenmiştir ($r=0,99$). Bu artış $5 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyon için negatif kontrole göre $p<0,01$ 'e göre anlamlı iken, $10 \mu\text{g/ml}$ 'lik için ise $p<0,001$ 'e göre anlamlıdır. Nükleer bölünme indeksi kontrolle kıyaslandığında doz arttıkça azalmıştır ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir. MN sayısı, MN/hücre sayısı ve nükleer bölünme indeksi Çizelge 3.6 'da verilmiştir.

Çizelge 3.6. Fluoksetin hidroklorür'ün insan periferik lenfositlerinde mikronukleus oluşumuna etkisi

Test Maddesi	Uygulama		BN hücre sayısı	MN'un sayısına göre BN hücrelerin tanımlanması			MN/Hücre	Nükleer bölünme İndeksi (CBPI)
	Süre (saat)	Doz (µg/ml)		(1)	(2)	(3)		
Negatif Kontrol	48	-	2000	2	-	-	0,10 ± 0,07	2,07± 0,45
Pozitif Kontrol (MMC)	48	0,10	2000	75	12	4	5,55 ± 0,51	1,45 ± 0,38
Fluoksetin Hidroklorür	48	1,25	2000	3	-	-	0,15 ± 0,08	1,76± 0,42
		2,50	2000	6	-	-	0,30± 0,12	1,92 ± 0,43
		5,00	2000	5	4	-	0,65 ± 0,17 a ¹	1,64 ± 0,40
		10,00	2000	9	6	-	1,05 ± 0,23*	1,68± 0,41

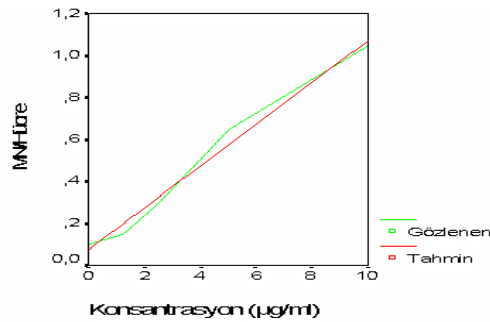
* kontrole göre p<0,001 düzeyinde anlamlı (z test)

a¹ kontrole göre p<0,01 düzeyinde anlamlı (z test)



Resim 3.6. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan lenfosit kültürlerinde binükleatlarda gözlenen mikronukleus oluşumları.a) 1 mikronukleuslu

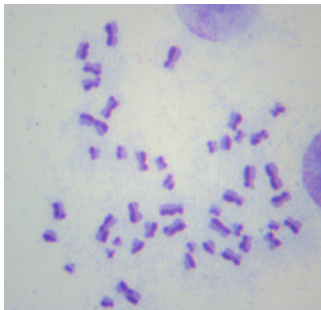
b)2 mikronukleuslu



Şekil 3.14. Fluoksetin hidroklorür ile muamele edilen insan periferik lenfositlerinde MN/hücre ve konsantrasyon arasındaki korelasyon ($r=0,99$).

3.1.3. Prozac ve Paxil antidepresan ilaçlarını kullanan hastaların lenfosit kültürlerinden elde edilen sonuçlar

Prozac ve Paxil ilaçlarını kullanan hastalar yaşlarına göre üç gruba ayrılarak bu ilaçların etkileri araştırılmıştır. Prozac ve Paxil kullanan hastaların 3 yaş grubunda da kontrolleriyle kıyaslandığında, replikasyon indeksinde gözlenen artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Prozac kullanan hastalarda mitotik indekste her üç yaş grubu için de negatif kontrolle kıyaslandığında azalma göstermiştir ancak bu azalma sadece 20-29 yaş grubunda $p<0,05$ düzeyinde anlamlı bulunmuştur. Diğer gruplardaki azalma önemli düzeyde değildir. Paxil kullanan hastalarda ise mitotik indekste 30-39 yaş grubunda $p<0,05$ düzeyinde anlamlı azalma gözlenmiştir. Prozac ve Paxil kullanan hasta gruplarının her ikisinde hücre başına düşen kardeş kromatid değişimleri sayısı incelendiğinde, her hasta grubunda artış olduğu, bunun tüm yaş gruplarında $p<0,05$ 'e göre anlamlı olduğu gözlenmiştir. (Çizelge 3.7 ve Çizelge 3.8) (Resim 3.7).



Resim 3.7. Prozac kullanan hastalara ait periferik lenfosit kültürlerinde saptanan kardeş kromatid değişimleri

Çizelge 3.7. Prozac kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde, kardeş kromatid değişimi, replikasyon indeksi ve mitotik indeks değerleri

Yaş grubu	Donör sayısı	Hastaların ilacı kullandığı süre (ay)	İncelenen hücre sayısı	Min-Mak KKD	KKD/Hücre $\pm$ SH	M ₁	M ₂	M ₃	RI $\pm$ SH	MI $\pm$ SH (%)
20-29										
Kontrol	2	-	50	0-3	0,46 $\pm$ 0,12	110	75	15	1,53 $\pm$ 0,045	4,8 $\pm$ 0,47
20-29										
Prozac	5	8-48 ay	125	0-6	0,94 $\pm$ 0,16 ^{a2}	92	124	294	2,44 $\pm$ 0,035	4,1 $\pm$ 0,28 ^{a1}
30-39										
Kontrol	2	-	50	0-4	0,67 $\pm$ 0,12	48	69	83	2,17 $\pm$ 0,056	4,5 $\pm$ 0,46
30-39										
Prozac	3	12-48 ay	75	1-5	1,23 $\pm$ 0,12 ^{a2}	36	114	150	2,38 $\pm$ 0,039	4,0 $\pm$ 0,35
40-49										
Kontrol	2	-	50	0-6	0,72 $\pm$ 0,17	25	83	92	2,33 $\pm$ 0,049	4,3 $\pm$ 0,45
40-49										
Prozac	4	12-30 ay	100	1-7	2,18 $\pm$ 0,23 ^{a2}	59	126	215	2,39 $\pm$ 0,036	3,7 $\pm$ 0,29

a¹ Kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z test)

a² Kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (t-test)

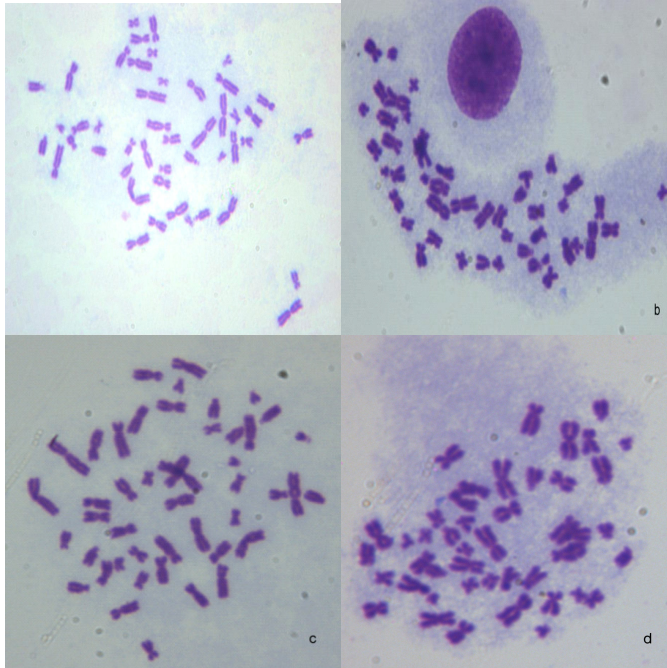
Çizelge 3.8. Paxil kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde, kardeş kromatid değişimi, replikasyon indeksi ve mitotik indeks değerleri

Yaş grubu	Donör sayısı	Hastaların ilacı kullandığı süre (ay)	İncelenen hücre sayısı	Min-Mak KKD	KKD/Hücre $\pm$ SH	M ₁	M ₂	M ₃	RI $\pm$ SH	MI $\pm$ SH (%)
20-29 Kontrol	2	-	50	0-3	0,46 $\pm$ 0,12	110	75	15	1,53 $\pm$ 0,045	4,8 $\pm$ 0,47
20-29 Paxil	1	8	25	0-5	0,94 $\pm$ 0,41 a²	3	44	53	2,50 $\pm$ 0,056	3,9 $\pm$ 0,61
30-39 Kontrol	2	-	50	0-4	0,67 $\pm$ 0,12	48	69	83	2,17 $\pm$ 0,056	4,5 $\pm$ 0,46
30-39 Paxil	5	8-48	125	1-7	1,69 $\pm$ 0,19 a²	63	192	245	2,36 $\pm$ 0,031	3,7 $\pm$ 0,26 a¹
40-49 Kontrol	2	-	50	0-6	0,72 $\pm$ 0,17	25	83	92	2,33 $\pm$ 0,049	4,3 $\pm$ 0,45
40-49 Paxil	6	8-24	150	1-8	2,00 $\pm$ 0,15 a²	89	212	299	2,35 $\pm$ 0,030	3,7 $\pm$ 0,24

a¹ Kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z test)

a² Kontrole göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (t-test)

Prozac kullanan hasta gruplarında dört tip anormallik gözlenmiştir. Bu anormallikler görülme sıklığına göre disentrik kromozom, kromatid kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme ve kromozom kırığıdır. Anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik sayısı negatif kontrolleriyle karşılaştırıldığında, tüm yaş gruplarında artış göstermiştir. Bu artış anormal hücre frekansı için, hiçbir yaş grubunda istatistiksel olarak önemli değildir. Hücre başına düşen anormallik sayısı bakımından 30-39 yaş arasındaki kişilerde, istatistiksel açıdan önemli bir artış gözlenmiştir (Çizelge 3.9) (Resim 3.8). Benzer şekilde Paxil kullanan tedavi altındaki bireylerde de anormal hücre frekansı ve hücre başına düşen anormallik sayısında, kontrollere nazaran bir artış saptanmıştır. Anormal hücre frekansındaki artış Paxil ile tedavi gören hiçbir yaş grubunda kontrole göre anlamlı değilken, hücre başına düşen anormallik, 20-29 yaş grubunda $p<0,05$ düzeyinde önemlidir. En sık rastlanan anormallikler ise sırasıyla kromatid kırığı, disentrik kromozom, kardeş kromatidlerde birleşme ve kromozom kırığıdır (Çizelge 3.10).



Resim 3.8. Prozac ve Paxil kullanan hastalara ait periferik lenfosit kültürlerinde gözlenen kromozomal anormallikler. a) kromozom kırığı(Prozac), b) kromatid kırığı (Prozac), c) disentrik kromozom (Paxil), d)kardeş kromatidlerde birleşme (Paxil).

Çizelge 3.9. Prozac kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde, gözlenen kromozomal anormallikler

Yaş grubu	Donör sayısı	Hastaların kullandığı süre (ay)	ilacı	İncelenen sayısı	hücre	Anormallikler			Dk	Anormal Hücre $\pm$ SH (%)	KA/Hücre $\pm$ SH
						Ktk	Kzk	Kkb			
20-29 Kontrol	2	-		200		3	-	2	-	2,50 $\pm$ 0,01	0,025 $\pm$ 0,01
20-29 Prozac	5	8-48		500		10	1	8	6	4,40 $\pm$ 0,01	0,050 $\pm$ 0,09
30-39 Kontrol	2	-		200		3	-	-	2	2,50 $\pm$ 0,01	0,025 $\pm$ 0,01
30-39 Prozac	3	12-48		300		8	2	2	8	5,70 $\pm$ 0,01	0,066 $\pm$ 0,01*
40-49 Kontrol	2	-		200		3	1	1	1	3,00 $\pm$ 0,01	0,030 $\pm$ 0,01
40-49 Prozac	4	12-30		400		5	3	3	12	5,30 $\pm$ 0,01	0,057 $\pm$ 0,01

Kkb:Kardeş Kromatidlerde Birleşme, Dk:Disentrik Kromozom, Ktk: Kromatid kırığı, Kzk:Kromozom kırığı

*Kontrole göre $p<0,05$ düzeyinde anlamlı (z test)

Çizelge 3.10. Paxil kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde, gözlenen kromozomal anormallikler

Yaş grubu	Donör sayısı	Hastaların ilacı kullandığı süre (ay)	İncelenen hücre sayısı	Anormallikler				Anormal Hücre $\pm$ SH (%)	KA/Hücre $\pm$ SH
				Ktk	Kzk	Kkb	Dk		
20-29 Kontrol	2	-	200	3	-	2	-	2,50 $\pm$ 0,01	0,025 $\pm$ 0,01
20-29 Paxil	1	8	100	6	1	1	-	7,0 $\pm$ 0,03	0,080 $\pm$ 0,03*
30-39 Kontrol	2	-	200	3	-	-	2	2,50 $\pm$ 0,01	0,025 $\pm$ 0,01
30-39 Paxil	5	8-48	500	8	1	3	13	4,20 $\pm$ 0,01	0,050 $\pm$ 0,01
40-49 Kontrol	2	-	200	3	1	1	1	3,00 $\pm$ 0,01	0,030 $\pm$ 0,01
40-49 Paxil	6	8-24	600	13	3	5	11	4,50 $\pm$ 0,01	0,053 $\pm$ 0,01

Kkb:Kardeş Kromatidlerde Birleşme, Dk:Disentrik Kromozom, Ktk: Kromatid kırığı, Kzk:Kromozom kırığı

*Kontrolle göre p<0,05 düzeyinde anlamlı (z test)

Prozac ve Paxil kullanan hastalarda MN/hücre sayısı kontrolle karşılaştırıldığında bazı yaş gruplarında artış gözlenmekle birlikte, bu artış hiçbir yaş grubunda istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır. Bazı yaş gruplarında ise hem hasta ve hem de kontrollerde gözlenen değerler aynı çıkmıştır.

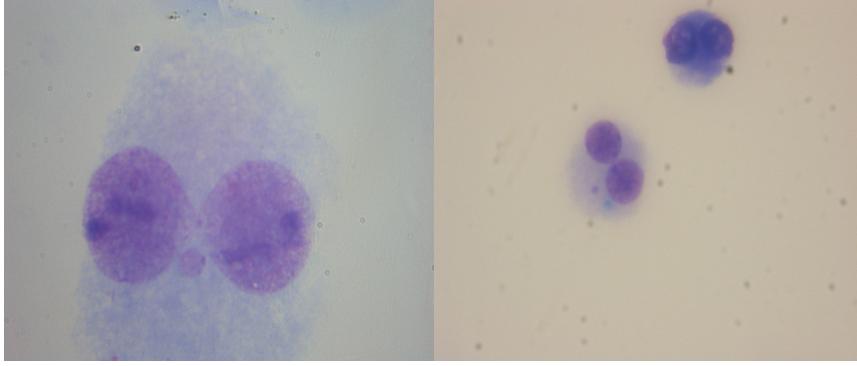
Çizelge 3.11. Prozac kullanan hastalara ait insan lenfosit kültürlerinde mikronukleus oluşumu

Yaş Grubu	Donör Sayısı	Hastaların ilacı kullandığı süre (ay)	BN hücre sayısı	MN sayısına göre BN hücrelerin tanımlanması (1)	MN/hücre	Nükleer bölünme İndeksi (CBPI)
20-29 Kontrol	2	-	2000	2	0,10 ± 0,07	1,60±0,39
20-29 Prozac	5	8-48	5000	6	0,12±0,05	1,59±0,25
30-39 Kontrol	2	-	2000	1	0,05±0,04	1,55±0,39
30-39 Prozac	3	12-48	3000	3	0,10±0,06	1,57±0,32
40-49 Kontrol	2	-	2000	2	0,10 ± 0,07	1,64±0,40
40-49 Prozac	4	12-30	4000	4	0,10±0,05	1,57±0,27

Çizelge 3.12. Paxil kullanan hastalara ait lenfosit kültürlerinde mikronukleus oluşumu

Yaş Grubu	Donör Sayısı	Hastaların ilacı kullandığı süre (ay)	BN hücre sayısı	MN sayısına göre BN hücrelerin tanımlanması (1)	MN/hücre	Nükleer bölünme İndeksi (CBPI)
20-29 Kontrol	2	-	2000	2	0,10 ± 0,07	1,60±0,39
20-29 Paxil	1	8	1000	1	0,10±0,09	1,61±0,56
30-39 Kontrol	2	-	2000	1	0,05±0,04	1,55±0,39
30-39 Paxil	5	8-48	5000	3	0,06±0,04	1,58±0,25
40-49 Kontrol	2	-	2000	2	0,10 ± 0,07	1,64±0,40
40-49 Paxil	6	8-24	6000	6	0,10±0,04	1,65±0,23

Prozac kullanan hastalarda nükleer bölünme indeksi incelendiğinde, 20-29 ve 40-49 yaş gruplarında bir azalma olmakla beraber, bunun önemli olmadığı görülmektedir. Benzer şekilde Paxil kullanan hastalarda, nükleer bölünme indeksindeki değişimler, istatistiksel açıdan önemli değildir.



Resim 3.9. Prozac ve Paxil kullanan hastalara ait periferik lenfosit kültürlerinde binükleatlarda gözlenen mikronukleus oluşumları

4. SONUÇ VE ÖNERİLER

Depresif bozukluklar, genetik, biyolojik ve çevresel pek çok faktöre bağlı olarak ortaya çıkan ve oldukça yaygın rastlanan hastalıklardandır. Paxil ve Prozac, depresyon tedavisinde en sık reçete edilen ilaçlardır [58]. İnsanlarda ve hayvanlarda yapılan bazı çalışmalara göre, tıbbi tedavide antidepresan kullanımı ile göğüs kanseri arasında az da olsa bir ilişki olduğu rapor edilmiştir [31]. SSRI grubu ilaçlarla deney hayvanları kullanılarak yapılan çalışmalardan bu ilaçların genotoksik olmadığı belirtilse de insan hücre sistemlerinde SSRI grubunun invitro testleriyle ilgili çalışmalar halen yetersizdir [54]. Bu çalışma, Paxil ve Prozac'ın genotoksik etkili olup olmadığını, kromozom anormallikleri, kardeş kromatid değişimi ve mikronukleus testleriyle belirlemek amacıyla yapılmıştır. Çalışma, iki yönlü olarak yürütülmüştür. Bir yandan Paxil ve Prozac antidepresan ilaçlarını kullanan hastalarda, bu ilaçların genetik etkisi periferal lenfositlerde in vivo- in vitro koşullarda incelenmiştir. Diğer yanda Prozac ve Prozac'ın etken maddesi olan Fluoksetin hidroklorürün genetik etkisi, sağlıklı bireylerden alınan periferal kan lenfositlerinde in vitro koşullarda incelenmiştir.

Kromozom anormalliği testi, kromozom veya kromatid kırıklarının, değişimlerinin, yeniden düzenlenmelerinin, translokasyon, inversiyon ve köprülerin frekansını belirler. Kromozom anormalliklerindeki artış, klastojenitenin bir göstergesi olup, bu da genetik hastalıkları ve kanser riskini artırır [65].

KKD frekansının ve kardeş kromatid değişiminin yüksek sıklıkta olduğu hücrelerin saptanması, mutajenik ve karsinojenik ajanların klastojenik potansiyelinin belirlenmesinde hassas bir göstergedir. KKD, yeni eşlenmiş kromatid ve bunun kardeşi kromatidi arasında karşılıklı değişimlerle sonuçlanan S fazıyla ilişkili bir tamir işlemidir [54]. KKD'nin moleküler mekanizması tam olarak bilinmemekle birlikte, DNA'daki hataların ve yanlış DNA onarımlarının KKD'ye neden olduğu düşünülmektedir. Buradaki tamir işlemi, homolog rekombinasyon yoluyla yapılmaktadır, fakat burada homolog olmayan uçların birleşmesiyle onarım mekanizması da görev yapmaktadır. Bu ikinci mekanizma, yüksek düzeyde sekans

(DNA dizisi) homolojisi gerektirmeden kırık olan komşu DNA uçlarını tamir ederken (birbiriyle birleştirirken), homolog rekombinasyon mekanizması, tamir işlemini gerçekleştirebilmek için tam bir homolog sekansa ihtiyaç göstermektedir. [54,59]

Mikronukleus testi de genotoksik ya da genotoksik olmayan kimyasalları saptamada kullanılan metodlardandır. Kullanılan ajanın etkisiyle ortaya çıkan bütün bir kromozom veya kromozom kırıkları, bu yöntem ile tespit edilmektedir [34].

Bu araştırmada, Prozac'ın ve bunun etken maddesi fluoksetin hidroklorürün insan lenfosit kültürlerine uygulanması için dozlar belirlenirken LD50 değerleri dikkate alınmıştır [33]. Bu değer dikkate alınırken, Prozac'ın etken maddesi fluoksetin hidroklorürün faredeki LD50 değeri olan 248 mg/kg'a bağlı olarak , ilacın içinde bulunan etken madde miktarı da hesaplanmış ve Prozac'ın ve fluoksetin hidroklorür'ün uygulama dozları LD50/25, LD50/50, LD50/100 ve LD50/200'lük konsantrasyonları 10, 5, 2,5 ve 1,25 µg/ml olarak belirlenmiştir. Negatif kontrol için kültüre hiçbir madde eklenmemiş ve pozitif kontrol için kültüre mitomycin-C (MMC) eklenmiştir.

Bu araştırmada kültürdeki memeli hücrelerinin hücre siklusu yaklaşık 24 saat olduğundan, ikinci ve üçüncü mitozların gözlenebilmesi amacıyla inkübasyon süresi 72 saat olarak belirlenmiştir. İlaçların genotoksik potansiyellerini saptamak amacıyla insan lenfosit kültürleri kullanılarak yapılan araştırmalarda, etkisi araştırılacak kimyasalın muamele süresi belirlenirken, hücre siklusu dikkate alınarak ve bu süreler 24 saat veya 48 saat olarak uygulanmıştır [33].

Bu çalışmada KA ve KKD testleri için Prozac ilacının uygulama süresi 24 ve 48 saat olarak belirlenmiş, böylece ilacın sırasıyla 1 ve 2 hücre siklusu boyunca kültürde kalması sağlanmıştır. MN çalışması için ise muamele süresi 48 saat olarak uygulanmıştır.

Seçilen uygulama dozları, insan lenfosit kültürlerine 24 ve 48 saatlik sürelerde uygulanmış ve her bir doz için erkek ve dişi bireylere ait preparatlardan her birinden 1000 hücre sayılarak metafaz evresindeki hücrelerin sayısının belirlenmesiyle mitotik indeks hesaplanmıştır.

Prozac, konsantrasyon ve süre artışına bağlı olarak mitotik indeksi düşürmüştür (24 saatte $r=-0,95$, 48 saatte $r=-0,80$). 24 saatlik uygulamada, bütün dozlar negatif kontrole göre MI'ı düşürmüştür. Ancak bu düşüş sadece 10 $\mu\text{g/ml}$ 'lik dozda önemli düzeydedir. 48 saatlik uygulamada ise bütün uygulama dozları, MI'ı negatif kontrole göre önemli düzeyde düşürmüştür. Sonuçlara göre Prozac, hücre bölünmesini engelleyici etkiye yani sitotoksik etkiye sahiptir. Prozac'ın etken maddesi fluoksetin hidroklorür de, mitotik indeksi doza bağlı olarak düşürmüştür (24 saat için $r=-0,95$ ve 48 saat için $r=-0,76$). Burada da Prozac'ın 24 saatlik uygulamasında olduğu gibi, sadece 10 $\mu\text{g/ml}$ 'lik dozda önemli bir azalma meydana gelmiştir. 48 saatlik uygulamada ise, Prozac'ta olduğu gibi, uygulanan bütün konsantrasyonlar, MI'ı anlamlı düzeyde düşürmüştür. Bu sonuçlar, hem Prozac'ın hem de etken maddesi fluoksetin hidroklorürün aynı konsantrasyonlarının MI'te benzer etkiler oluşturduğunu ve her ikisinin de, özellikle uzun süre kullanımının sitotoksik olduğunu göstermektedir.

Prozac'ı tedavi amaçlı kullanan kişilerin lenfosit kültürlerindeki MI değerleri de, kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında bir düşüş göstermiştir. Ancak bu düşüş, sadece 20-29 yaş grubunda anlamlıdır. Benzer şekilde, Paxil kullanan hastalarda da, MI, kontrol gruplarına nazaran bir azalma göstermiştir. Ancak burada sadece 30-39 yaş grubundaki anlamlı düzeydedir. Bu sonuçlar, her iki ilacın da MI'de azalmaya neden olduğunu yani sitotoksik olduğunu ancak bunun, önemli düzeyde olmadığını göstermektedir. Fakat, burada değerlendirilen hasta sayılarının çok fazla olmamasından dolayı da böyle bir sonuca varılmış olabilir. Paxil'in en etkili olduğu yaş grubundaki hastalar, bu ilacı 8-48 aydır kullanan, yani bu grup içerisinde en uzun süre kullanan grup olması nedeniyle de bu gruptaki kişilerde MI değeri önemli düzeyde düşük çıkmış olabilir. Prozac kullanan hastalar değerlendirildiğinde, MI'in önemli düzeyde düşüş gösterdiği 20-29 yaş grubunda ilaç 8-48 aydır

kullanılmaktadır. İlacı 12-48 aydır kullanan 30-39 yaş grubundaki azalma önemli düzeyde değildir. Bu da, büyük olasılıkla, ilacı kullanan kişilerin çoğunun (2/3) 48 aydan daha kısa süredir bu ilacı kullanıyor olmalarından kaynaklanabilir. Buradaki farklılığın bir başka nedeni de, insanların taşıdığı genler, özellikle vücuda alınan ilaçları metabolize eden enzimlerden sorumlu olan gen veya genlerin farklılığından da kaynaklanabilir [54].

Mitotik indeksteki azalma, hücrelerin mitotik girmesini sağlayan G2 safhasının engellenmesine ya da ATP seviyesinde azalma ve enerji üretim merkezindeki bozukluğa bağlanmaktadır. Mitotik indeksteki düşüşün diğer nedenleri arasında DNA sentezinin engellenmesi, DNA sentezi için gerekli ve iç oluşumundan sorumlu olan enzimlerin baskılanması ve G2 periyodunun uzaması da gösterilmektedir [60]. Mitotik indeksin doz ve süreye bağlı olarak azaldığı ilaçlarla ilgili başka çalışmalar da mevcuttur. Viral enfeksiyonların ve bazı tümörlerin tedavisinde kullanılan kanser ilacı gemcitamine, insan periferik lenfositlerinde tüm dozlarda mitotik indeksi anlamlı düzeyde düşürmüştü ve bu bulgulardan ilacın sitotoksik etkili olduğu sonucuna varılmıştır [59]. Antimikrobiyal bir ilaç megazol ile yapılan bir çalışmada, enrofloksasin ve metaboliti siprofloksasin ile yapılan bir başka çalışmadaki sonuçlara benzer şekilde, mitotik indeks doz artışına bağlı olarak önemli oranda azalmış, mitotik bölünme üzerindeki etkilerinden dolayı ilaçlar sitotoksik bulunmuştur [37,46]. Prazikuantel antiparazitik ilacı ve antibiyotik olarak kullanılan spiramisin ile gerçekleştirilen bir çalışmada ise mitotik indeksin doz artışından etkilenmediği bulunmuştur [61,62].

İlaç ve etken maddenin sitotoksik etkilerinin saptanmasında yararlanılan diğer bir test replikasyon indeksi olup hücre siklusu kinetiklerinin ölçülmesinde kullanılır. Replikasyon indeksinin saptanmasında, her bir birey için 1.mitotik (M1), 2.mitotik (M2) ve 3.mitotik (M3) bölünme geçiren toplam 100 hücre incelenmiştir. Prozac'ın 24 ve 48 saatlik uygulamaları, replikasyon indeksi üzerinde doza bağlı olarak düşmeye neden olsa da (24 saat için $r = -0,68$ ve 48 saat için $r = -0,41$), bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir. Prozac'ın etken maddesi olan fluoksetin hidroklorürün, 24 ve 48 saatlik uygulamalar sonucunda da replikasyon indeksindeki değişimler istatistiksel

olarak anlamlı bulunmamıştır (24 saat için $r = -0,11$ ve 48 saat için $r = -0,31$). Yaş gruplarına göre Prozac ve paxil ilaçlarını kullanan hastalardaki RI, kontrolleriyle kıyaslandığında buradaki artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Bir kanser ilacı olan gemsitaminin doza bağlı olarak replikasyon indeksinde ve mitotik indekste anlamlı düzeyde düşüşe neden olduğu ve dolayısıyla sitotoksik olduğu belirlenmiştir [59]. Spiramisin antibiyotiğinin ise, sadece 48 saatlik uygulamasında tüm dozlarda replikasyon indeksinde düşmeye neden olduğu, mitotik indeksi ise etkilemediği ve sitotoksik olmadığı saptanmıştır [62]. Fungisit olarak kullanılan afugan ile yapılan bir araştırmada ise, ilacın replikasyon indeksini etkilemediği bulunmuştur [60].

Mutajenite ve karsinojenitenin saptanmasında kullanılan hassas metodlardan biri de kardeş kromatid değişimi (KKD=SCE) testidir. KKD'nin saptanması için bu araştırmada erkek ve dişi bireylere ait preparatların her birinden 2. mitoz (M2) bölünmeyi geçiren 25 hücre incelenmiştir. Prozac'ın 24 ve 48 saatlik muamelelerinde KKD/hücre sayısında doza bağlı olarak artışlar saptanmıştır. Bu artış 48 saatte tüm dozlarda, 24 saatlik uygulamada ise 1,25 µg/ml'lik doz hariç diğer tüm dozlar için önemli düzeydedir. KKD/hücre ile konsantrasyon arasında kuvvetli bir korelasyon vardır (24 saatte $r = 0,92$, 48 saatte $r = 0,97$). Fluoksetin hidroklorür de hem 24 saat hem de 48 saatlik uygulamalarda KKD/hücre sayısında doza bağlı artışa neden olmuş, bu artış tüm dozlar için anlamlıdır (24 saat için $r = 0,92$ ve 48 saat için $r = 0,98$). Prozac ve paxil kullanan hasta gruplarının her ikisinde de hücre başına düşen kardeş kromatid değişimleri sayısı kontrol gruplarıyla karşılaştırıldığında her yaş grubunda anlamlı bir artış olduğu gözlenmiştir. Gerek Prozac ve etken maddesi fluoksetin hidroklorürün insan lenfosit kültürlerinde ve gerekse Prozac ve Paxil'i tedavi amaçlı kullanan kişilerin lenfositlerinde, kontrol gruplarına göre anlamlı derecede KKD gözlenmesi, bu ilaçların genetik materyalde mutasyona neden olduğu yani mutajenik olduğunu göstermektedir.

KKD oluşumunda DNA'nın çift ipliği kırılır ve özdeş DNA molekülleri arasında değişim gerçekleşir. Bir kimyasalın KKD frekansında artışa neden olması, onun replikasyon mekanizmasını etkileyerek DNA hasarı oluşturabildiğinin göstergesidir. Klastojenlerin ve klastojenik aktivitenin belirlenmesinde KKD testi hassas bir

metoddur. KKD sıklığı sadece test edilen genotoksik ajandan değil, aynı zamanda DNA replikasyonunu etkileyebilen enzimler gibi endojen ajanlar, oksidatif stres ve bireyler arasındaki genetik çeşitlilik gibi faktörlerden de kaynaklanabilir [52].

İlaçlar ve ilaçları kullanan hastalarda yapılan KKD testi ile ilgili pek çok araştırma mevcuttur. Öztürk ve arkadaşları, miyelodisplastik sendromlu 16 hastayla yaptıkları bir araştırmada KKD'nin kontrole göre anlamlı düzeyde arttığını gözlemişlerdir. DNA hasarı göstergesi olan KKD'deki bu artışın hastalığın ilerlemesinde rol oynayabileceği sonucuna varmışlardır [47]. El-Zein ve arkadaşları, hiperaktivite ve dikkat dağınıklığında kullanılan bir ilaç olan metilfenidat tedavisi gören 12 çocukla yapmış oldukları bir çalışmada, bu ilacın mutajenite ya da kanserojenite ile bağlantısının olup olmadığını araştırmış ve KKD/hücre sayılarında önemli artış olduğunu gözlemişlerdir. Araştırmacılar bu durumun kanser riskini artırdığı sonucuna varmışlardır [51]. Wu ve Wu 53 florozisli hastanın lenfositlerinde KKD testi uyguladıklarında kontrol gruplarına göre KKD sayısının anlamlı derecede yüksek olduğunu saptamışlardır. Bu sonuçlardan florozisli hastalarda DNA'nın ciddi şekilde hasar gördüğü sonucuna varmışlardır. Florinin DNA ve kromozom hasarına yol açan mutajenik bir ajan olduğunu bildirmişlerdir [45]. KKD/hücre'deki artışların anlamlı bulunduğu diğer araştırmalara antimikrobiyal olarak kullanılan enroflaksasin [46] ve sulfametoksazol [38] örnek verilebilir. Bigatti ve arkadaşları psikiyatri bölümünde 18'i lityum karbonat ve 18'i de benzodiazepin ilaçları ile tedavi gören 36 hasta ile yaptıkları çalışmada her iki grupta da kromozom aberasyon oranındaki artışın önemli derecede anlamlı olduğunu, en sık görülen anormalliklerin disentrik kromozom ve kromatid değişimi olduğunu ve hücre başına düşen KKD frekansında da anlamlı oranda artış olduğunu, ancak her iki grup arasındaki aberasyon ve KKD/hücre frekansı arasında bir farklılık olmadığını saptamışlardır [53]. Psikiyatrik bozuklukların tedavisinde kullanılan ve çalışmamızda adı geçen Paxil ve Prozac ilaçları gibi ÖSGE grubuna ait olan sertralin antidepresan ilacını kullanan hastalarda, bu ilacın klastojenik etkisinin olup olmadığını belirlemek amacıyla KKD ve KA testleri kullanılarak bir araştırma yapılmıştır. Bu araştırmada, depresyon tedavisi için sertralin kullanan 10 kişi, bu hastalarla aynı psikolojik şikayeti olan ama tedavi görmeyen 18 hasta ve 18 sağlıklı bireye ait periferik kan örnekleri incelendiğinde,

sağlıklı kontrollerle hasta kanları karşılaştığında KKD frekansında anlamlı bir artış görülmüşken, depresyon hastalığı olup ilaç kullanmayan bireylerle karşılaştırıldığında ise KKD frekansında fark görülmemiştir. Bu sonuçlara göre ilacın genotoksik olduğu yorumu yapılmıştır. Ayrıca kontrol ve hasta grubu arasındaki KKD frekansı farklılığının ilacın dışında, hastalığın da uzun süren stresten kaynaklanabileceği sonucuna varılmıştır [54].

Trisiklik antidepresan grubundan desipramin ve imipramin ilaçları kullanılarak fare kemik iliğinde in vivo olarak KKD testi uygulanmış ve her iki ilaç da doza bağlı olarak KKD frekansını anlamlı düzeyde arttırdığından bu ilaçların genotoksik olduğu belirlenmiştir [63]. Pek çok psikiyatrik ilacın çeşitli test sistemleri ile in vivo ve in vitro olarak genotoksisite testi yapılmıştır. Ancak sonuçlar birbiriyle çelişkilidir. Örneğin diazepam olarak da bilinen antipsikotik ilaç benzodiazepin ile ilgili çok sayıda genotoksisite testi yapılmıştır. Bu ilacın genotoksik etkili olduğuna dair hem negatif ve hem de pozitif sonuçlar elde edilmiştir. KKD ve CA frekansındaki artış, kesin olarak DNA'da hasar oluştuğunun göstergesidir. Bu nedenle bu iki metod, genotoksik maddelere maruz kalan insanlarda uygulanan en hassas ve en kullanışlı metoddur.

İlaçların genotoksisite potansiyelinin belirlenmesinde sıkça kullanılan diğer bir metod, kromozom anormallikleri metodudur. Mitoz bölünmenin metafaz aşaması, kromozomlardaki kırılmaların ve yeniden düzenlenmelerin gözlemlendiği safhadır. Kromozomal aberasyon tekniğinde hücreler kolşisin eklenmesi sonucu metafazda tutulur ve böylece kromozomların kolayca gözlenebilmesi sağlanır. Prozac insan lenfosit kültürlerinde hem 24 ve hem de 48 saatlik uygulamalarda, negatif kontrole göre, anormal hücre frekansı ve KA/hücre sayısında artışa neden olmuştur. Bu artış, 1,25 µg/ml'lik dozun dışındaki diğer tüm dozlarda anlamlıdır. Prozac uygulaması sonucunda disentrik kromozom, kromatid kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme ve kromozom kırığı olmak üzere dört tip anormallik gözlenmiştir. Buna ilave olarak, özellikle en yüksek dozda olmak üzere kromozomlarda kontraksiyon ve morfolojik bozukluklar da görülmüştür. Prozac'ın etken maddesi fluoksetin hidroklorür de anormal hücre frekansında ve hücre başına düşen anormallik sayısında hem 24 ve

hem de 48 saatlik uygulamada, negatif kontrole nazaran doza bağılı artışa yol açmıştır. 24 saatlik uygulamada, 1,25 µg/ml'lik dozun dışındaki tüm uygulamalarda anormal hücre frekansı ve KA/hücre sayısı anlamlı düzeyde artmıştır. 48 saatlik uygulamadaki KA frekansı ve KA/hücre sayısı, tüm dozlarda anlamlı şekilde artmıştır. Fluoksetin hidroklorür'ün etkisiyle insan lenfositlerinde en sık görülen kromozomal anormallikler sırasıyla disentrik kromozom, kromatid kırığı, kromozom kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme ve poliploididir. Prozac kullanan hasta gruplarında dört tip anormallik gözlenmiştir. Bu anormallikler görülme sıklığına göre disentrik kromozom, kromatid kırığı, kardeş kromatidlerde birleşme ve kromozom kırığıdır. Anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik sayısı negatif kontrolleriyle karşılaştırıldığında, tüm yaş gruplarında artış göstermiştir. Ancak bu artış sadece hücre başına düşen anormallik sayısında, 30-39 yaş grubunda, istatistiksel açıdan önemli düzeydedir. Paxil kullanan hasta gruplarında da görülme sıklığına göre kromatid kırığı, disentrik kromozom, kardeş kromatid birleşmesi ve kromozom kırığı oluşumu olmak üzere 4 tip anormallik gözlenmiştir. Tüm yaş gruplarında anormal hücre frekansının ve hücre başına düşen anormallik sayısının kontrolle kıyaslandığında artmış olduğu belirlenmiştir. Ancak anormal hücre frekansındaki artış hiçbir yaş grubunda anlamlı değildir. Hücre başına düşen anormallik sayısı 20-29 yaş grubunda anlamlı bulunmuştur.

Prozac ve etken maddesi fluoksetin hidroklorür, insan periferik lenfositlerinde anormal hücre frekansını ve hücre başına düşen anormallik sayısını kontrollerle kıyaslandığında doza bağılı olarak arttırmıştır. Bu artış istatistiksel olarak önemli düzeyde anlamlıdır. Tüm bu sonuçlar dikkate alındığında Prozac ve etken maddesi fluoksetin hidroklorür, kromozomlarda önemli düzeyde anormalliklere neden oluşu hem bu ilacın hem de etken maddesinin klastojenik olduğunu göstermektedir.

Prozac kullanan hastalarda, anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik sayısı negatif kontrollerle kıyaslandığında bütün yaş gruplarında artmıştır ancak sadece 30-39 yaş grubunda hücre başına düşen anormallik sayısı istatistiksel olarak önemlidir. Bu yaş grubundaki bireyler kullanım süresi itibariyle ilaca daha uzun süre (12-48 ay) maruz kalmıştır. Ayrıca bu yaş grubunun kendi içinde, ilaca daha uzun

süre maruz kalan bireylerde (48 ay), kromozomal anormallik sayısı daha fazladır. Paxil kullanan hastalarda da aynı şekilde tüm yaş gruplarında kontrollere nazaran anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik sayısında artış olduğu belirlenmiştir. Ancak sadece hücre başına düşen anormallik sayısındaki artış istatistiksel olarak 20-29 yaş grubunda anlamlı bulunmuştur. Bu yaş grubu ilacı en az süre kullanmış olmasına rağmen hücre başına düşen anormallik sayısındaki artışın anlamlı olması, bireyler arası genetik farklılıktan kaynaklanmış olabileceği gibi bu grupta sadece bir hasta bulunması da sonucu etkilemiş olabilir.

Bu ilaçların etkisiyle gözlenen kromozomal anormalliklerden kromatid kırığı, bir kromozomun iki kromatidinden birinde kırığın olması durumudur. Aradaki boşluk kromatid kalınlığından daha geniştir ve doğrultusu da genelde farklıdır. Kromozom kırığı bir kromozomun iki kromatidinde de kırığın olmasıdır. Yakın kromozomlardaki basit kırıklarda, kırık uçları tekrar birleşebilir ve yeniden düzenlenmiş kromozomlar oluşur. Bu olay oluşan kırığın onarılması şeklinde ya da disentrik kromozomlar, translokasyonlar ve ters dönmeler (inversiyon) biçiminde sonuçlanabilir. Disentrik kromozom, iki kromozomda, uç kısmından kromozom kırığı tipinde bir kırılma ile sentrik fragmentlerin kopuk olan uçlarının birbirleriyle birleşmesi sonucu meydana gelir. Kardeş kromatidlerde birleşme ise, kromozomal kırılma sonucu oluşan iki hasarlı kardeş kromatidin, kırık olan uçlarının birleşmesiyle oluşur. Poliploidi, bir hücrenin ikiden fazla kromozom takımı bulundurması olarak tanımlanır. Kromozom kontraksiyonu, kültürdeki hücrelerin kromozomlarının kontrol kültürdeki hücrelerin kromozomlarına nazaran boylarının çok kısalması ve kalınlığının çok artması durumudur [35]. Kromatid değişimi ise, triradyal (üçlü), quadriradyal (dörtlü) şekillerde büyük ve küçük submetasentrik kromozom kollarının yan yana gelmesiyle ve kromatidlerin birbiriyle değişmesiyle oluşur [33].

Kromozom anormallikleri (KA) ve kardeş kromatid değişimi (KKD) genotoksik maruziyetin ve genotoksik kanserojenlerin etkilerinin önceden saptanmasında kullanılan sitogenetik testlerdir. Epidemiyolojik çalışmalar, yüksek frekanstaki kromozomal anormallikler ile kanser riski arasında pozitif bir ilişki olduğunu

göstermektedir. KA ve kanser riski arasındaki bağlantıda beslenme, çevre, endojen kaynaklar ve bireysel duyarlılıktaki farklılıklar gibi pek çok faktör de etkili olmaktadır [64,65]. Çalışmamızda, Paxil ve Prozac kullanan hasta kanlarında gözlenen hücre başına düşen kromozomal anormallik sayısındaki farklılıklar, büyük olasılıkla bu faktörlerin bireyler arasında çeşitlilik göstermesinden kaynaklanmaktadır.

Hiperaktivite ve dikkat dağınıklığı tedavisinde kullanılan bir ilaç olan metilfenidat (ritalin) tedavisi gören 12 çocukla, El-Zein ve arkadaşlarının yapmış oldukları bir çalışmada , bu ilacın mutajenite ya da kanserojenite ile bağlantısının olup olmadığını araştırmışlardır. Kromozom anormallikleri tüm gruplarda kontrolle karşılaştırıldığında önemli oranda artmıştır ve araştırmacılar, artan kanser riski ile kromozom aberasyon sıklığı arasındaki ilişkiden dolayı bu ilacın insan sağlığı üzerindeki etkileriyle ilgili çok daha fazla çalışma yapılması gerektiği sonucuna varmışlardır [51].

Antimikrobiyal bir ilaç olan enrofloksasin ve metaboliti siprofloksasin kullanan 8 bireye ait kültürdeki insan periferik lenfositlerinde mitotik indeks ve kromozom anormallikleri incelenmiş ve kromozom anormallik frekansında her iki grupta da kontrole göre istatistiksel olarak önemli bir artış olduğu ve kromatid ve kromozom kırıklarının en sık görülen anormallikler olduğu gözlenmiştir bundan da ilaçların genotoksik olduğu sonucuna varılmışdır [46]. Megazol adlı antimikrobiyal ilacın genotoksik etkilerinin araştırıldığı bir çalışmada kromozom anormalliği sıklığında anlamlı düzeyde artış görülmüş ilacın klastojenik olduğu bulunmuştur [37]. Psikiyatri bölümünde, lityum karbonat ve benzodiazepin ilaçları ile tedavi gören 36 hasta ile yapılan bir çalışmada her iki grupta da kontrole göre kromozom anormalliği sayısındaki artışın anlamlı olduğu ve en sık raslanan anormalliklerin, disentrik kromozom ve kromatid değişimi olduğu saptanmıştır. Yapılan son çalışmalar, lenfositlerde kromozomal aberasyon frekansı ile tümör oluşumu arasında bağlantı olduğunu göstermektedir [53]. Fluoksetinin fare kemik iliği hücrelerinde doza bağlı olarak mitotik indekste anlamlı bir düşüşe neden olduğu bu sebeple sitotoksik olduğu ve kromozomal anormallikler incelendiğinde kırık, delesyon, halka kromozom ve

poliploidiye neden olduğu ve kromozomal anormallik sayısında doza bağlı olarak istatistiksel olarak anlamlı düzeyde artışa neden olduğu, bu nedenle klastojenik olduğu saptanmıştır [24].

Topaktaş ve Speit, KKD ve kromozomal anormalliklerin, birbirinden farklı mekanizmalarla oluşan farklı DNA kırıkları oluşumu neticesinde meydana geldiğini bildirmiştir [66]. Fiziksel etki sonucunda, kromatid kırığı ve halka gibi anormallikler oluşmakta, iğ yapısının etkilenmesi de tetraploidiye yol açmaktadır. Kromozom anormalliklerinin kimyasalların alkilleyici özelliklerinden kaynaklandığını belirten araştırmacılar, alkilleyici ajanların DNA hasarına neden olduğunu belirtmişlerdir. Kimyasalın mutajenik aktivitesinin molekülün yapısındaki elektrofilik kısmın DNA'daki nükleofilik kısma bağlanabilme kapasitesine bağlı olacağını belirtmişlerdir. DNA hasarının büyük bir kısmı hücre döngüsünün G2 fazında onarılır bu nedenle kromozom anormalliklerinin oluşumunda G2 fazı önemlidir. Kromozom anormalliklerinin artması, DNA onarımı yapılmadığını, yanlış yapıldığını veya onarımın engellendiğini göstermektedir. Kromozom anormallikleri, sentez sırasında tek zincir kırıkları, geç sentez veya G2 fazına etki edilmesi neticesinde oluşur. Kromozom kırıklarının DNA'nın fosfodiester omurgasındaki kırılmalardan, kontraksiyonların ise histon proteinlerinin etkilenmesi sonucu olduğu belirtilmiştir [33]. Yapılan araştırmalara göre, akut maruziyetler sonucu oluşan disentrik kromozomlar kalıcı değildir. Kronik maruziyetlerle oluşan translokasyonlar ise kalıcı aberasyonlardandır. Spontan kromozomal aberasyon düzeyi, çeşitli iç ve dış etkenlerden etkilenebilir. Bunlara örnek olarak yaş, viral enfeksiyonlar, radyasyon, genetik duyarlılık, besinlerde yer alan genotoksinler ve sigara içmek verilebilir [34].

Bu araştırmada kullanılan bir başka genotoksisite testi de mikronukleus testidir. Mikronukleus, hem klastojenik hem de anojenik mekanizmalar sonucu oluşabilmektedir. Kromozomlarda ortaya çıkan bu yapısal veya sayısal hasarlar, canlılarda mutajenik ve klastojenik ajanlara maruziyetin göstergesidir. Mikronukleuslar spontan olarak oluşabilecekleri gibi genotoksik maruziyete yanıt olarak da oluşabilir. Mikronukleuslar, asentrik kromozomal fragmentlerin veya bütün kromozomların hücre bölünmesi sırasında yavru çekirdek şeklinde ana çekirdek

dışında kalmasından oluşur ve genotoksik hasarın belirlenmesinde kullanılır. Bu metotta, sitokalsin-B kullanılarak tek mitoz geçiren hücreler binükleer yapıda elde edilmekte, bu hücrelerde mikronukleus sayıları değerlendirilmektedir [34].

Prozac antidepresan ilacının 48 saatlik uygulaması sonucunda, lenfositlerde MN oluşumu negatif kontrole karşılaştırıldığında doza bağlı olarak artmıştır ($r=0,98$). Bu artış sadece $10 \mu\text{g/ml}$ 'lik konsantrasyonda anlamlıdır. Prozac insan lenfositlerinde 1–2 MN oluşturmuştur. Nükleer bölünme indeksi kontrole kıyaslandığında doz arttıkça azalmıştır, ancak bu azalma istatistiksel olarak önemli değildir. Fluoksetin hidroklorür, lenfositlerde 1–3 MN oluşumuna neden olmuştur. Bu uygulamalarda, MN/hücre sayısı, negatif kontrole göre artış göstermiş ($r=0,99$), fakat bu artış 5 ve $10 \mu\text{g/ml}$ 'lik dozlarda anlamlıdır. Nükleer bölünme indeksinde de negatif kontrole göre bir düşüş olmasına rağmen bu düşüş anlamlı değildir.

Prozac ve Paxil ilacını kullanan hastaların lenfositlerinde yapılan MN testi sonucunda, her iki ilacın da lenfositlerde 1 MN oluşturduğu gözlenmiştir. Prozac kullananlarda 20–29 ve 30–39 yaş gruplarındaki MN/hücre sayısı negatif kontrole göre artmış olmasına rağmen, anlamlı değildir. 40–49 yaş grubunda ise bir farklılık yoktur. Nükleer bölünme indeksinde, bütün yaş gruplarında, kontrollerine nazaran değişimler olmakla birlikte, bunların hiçbirisi anlamlı değildir. Paxil kullanan hastaların lenfositlerinde de sadece 30–39 yaş grubunda negatif kontrole göre az bir artış olmuş fakat bu artış anlamlı değildir. Nükleer bölünme indeksindeki farklılıklar da anlam taşımamaktadır. Bütün bu sonuçlar, Prozac ve Paxil'in, bu ilacı kullanan kişilerde önemli düzeyde MN oluşturmadığını göstermektedir. In vitro koşullarda uygulanan Prozac ve fluoksetin hidroklorür, insan lenfositlerinde özellikle yüksek konsantrasyonlarda MN oluşumunu önemli düzeyde artırmaktadır. İlaç kullanan hastalardaki MN/hücre sayısının önemli düzeyde olmaması, ya değerlendirilen hasta sayısının yetersiz olmasından, ya da değerlendirilen hastaların, bu ilacı kullanma sürelerinin kısa olmasından, ya da bu kişilerin genetik yapılarının farklı olması nedeniyle, hem bu ilacı metabolize etme yeteneklerinin ve hem de bu ilacın etkisiyle meydana gelen anormallikleri onarma özelliklerinin farklı olmasından kaynaklanabilir. Bunların dışında, kromozom aberasyonları taşıyan hücrelerin

yaşama yeteneklerini kaybetmesi nedeniyle, MN taşıyan hücrelerin gözlenemediği bir durumda söz konusu olabilir.

Hasta kanları kullanılarak yapılan MN testi çalışmalarına örnek olarak kanserli hastalarda iodin-131'in [49], Hiperaktivite tedavisi gören çocuklarda ritalin'in [51], florozisli hastalarda florin'in [45] etkisinin araştırıldığı çalışmalar örnek verilebilir. Antimikrobiyal ilaçlardan trimethoprim insan periferik lenfositlerinde MN frekansını doza bağlı olarak önemli düzeyde arttırmış ilacın klastojenik ve anojenik olduğu bulunmuştur [39]. Yine antimikrobiyal olarak kullanılan; sulfametoksazol [38] , kuinolon [40] ve violasein [41], MN içeren binükleatlı hücre frekansını anlamlı düzeyde arttırmıştır. Kanser ilaçlarından argentatin-A ve argentatin-B ile ilgili çalışmalar da MN frekansının artmış olarak bulunduğu çalışmalardandır [50]. Cavallo ve arkadaşlarının, kanser hastanesinde çalışan ilaç teknisyenleri ve hemşirelerin lenfositleri üzerinde antineoplastik ilaçların genotoksik etkilerini araştırdıkları bir çalışmada, kontrol grupları ile ilaçlara maruz kalan kişiler arasında mikronukleusda önemli bir değişiklik görülmezken yanak epitelyum hücrelerinin MN testinde ise yüksek değerlerde farklılıklar gözlenmiştir. Yine CA frekansında da önemli derecede artış gözlenmiştir [48].

Sonuç olarak antidepresan olarak kullanılan Prozac ve bunun etken maddesi fluoksetin hidroklorürün 24 saatlik uygulamasında 10 µg/ml'lik doz, MI'yi anlamlı şekilde düşürmüştür. 48 saatlik uygulamada, kullanılan bütün dozlar (1.25, 2.50, 5.0, 10.0 µg/ml'lik) MI'yi anlamlı şekilde düşürmüştür. MI'teki azalma her iki kimyasalda da dozla ilişkilidir. Bu sonuçlar, bu ilaçların sitotoksik etkili olduğunu göstermektedir.

Prozac'ın 24 saatlik uygulamasında 2,5, 5 ve 10 µg/ml'lik dozları, 48 saatlik uygulamasında ise bütün dozları KKD/hücre sayısını istatistiksel olarak önemli düzeyde arttırmıştır. Fluoksetin hidroklorürün her iki uygulama süresinde, kullanılan bütün dozları KKD/hücre sayısında önemli artışlar oluşturmıştır. KKD oluşumunda doz-etki ilişkisi bulunmaktadır. Bu sonuçlar, Prozac ve Fluoksetinin her ikisinin de

krozoamlarda mutasyona neden olan ajanlar yani yani mutajen olduklarını göstermektedir.

Prozac'ın 24 ve 48 saatlik uygulamasındaki 2,5, 5 ve 10 µg/ml'lik konsantrasyonları, anormal hücre frekansını ve KA/hücre sayısını anlamlı düzeyde arttırmışlardır.

Fluoksetin hidroklorürün 48 saatlik uygulamasındaki bütün konsantrasyonları ve 24 saatlik uygulamasındaki 3 yüksek konsantrasyonu anormal hücre frekansını ve KA/hücre sayısını anlamlı düzeyde arttırmıştır.

Hem Prozac ve hem de fluoksetin hidroklorürün kromozom anormallikleri oluşturmada doz-etki ilişkisi belirlenmiştir. Bu çalışmada gözlenen sonuçlar, her iki ajanın da klastojenik olduğunu göstermektedir.

Prozac ve fluoksetinin her ikisi de MN oluşumunu uyarmasına rağmen, Prozac sadece en yüksek konsantrasyonda (10 µg/ml), fluoksetin hidroklorür ise en yüksek iki konsantrasyonda (5 ve 10 µg/ml) MN oluşumunu anlamlı düzeyde arttırmıştır. Bu da, bu kimyasalların düşük konsantrasyonlarının klastojen-anöjen olmadıkları şeklinde yorumlanabilir. Ancak, bu ajanların her ikisinin de düşük konsantrasyonlarda bile anlamlı sayıda kromozom anormalliği oluşturmada, ya bu tip anormalliklerin zamanla onarılmış olabileceğini veya bu tip anormalliklere sahip olan hücrelerin canlılıklarını yitirmesi ve normal bir bölünme geçirmemeleri nedeniyle ortamdaki elenmiş olabileceklerini göstermektedir [34].

Prozac ve Paxil'i tedavi amaçlı kullanan kişilerde yapılan incelemelerde, Prozac'ın sadece 20-29 yaş grubunda, Paxil'in de 30-39 yaş grubunda MI'i anlamlı düzeyde düşürdüğü belirlenmiştir. Prozacın kültürdeki etkisi ile bireydeki etkisinin farklı olması ya incelenen birey sayısının yeterli olmamasından, ya da bunların genetik farklılıklarından kaynaklanıyor olabilir.

Prozac ve Paxil'i kullanan tüm hasta yaş gruplarında, KKD/hücre sayısı önemli düzeyde artış göstermiştir. Bu da, bu maddelerin insan lenfositlerinde mutajenik olduğunu desteklemektedir.

Prozac ve Paxil'in her ikisi de hastalarda kromozom anormalliklerinde artışlara neden olmuştur. Ancak bu artış istatistiksel olarak anlamlı değildir. Oysa Prozac ve fluoksetin hidroklorür, anlamlı düzeyde kromozom anormalliğine neden olmaktadır. Bu sonuçlar, ya insanlarda kromozom anormalliği taşıyan hücrelerin dolaşım sisteminden elimine olduğunu veya anormalliklerin tamir edilebildiğini göstermektedir. Bir başka önemli neden ise, çeşitli ilaçları metabolize etmek için insanda çeşitli enzimlerin üretiliyor olması ve bunların da ilacı kullanan kişilerin genetik yapılarına göre farklılıklar göstermesinden kaynaklanabilir [44].

Prozac ve Paxil kullanan hastalarda kontrolleriyle karşılaştırıldığında MN oluşumu bazı yaş gruplarında kontrollerle aynı çıkmış bazılarında da kontrole göre artış göstermiştir. Sadece 1 MN taşıyan hücreler görülmüştür. Prozac ve fluoksetin hidroklorürde ise MN oluşumu tüm dozlarda kontrole göre artmış ve her ikisi için de sadece en yüksek konsantrasyonlarda anlamlı bulunmuştur. Kromozomal aberasyonlar için pozitif sonuç veren ilacın ve etken maddesinin mikronukleus yönteminde bu ilacı kullanan hastalarda negatif sonuç vermesi, kromozomal aberasyonların kalıcı olmayan aberasyonları da ortaya çıkarması, ancak mikronukleusda bunların açığa çıkmaması şeklinde açıklanmış, neden olarak da kromozomal aberasyonların ilk mitoz sırasında belirlenmesi ve bu hücrelerin daha sonra bölünebilme ya da canlı kalma etkinliklerinden emin olunmaması gösterilmiştir [34].

Uzun dönem süresince ilaçla tedavi gören hastalarda özellikle antidepresan kullanan hastalarda bu bireyler, şikayetlerinin artması durumunda ilacın dozunu artırmaktadırlar. Ancak hem doz artışı hem de maruziyet süresinin uzunluğu insanlarda bu ilaçların risk-yarar oranının dikkatli şekilde gözden geçirilmesini gerektirmektedir. Çünkü ilaçlar, tedavi amacıyla kullanılırken doz artışı ve maruziyet süresine bağlı olarak genotoksik hasarlara da yol açabilirler. Ayrıca bu ilaçlar diğer

ilaçlarla , alkolle ya da vücuda alınan diğer kimyasal ajanlarla etkileşime girerek insan sağlığı açısından tehlike yaratabilir. Bireyler arasındaki immün sistem farklılıkları, yaş, cinsiyet ve genetik farklılıklar da ilaca duyarlılığı ya da ilacın bireyler üzerinde oluşturacağı etkilerde farklılık yaratabilir. Bu nedenle bu tür ilaçların dikkatli kullanılması, dozlarının doktor kontrolünde ve kişilerdeki bu farklılıklar dikkate alınarak belirlenmesi ve bu tür epidemiyolojik çalışmaların ve ilaç-etken madde çalışmalarının ve çalışmalarda kullanılan hasta-kontrol grubu sayılarının artırılarak insanda bu kimyasalların uzun dönemli etkilerinin saptanması ile daha güvenilir sonuçlar elde edilmesi gerekmektedir.

KAYNAKLAR

1. Corcos, M., Guilbaud, O., Speranza, M., Paterniti, S., Loas, G., Stephen, P., Jeammet, P., “ Alexithymia and deprection in eating disorders”, *Psychiatry Res.*, 93:263-266 (2000).
2. Işık, E., “Özgül serotonin geri alım engelleyicilerinin yan etkileri ve ilaç etkileşimleri”, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 3:1-2 (1992).
3. Freeling P, Tylee A. Depression in General Practice. In Paykel ES (ed.). *Handbook of Affective Disorders*, 2nd edn. Edinburgh: Churchill Livingstone, 651–666 (1992).
4. Balcıoğlu, İ., “Depresyonun etyopatogenezi”, *Depresyon, Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller Sempozyumu*, 19-28 (1999).
5. Johnson, D.A.W., “An analysis of out-patient services”, *Br. J. of Psychiatry*; 122:301-306 (1973).
6. Brown, R.M.A., Strathdee, G., Christie-Brown, J.R.W., Robinson, P.H.A., “Comparison of referral to primarycare and hospital out patient clinics”, *Br. J. of Psychiatry*; 153:168-173 (1988).
7. Scott, A.I., Freeman, C.P., “Edinburgh primary care depression study: treatment outcome, patient satisfaction, and cost after 16 weeks”, *British Medical Journal*; 304 (6831): 883-7 (1992).
8. Kessler, R.C., McGonagle, K.A., Zhao, S., et al. “Lifetime and 12-month prevalence of DSM-III-R psychiatric disorders in the United States: results from the National Comorbidity Survey”, *Arch. Gen. Psychiatry*; 51 (1): 8-19 (1994).
9. Savrun, M., “Depresyonun tanımı ve epidemiyolojisi”, *Depresyon, Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller Sempozyumu*, 11-17 (1999).
10. Tarhan, N., Çetin, M., “Depresyonda biyolojik göstergeler. *Depresyon Monografı Serisi 4. E. Köroğlu (Ed). Hekimler Yayın Birliği*, Ankara; 175-200 (1993).
11. Tümkaya, S., Özdel, O., Değirmenci, T., Oğuzhanoglu, K.N., “Bir üniversite hastanesi psikiyatri polikliniği hastalarında psikiyatrik tanı ve tedavi: Bir yıllık geriye dönük araştırma”, *Anadolu Psikiyatri Dergisi* ; 6:36-40 (2005).

12. Tollefson, G.D. and Rosenbaum, J.F. , “Selective Serotonin Reuptake Inhibitors. Textbook of Psychopharmacology. AF Schatzberg-CB Nemeroff (Eds). Second Edition”, *American Psychiatric Press*, Washington, 219-249 (1998).
13. Preskorn, S.H., “Clinical pharmacology of selective serotonin reuptake inhibitors”, *Caddo: Professionals Communications*, Inc. (1996).
14. Gram, L. F., “Fluoxetine”, *N. Engl. J. Med.*, 331:1354–1361 (1994).
15. Catterson, M. L. and Preskorn, S. H., “Pharmacokinetics of selective serotonin reuptake inhibitors: clinical relevance”, *Pharmacol. Toxicol.* , 78:203–208 (1996).
16. Daniel, W. A. and Wojcikowski, J. , “Interactions between promazine and antidepressants at the level of cellular distribution”, *Pharmacol. Toxicol.*, 81: 259–264 (1997).
17. Benfield, P., Heel, R. C. and Lewis, S. P. , “Fluoxetine. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties, and therapeutic efficacy in depressive illness”, *Drugs* 32:481–508 (1986).
18. Harvey, A. T. and Preskorn, S. H., “Interactions of serotonin reuptake inhibitors with tricyclic antidepressants” *Arch. Gen. Psychiatry*, 52: 783–784 (1995).
19. Von Moltke, L. L., Greenblatt, D. J., Duan, S. X., Schmider, J., Wright, C. E., Harmatz, J. S. and Shader, R. I. , “Human cytochromes mediating N-demethylation of fluoxetine in vitro”. *Psychopharmacology*, 132: 402–407 (1997).
20. Souza, M.E., Polizello A.C., Uyemura, S.A., Castro-Silva, O., Curti, C., “Effect of fluoxetine on rat liver mitochondria” , *Biochem. Pharmacol.* , 3;48(3);535-41 (1994).
21. Bendele, R.A., Adams, E.R., Hoffman, W.P., Gries, C.L., Morton, D.M., “Carcinogenicity studies of fluoxetine hydrochloride in rats and mice” *Cancer Res.* , Dec 15;52(24):6931-5 (1992).
22. Byrd, R.,A, Markham, J., K., “Developmental toxicology studies of fluoxetine hydrochloride administered orally to rats and rabbits”, *Fundam. Appl. Toxicol.* , 22(4):511-8 (1994).

23. Martensson, U., Nassberger, L., "Influence of antidepressants on mitogen stimulation of human lymphocytes" *Toxicol In Vitro*; 7:241-245 (1993)
24. Ali, M.O., El-Deen, O.A. S., El-Menshay, O.M., Bakery, S., "Genotoxic effects of fluoxetine on the chromosomes of bone marrow cells of pregnant mice", *The International Association of Forensic Toxicologists*, August 26-30 (2001).
25. Owens, M. J., Morgan, W. N., Plott, S. J. and Nemeroff, C. B. , "Neurotransmitter receptor and transporter binding profile of antidepressants and their metabolites", *J.Pharmacol Exp. Ther.* , 283:1305–1322 (1997).
26. Kaye, C. M., Haddock, R. E., Langley, P. F., Mellows, G., Taker, T. C. G., Zussman, B. D. and Greb, W. H. , "A review of the metabolism and pharmacokinetics of paroxetine in man", *Acta. Psychiat. Scand.*, 80(suppl. 350), 60–75 (1989).
27. Lund, J., Lomholt, B., Fabricius, J., Christensen, J. A. and Bechgaard, E., "Paroxetine: pharmacokinetics, tolerance and depletion of blood 5-HT in man", *Acta. Pharmacol. Toxicol.*, 44:289–295 (1979).
28. Ryan, M. P., Kelly, J.P., Chambers, P.L., Leonard, B.E., "The toxicity profile of a single dose of paroxetine: an alternative approach to acute toxicity testing in the rat", *Pharmacology & Toxicology*, 88: 59–66 (2001).
29. Kim, Y., Park, Q., Yu, B., "Changes in lymphocyte subsets after short-term pharmacotherapy in patients with panic disorder", *Psychiatry Research*, 128 :183– 190 (2004).
30. McPherson, K., "Commentary: Antidepressants and breast cancer risk" *International Journal of Epidemiology* , 32:966–967 (2003). Balcıoğlu, İ., "Depresyonun etyopatogenezi", *Depresyon, Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller Sempozyumu*, 19-28 (1999).
31. Steingart, A., Cotterchio, M., Kreiger, N., Sloan, M., "Antidepressant medication use and breast cancer risk: a case-control study", *International Journal of Epidemiology*, 32:961–966 (2003).
32. Moran, D.M., Ames, B.N., "Revised methods for the Salmonella mutagenicity tests ", *Mutation Research* , 113:173-215 (1983).

33. Çelik, M, “Dinocap fungusitinin *Allium cepa* L. kök ucu hücreleri ve insan periferik lenfositlerinde sitogenetik etkileri”, Doktora Tezi, **Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü**, Ankara (2003).
34. Çakmak, G., “Trafik Polisi ve taksi sürücüleri hava kirliliği maruziyetine yönelik idrarda 1- Hidroksipiren değerlerinin, periferik lenfositlerde kromozomal aberasyon ve MÇ sıklığının araştırılması”, Yüksek Lisans Tezi, **Gazi Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü Farmasötik Toksikoloji Anabilim Dalı**, 28-107, Ankara (2000).
35. Topaktaş, M., Rencüzoğulları, E., “Sitogenetik”, **Çukurova Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü**, Adana,133 (1995).
36. Fenech, M., Morley, A.A.,”Measurement of micronucleus in lymphocytes”, **Mut. Res.**, 147:29-36.
37. Nessler, F., Brugier, S., Mouriès, M., Curieux, F., Marzin, D. “ In vitro and in vivo chromosomal aberrations induced by megalol”, **Mutation Research** , 560:147–158 (2004).
38. Abou-Eisha, A., Marcos, R. , Creus, A. , “Genotoxicity studies on the antimicrobial drug sulfamethoxazole in cultured human lymphocytes”, **Mutation Research**, 564:51–56 (2004).
39. Abou-Eisha, A.,“ Evaluation of cytogenetic and DNA damage induced by the antibacterial drug, trimethoprim” **Toxicology in Vitro** ,(2005).
40. Itoh, T. , Mitsumori, K., Kawaguchi, S., Sasaki, Y. F., “Genotoxic potential of quinolone antimicrobials in the in vitro comet assay and micronucleus test” **Mutation Research** ,(2005).
41. Andrighetti-Fröhner., C. R. , Kratz ., J. M. , Antonio, R. V., Creczynski-Pasa, T. B. , Barardi, C. R.M. ,Simoes, C.M.O., “In vitro testing for genotoxicity of violacein assessed by Comet and Micronucleus assays”, **Mutation Research**, (2005).
42. Teo, S.K. , San, R.H. , Wagner, V.O. , Gudi, R., Stirling, D. I., Thomas, S. D., Khetani, V.D. , “D-Methylphenidate is non-genotoxic in in vitro and in vivo assays”, **Mutation Research**, 537:67–79 (2003).
43. Karahalil, B., Yağar, S., Bahadır,G., Durak, P., Sardaş, S., “Diazepam and propofol used as anesthetics during open-heart surgery do not cause chromosomal aberrations in peripheral blood lymphocytes”. **Mutation Research** , 581:181–186 (2005).

44. İkbāl, M., Taştekin , A., Doğan, H., Pirim, İ., Örs, R., “The assesment of genotoxic effects in lymphocytes cultures of infants treated with chloral hydrate”, *Mutation Research*, 564:159-164 (2004).
45. Wu, D.Q. , Wu, Y., “Micronucleus and sister chromatid exchange frequency in endemic fluorosis”, *Second Look*, 28:125-127 (1995).
46. Gorla, N., Ovando, G. H., Larripa, I., “Chromosomal aberrations in human lymphocytes exposed in vitro to enrofloxacin and ciprofloxacin”, *Toxicology Letters*, 104 :43–48 (1999).
47. Öztürk,Ş., Palandüz, Ş., Çefle, K., Tutkan, G., Uçur, A., Dinçol, G., Nalçacı, M., Aktan, M., Yavuz, S., Küçükkaya,R.D., “Genotoxicity and sister chromatid exchange in patients with myelodysplastic disorders”, *Cancer Genetics and Cytogenetics*, 159:148–150 (2005).
48. Cavallo, D., Ursini, C. L., Perniconi, B., Francesco, A., Giglio, M., Rubino, F.M., Marinaccio, A., Iavicoli, S., “Evaluation of genotoxic effects induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes and exfoliated buccal cells of oncology nurses and pharmacy employees” , *Mutation Research*, 587 : 45–51 (2005).
49. Ballardin, M., Gemignani, F., Bodei, L., Marian, G., Ferdeghini, M., Rossi , A. M., Migliore, L., Barale, R., “Formation of micronuclei and of clastogenic factor(s) in patients receiving therapeutic doses of iodine-131” ,*Mutation Research* , 514 :77–85 (2002).
50. Parra-Delgado, H., Garcia-Pillado, F., Sordo, M., Ramirez-Apan,T.,Martinez-Vazquez,M., Ostrosky-Wegmanb, P., “ Evaluation of the cytotoxicity, cytostaticity and genotoxicity of Argentatins A and B from Parthenium argentatum (Gray)” , *Life Sciences* ,77 :2855–2865 (2005).
51. El-Zein, R. A. , Abdel-Rahmanb, S. Z. , Hayb, M. J. , Lopeza, M. S., Bondya, M. L. , Morrisb, D. L. , Legatorb, M. S., “Cytogenetic effects in children treated with methylphenidate”, *Cancer Letters* , 230 :284–291 (2005).
52. Stanimirovic, Z., Stevanovic, J., Jovanovic, S., Andjelkovic, M., “ Evaluation of genetic effects of Apitol in vitro by measurement of sister chromatid Exchange”, ”, *Mutation Research*, 588 :52–157(2005).
53. Bigatti, M. P., Corona, D., Munizza, C., “Increased sister chromatid exchange and chromosomal aberration frequencies in psychiatric patients receiving psychopharmacological therapy”, *Mutation Research* ,413 :169–175 (1998).

54. Bozkurt, G., Abay, E., Ateş, İ., Karaboğaz, G., Türe, M., Savran, F.O., Palandüz, S., Temocin, K. i Algüneş, Ç., “Clastogenicity of selective serotonin-reuptake inhibitors”, *Mut. Res.* ,558:137-144 (2004).
55. Jonasson, J.A., “Analysis and Interpretation of Human Chromosome Preparations., Rooney”, D.E., Czepulkowski, B.H., (Ed), *Human Cytogenetics Oilpress* Oxford- Washigton DC (1986).
56. Speit, G. and Houpter, S., “On the mechanism of differantial giemsa staining of Bromodeoxyuridine substituted Chromosomi, II. Differences between the demonstration of sister chromatid differantiation and replication patterns, *Human Genetics* , 70:126-129 (1985).
57. Gomez-Arroya,S., et all, “Cytogenetic biomonitoring in a Mexican floriculture worker group exposed to pesticides”, *Mutation Research*, 466: 117-124 (2000).
58. Edgar, V.A., Cremaschi, G.A., Borda, L.S., Genaro, A.M., “Altered expression of autonomic neurotransmitter receptors and proliferative responses in lymphocytes from a chronic mild stress model of depression: effects of fluoxetine”, *Brain, Behavior, and Immunity* , 16:333–350 (2002).
59. Aydemir, N.,Çeliker, S., Bilaloğlu, R., “In vitro genotoxic effects of the anticancer drug gemcitabine in human lymphocytes”, *Mutation Research*, 582:35-41 (2005).
60. Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., Yılmaz, S., Ünal, F., Aksoy, H., “Clastogenicity of fungicide afugan in cultured human lymphocytes”, *Mutation Research*, 604:53–59 (2006).
61. Montero, R. , Ostrosky, P., “Genotoxic activity of Praziquantel”, *Mutation Research* ,387:123–139 (1997).
62. Rencüzoğulları, E.,İlla,H.B., Topaktaş, M., Kayraldız, A., Budak, S., Aslan,M., “No significant increase in chromosome aberrations and sister chromatid exchanges in cultured human lymphocytes treated with spiramycin”, *Teratogenesis, Carcinogenesis, and Mutagenesis*, 22:51-58 (2002).
63. Perez, R.P., Madrigal-Bujaidar, E., Reyes, C.S., Perez, G.J., Velasco, M.O., Molina, D.,” Sister chromatid exchanges produced by imipramine and desipramine in mouse bone marrow cells treated in vivo”, *Toxicology Letters*, 132:123-129 (2002).

64. Norppa, H., "Cytogenetic biomarkers and genetic polymorphisms", *Toxicology Letters* , 149 :309–334 (2004).
65. Norppa, H., Bonassi, S. Hansteen, L., Hagmard, L., Stromberg, U., Rossner, P., Boffetta, P., Lindholm, C., Gundy, S., Lazutka, J., Cebulska-Wasilewska, A., Fabianova, E., Sram, R.J., Knudsen, L.E., Barale, R., Fucic, A., "Chromosomal aberrations and SCEs as biomarkers of cancer risk", *Mutation Research*, (2006).
66. Topaktaş, M. And Speit, G., "insan lenfositlerinde prometryn herbisiti ile SCE ve CA'nın indüklenmesi", *Doğa Turkish Journal Of Biology*, 14:69-78 (1990).

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Soyadı, adı : TARHAN, Gökçe Hilal
 Uyruğu : T.C.
 Doğum tarihi ve yeri : 02.11.1980 Eskişehir
 Medeni hali : Bekar
 Telefon : 0 (312) 339 79 78
 e-mail : gokcehilal@yahoo.com.

Eğitim

Derece	Eğitim Birimi	Mezuniyet tarihi
Yüksek lisans	Gazi Üniversitesi /Biyoloji Bölümü	2006
Lisans	Gazi Üniversitesi/ Biyoloji Bölümü	2003
Lise	Aydınlıkevler Lisesi	1998

Yabancı Dil

İngilizce

Yayınlar

1. Tarhan, G. H., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D., Yılmaz, S. “In vitro genotoxic effects of Fluoxetine”, (Poster sunumu) II. International Enviromental Protection Symposium, 8-10 Eylül, Kütahya, (2005).

Hobiler

Yüzme, Voleybol, Dalış