

**BAZI ANTİDEPRESANLARIN *Drosophila melanogaster*'de
GENOTOKSİK VE MUTAJENİK ETKİLERİNİN
ARAŞTIRILMASI**

**INVESTIGATION OF THE GENOTOXIC AND MUTAGENIC
EFFECTS OF SOME ANTIDEPRESSANTS IN *Drosophila
melanogaster***

HADI ESHRAGHI OSKOEI

Prof. Dr. HACER ÜNLÜ

Tez Danışmanı

Hacettepe Üniversitesi

Lisansüstü Eğitim – Öğretim ve Sınav Yönetmeliğinin

Biyoloji Anabilim Dalı İçin Öngördüğü

YÜKSEK LİSANS TEZİ

olarak hazırlanmıştır.

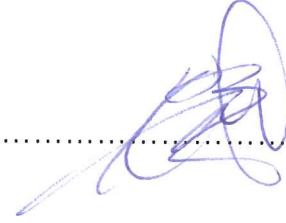
2016

HADİ ESHRAGHİ OSKOUËI' nin hazırladığı “**Bazı Antidepresanların *Drosophila melanogaster*'de Genotoksik ve Mutajenik Etkilerinin Araştırılması**” adlı bu çalışma aşağıdaki jüri tarafından **BİYOLOJİ ANABİLİM DALI'** nda **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak kabul edilmiştir.

Prof. Dr. Nuran Diril
Başkan



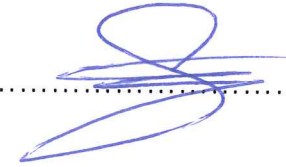
Prof. Dr. Hacer Ünlü
Danışman



Prof. Dr. Sibel Sümer
Üye



Doç. Dr. Ergi Deniz Özsoy
Üye



Yrd. Doç. Dr. Emel Atlı
Üye



Bu tez Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü tarafından **YÜKSEK LİSANS TEZİ** olarak onaylanmıştır.

Prof. Dr. Fatma Sevin Düz
Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

Cok degerli ailem:

Babam,

Annem,

Hesam,

Ve

Elnaz'a...

ETİK

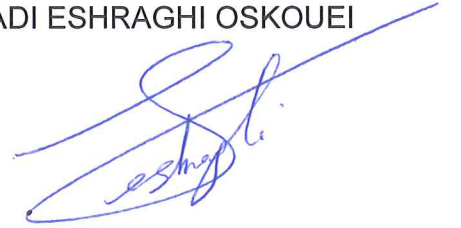
Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, tez yazım kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

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

beyan ederim.

08 / 01 / 2016

HADI ESHRAGHI OSKOEI



ÖZET

BAZI ANTİDEPRESANLARIN *Drosophila melanogaster*'de GENOTOKSİK VE MUTAJENİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

HADI ESHRAGHI OSKOUEI

Yüksek Lisans, Biyoloji Bölümü

Tez Danışmanı: Prof. Dr. HACER ÜNLÜ

Ocak 2016, 72 sayfa

Bu çalışmada antidepresan etken maddelerinden olan sertralin, fluoksetin ve sitalopramın genotoksik ve mutajenik etkileri, *Drosophila* kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi (SMART) ile araştırıldı. Bu yöntemde, üçüncü kromozomlarında çekinik flare (*flr³*) ve çoklu kanat kılı (*mwh*) belirleyici genlerini taşıyan üç günlük larvalar kullanıldı. *D. melanogaster* larvaları, maddelerin dört ayrı dozunu (0.01, 0.1, 1.0 ve 5.0 mM) içeren besin ile kronik olarak beslendiler. Uygulama sonunda larvalardan çıkan sineklerin kanatlarında gözlenen mutant trikomlara göre genetik değişimler (nokta mutasyonu, delesyon, ayrılmama, rekombinasyon) değerlendirildi. Mutant klon değerlendirmeleri, küçük tek tip, büyük tek tip, ikiz klon, toplam *mwh* ve toplam klon sınıflandırmaları esas alınarak yapıldı.

Genotoksik etkisi araştırılan sertralin'in dört farklı dozdan sadece 1.0 mM'lık konsantrasyonda, *mwh/TM³* fenotipli serrat kanatlı bireyler ile kontrol grupları arasında istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur.

Fluoksetin'in 1.0 ve 5.0 mM'lık derişimlerdeki uygulanmasında normal ve serrat kanatlı bireylerde kontrol gruplarına göre anlamlı farklar gözlenmiştir.

Genotoksik etkisi araştırılan sitalopram'ın dört dozunun uygulama sonuçlarına göre *mwh/flr³* fenotipli bireylerde 0.1, 1.0, 5.0 mM'lık konsantrasyonlarında ve *mwh/TM³* fenotipli serrat kanatlı bireylerde 1.0 ve 5.0 mM'lık derişimlerde kontrol gruplarına göre istatistiksel olarak anlamlı farklar saptanmıştır.

Bu bulgular, çalışmamızda kullanılan antidepresan etken maddelerden Sitalopram ve Fluoksetin'in Sertralin'e göre *D. melanogaster*'de genotoksik etkisinin daha fazla olduğunu göstermektedir.

Anahtar Kelimeler: Sertralin, Fluoksetin, Sitalopram, SSRI, *Drosophila melanogaster*, SMART

ABSTRACT

INVESTIGATION OF THE GENOTOXIC AND MUTAGENIC EFFECTS OF SOME ANTIDEPRESSANTS in *Drosophila* *melanogaster*

HADI ESHRAGHI OSKOEI

Master of Science, Department of Biology

Supervisor: Prof. HACER ÜNLÜ

January 2016, 72 pages

In this research, the genotoxic and mutagenic effects of antidepressant agents; Sertraline, Fluoxetine and Citalopram were studied with *Drosophila* wing Somatic Mutation and Recombination Test (SMART).

In this method 3-day old larvae with recessive flare (*flr*³) and multiple wing hair (*mwh*) marker genes on their third chromosome were used. Larvae were chronically fed different doses of drugs. The effects of drugs were evaluated according to genetic changes (point mutation, deletion, non-disjunction, and recombination) in wing imaginal disc cells which lead to the formation of mutant trichomes. Mutant trichome's evaluation was based on small single spot, large single spot, twin spot, total *mwh* and total spot classification.

The result of investigation of the genotoxic effect for four different (0.01, 0.1, 1.0 and 5.0 mM) doses of Sertraline that gives to the larval with feeding were shown statistically significant difference in *mwh/Tm3* phenotype with serrate wing just in 1.0 mM concentration. The study of investigated of the genotoxic effect of four different doses of Fluoxetine and according to the result we have been found significant difference at 1.0 and 5.0 mM concentration in both of normal and serrate wing. According to the investigation of genotoxic effect of Citalopram in four different doses that shown significant difference in *mwh/flr*³ phenotype with normal wings at 0.1, 1.0 and 5.0 mM concentration and in *mwh/TM*³ phenotype with serrate wings at 1.0 and 5.0 mM concentration.

According to the results that we obtained in our study Citalopram and Fluoxetine show more toxic effect than Sertraline in *D. melanogaster*.

KeyWords: Sertraline, Fluoxetine, Citalopram, SSRI, *Drosophila melanogaster*, SMART

TEŞEKKÜR

Yüksek lisans öğrenimim boyunca ve bu tezin hazırlanması sırasında bilgi ve tecrübesiyle bana yol gösteren değerli hocam, tez danışmanım Prof. Dr. **Hacer ÜNLÜ**'ye içten teşekkürlerimi sunarım.

Tez çalışmamın her aşamasında destek ve görüşlerini esirgemeyen, istatistiksel analizler konusunda tecrübe ve önerilerinden faydalandığım değerli hocam Doç. Dr. **Ergi Deniz ÖZSOY**'a çok teşekkür ederim.

Çalıştığım alanda bana çok büyük katkılarda bulunarak destek olan değerli hocalarım Doç.Dr. **Eşref DEMİR** ve Yrd. Doç. Dr. **Emel ATLI**'ya çok teşekkür ederim.

Katkılarından ve önerilerinden faydalandığım değerli jüri üyeleri hocalarım Prof. Dr. **Nuran DİRİL** ve Prof. Dr. **Sibel SÜMER**'e çok teşekkür ederim.

Değerli hocalarım Dr. **Banu Şebnem ÖNDER** ve Uzm. Dr. **Güzin EMECEN** ve Dr. **Murat YILMAZ**'a hep yol gösterici oldukları ve sıkıntıya düştüğüm her anımda yardımlarını esirgemedikleri için sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Deneysel çalışmalarımda yoğun desteğinden ve katkılarından dolayı değerli çalışma arkadaşım **Alper ORHAN**'a ve çözeltilerin hazırlanması sırasında öneri ve yardımlarını esirgemeyen değerli arkadaşım **Egemen FOTO**'ya çok teşekkür ederim. Ayrıca, değerli dostum ve çalışma arkadaşım **Pınar GÜLER** başta olmak üzere, tüm **çalışma arkadaşlarıma** teşekkürü bir borç bilirim.

Her şeyden önemlisi tüm hayatım boyunca, bana her türlü imkanı sağlayan, her kararımı destekleyen, hayatım boyunca beni hiç yalnız bırakmayan, tüm destekleri ve sevgileriyle her zaman arkamda duran **babam Esmaeil ESHRAGHI**, **annem Hakimeh SADAFI** ve **kardeşim Hesam ESHRAGHI**'ye sonsuz teşekkürlerimi sunarım.

Son olarak her zaman anlayış ve sabırla bana destek olan eşim **Elnaz YOUSEFI**'ye en içten sevgi ve teşekkürlerimi sunarım.

Bu çalışmaya destek sağlayan Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi'ne (Proje no: 012 D06 601 004) çok teşekkür ederim.

İÇİNDEKİLER

Sayfa

ÖZET	i
ABSTRACT	ii
TEŞEKKÜR	iii
İÇİNDEKİLER	iv
ŞEKİLLER DİZİNİ	vi
ÇİZELGELER DİZİNİ	viii
SİMGELER VE KISALTMALAR	ix
1. GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	3
2. 1. Antidepresanlar	3
2. 1. 1. Seçici Serotonin Gerilim İnhibitörleri (SSRI)	7
2. 1. 1. 1. Sertralin	9
2. 1. 1. 2. Fluoksetin	10
2. 1. 1. 3. Sitalopram	11
2. 2. Toksisite ve Genotoksisite	12
2. 2. 1. Genotoksisite Testleri	14
2. 2. 1. 1. <i>In vitro</i> Genotoksisite testleri	14
2. 2. 1. 2. <i>In vivo</i> Genotoksisite testleri	14
2. 3. SMART Testi	15
2. 3. 1. Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi	17
3. GEREÇ VE YÖNTEM	23
3. 1. Kullanılan Organizma	23
3. 2. Deney Koşulları	23
3. 2. 1. Laboratuvar Koşulları	23
3. 2. 2. <i>Drosophila</i> Besiyeri	23
3. 3. Kullanılan Kimyasallar	24
3. 3. 1. Antidepresan Etkin Maddeleri	24
3. 3. 2. Çözücü Madde	25
3. 3. 3. Pozitif kontrol	25
3. 3. 4. Negatif kontrol	25
3. 3. 5. Faure Solüsyonu	25

3. 4. Larva Toplama.....	26
3. 5. Yumurta toplama.....	26
3. 6. Çözeltilerin Hazırlanması ve Larvalara Uygulama	27
3. 7. Uygulama Grupları.....	27
3. 8. Kanat Preparatlarının Hazırlanması.....	30
3. 9. Kanatların Mikroskopik Analizleri.....	31
3. 10. İstatistiksel Yöntemler.....	34
3. 10. 1. Verilerin Analizi.....	34
3. 10. 2. Klon indüksiyon frekansının hesaplanması.....	35
4. BULGULAR.....	37
4. 1. Sertralin.....	37
4. 2. Fluoksetin... ..	43
4. 3. Sitalopram (Citalopram).....	49
5. SONUÇLAR ve TARTIŞMA.....	55
KAYNAKLAR.....	63
ÖZGEÇMİŞ.....	72

ŞEKİLLER DİZİNİ

Sayfa

Şekil 2. 1. Serotoninin kimyasal yapısı.....	5
Şekil 2. 2. <i>Drosophila</i> kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde kullanılan belirleyici genlerin üçüncü kromozom üzerindeki yerleşimleri.....	17
Şekil 2. 3. <i>flr3 / TM3, Bd^S</i> bireylerindeki homozigot letal etkiler.....	18
Şekil 2. 4. <i>flr3/ TM3, Bd^S</i> ve <i>mwh/mwh</i> çaprazı ve transheterozigot <i>mwh/flr³</i> ve dengelenmiş heterozigot <i>mwh/TM3, Bd^S</i> birey elde edilmesi.....	19
Şekil 2. 5. Çaprazlardan elde edilen bireylerin kanat tipleri.....	20
Şekil 2. 6. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde kanat beneklerinin oluşumunun gösterilmesi.....	22
Şekil 3. 1. SMART testinde akut ve kronik uygulamalar.....	28
Şekil 3. 2. Çalışılan kanat benek testi uygulamasının şematik gösterimi.....	29
Şekil 3. 3. Kanadın sayım için sektörlere ayrılması.....	31
Şekil 3. 4. Kanat yüzeyindeki kıllar.....	32
Şekil 3. 5. Tekli küçük klon.....	32
Şekil 3. 6. <i>mwh</i> tipi tekli büyük klon.....	33
Şekil 3. 7. <i>flr³</i> tipi tekli büyük klon.....	33
Şekil 3. 8. İkiz (ikili) klon.....	34
Şekil 4. 1. Sertralinin normal kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.....	41
Şekil 4. 2. Sertralinin serrat kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.....	41
Şekil 4. 3. Sertralin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde toplam klon sayısı.....	42
Şekil 4. 4. Sertralin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde klon indüksiyon frekansı.....	42
Şekil 4. 5. Fluoksetinin normal kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.....	47
Şekil 4. 6. Fluoksetinin serrat kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.....	47
Şekil 4. 7. Fluoksetin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde toplam klon sayısı.....	48

Şekil 4. 8. Fluoksetin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde klon indüksiyon frekansı.....	48
Şekil 4. 9. Sitalopramın normal kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.....	53
Şekil 4. 10. Sitalopramın serrat kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.....	53
Şekil 4. 11. Sitalopram uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde toplam klon sayısı.....	54
Şekil 4. 12. Sitalopram uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde klon indüksiyon frekansı.....	54

ÇİZELGELER DİZİNİ

	<u>Sayfa</u>
Çizelge 3. 1. <i>Drosophila</i> besiyeri içeriği.....	24
Çizelge 3. 2. Asit karışımı.....	24
Çizelge 3. 3. Metil hidroksibenzoat çözeltisi (%20'lik)	24
Çizelge 3. 4. Deney gruplarında tüp başına uygulanan madde miktarları	27
Çizelge 3. 5. Hipotez değerlendirme tablosu	35
Çizelge 4. 1. Sertralinin <i>Drosophila melanogaster</i> 'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (normal kanat).	39
Çizelge 4. 2. Sertralinin <i>Drosophila melanogaster</i> 'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (serrat kanat).	40
Çizelge 4. 3. Fluoksetinin <i>Drosophila melanogaster</i> 'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (normal kanat).	45
Çizelge 4. 4. Fluoksetinin <i>Drosophila melanogaster</i> 'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (serrat kanat).	46
Çizelge 4. 5. Sitalopramın <i>Drosophila melanogaster</i> 'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (normal kanat).	51
Çizelge 4. 6. Sitalopramın <i>Drosophila melanogaster</i> 'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (serrat kanat).	52

SİMGELER VE KISALTMALAR

Simgeler

mm	milimetre
mM	milimolar
mg	miligram
kg	kilogram
mL	mililitre
µL	mikrolitre
g	gram
cm	santimetre
µg	mikrogram
µm	mikrometre
CO ₂	karbondioksit
NaCl	sodyum klorür

Kısaltmalar

<i>mwh</i>	Çoklu kanat kılı (Multiple wing hair)
<i>flr³</i>	Kıvrık kanat kılı (flare wing hair)
<i>Bd^S</i>	Beaded-Serrate
SMART	Somatik mutasyon ve rekombinasyon testi
EMS	Etil metan sulfonat
DNA	Deoksiribonükleik asit
MSS	Merkezi sinir sistemi
LSD	Lizerjik asit dietilamid
SERT	Serotonin gerialım taşıyıcı proteini
DMSO	Dimetil sülfoksit
5-HT	5-hidroksi triptamin (serotonin)
MAO	Monoamin oksidaz
MAOI	Monoamin oksidaz inhibitörü
NARI	Noradrenalin reuptake inhibitörü (Noradrenalin geri alım inhibitörü)
NASSA	Noradrenalin ve spesifik serotonerjik antidepressant

RIMA	Reversible monoamin oksidaz inhibitörü (Geri dönüşümlü monoamin oksidaz inhibitörü)
TCA	Trisiklik antidepresan
SNRI	Serotonin-noradrenalin geri alım inhibitörü
SSRI	Seçici serotonin geri alım inhibitörü
SCE	Sister chromatid exchange (Kardeş kromatidlerde parça değişimi)
CAS No.	Kimyasal kayıt numarası
M. A.	Molekül ağırlığı

GİRİŞ

İnsanlar yaşam tarzları, beslenme alışkanlıkları ve medikal çalışmalardan dolayı zararlı bileşiklere maruz kalmaktadırlar.

Günümüzde yiyeceklerin ve hayat boyu maruz kaldığımız sentetik olarak üretilen maddelerin güvenilirliği ve insan sağlığına zararlı etkileri üzerinde yapılan çalışmalar gittikçe daha fazla ilgi uyandırmaktadır. Bu bileşikler insan ve diğer canlılarda farklı fonksiyonel bozukluklara ve çeşitli hastalıklara neden olmaktadır. Bunun sonucunda genotoksik potansiyele ve çeşitli hastalıkların ortaya çıkma risklerine yönelik araştırmalar da giderek artmaktadır.

Bu bileşiklerden büyük bir kısmı ilaç ve etken maddelerden oluşmaktadır. Bu etken maddeler günümüzde hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Bunlardan en önemlilerinden biri seçici serotonin geri alım inhibitörleridir.

Günümüzün yaşam tarzından dolayı her on kişiden biri depresyona girmekte ve bunun tedavisi ile ilgili genel olarak antidepresan ilaçlar kullanılmaktadır. Birçok durumda ilaçla tedavi, vücutta farklı seviyelerde ikinci bir sağlık sorununa sebep olmaktadır. Tedavide kullanılan antidepresan ilaçlar genelde uzun süreli ve sürekli kullanılmaktadırlar ve bu nedenle potansiyel hasarlar kimyasalın uzun süre kullanılması sonucunda olabilmektedir [1]. Ayrıca günümüzde antidepresan ilaçlar depresyon tedavisinin dışında kronik ağrı, premenstural sendrom, doymama hastalığı, dikkat eksikliği, panik bozukluk, hiperaktivite bozukluğu, sigara bırakma ve bunun gibi çeşitli hastalıkların tedavisinde de sıkça kullanılmaktadır [2, 3].

Bu kimyasalların ve etken maddelerin canlı metabolizmasında potansiyel etkilerini belirlemek için yapılan çalışmalar hastaların gözlenmesi ve bunun yanında fare ve sıçan gibi memeliler üzerinde yoğunlaşmıştır. Bu madde ve bu maddeleri içeren ilaçların olası genotoksik potansiyelleri, maddeyi tedavi süreçlerinde kullanan veya bir şekilde maruz kalan hastalardan alınan kan ve doku örnekleri incelenerek ortaya çıkarılmaktadır.

Son yıllarda bu etken maddelerin olası etkilerini insan vücudunda zarar meydana gelmeden ve daha kısa sürede ortaya çıkarmak için omurgasız canlılar üzerinde çeşitli çalışmalar yapılmıştır.

Günümüzde endüstriyel ve evsel atıklar, sucul ortamlara kontrolsüz atılmakta ve atıklarda bulunan olumsuz maddelerin konsantrasyonları sucul ortamda endişe verecek oranda artmaktadır. Buna bağlı olarak bu habitatta yaşayan canlılar zarar görmekte ve çalışmaların büyük bir kısmı biyoindikatör olarak kullanılan sucul omurgasızlar üzerinde yoğunlaşmaktadır [4]. Ancak sucul omurgasızlar büyük omurgasız gruplarının tamamını temsil etme konusunda yetersiz kalmaktadır [5].

Bu tez çalışmasında kullanılan *Drosophila melanogaster* karasal bir böcek olmasının yanı sıra, genetik, fizyolojik ve nörobiyolojik açılarından insana büyük benzerlik göstermesi sebebiyle genotoksisite çalışmalarında daha güvenilir sonuçlar verebilmektedir. Bu nedenle bu çalışmada 1990'lı yılların başından bu yana kullanılan seçici serotonin geri alım inhibitörleri ailesinden sertralin, fluoksetin ve sitalopramın genetik materyal üzerinde olası etkileri *D. melanogaster*'in kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi (SMART) ile *in vivo* olarak araştırılmıştır. Bu test çeşitli avantajları nedeni ile genetik toksikolojisinde yaygın olarak tercih edilen ve kullanılan standart bir test yöntemidir [6].

Bu amaçla *D. melanogaster*'in *flare* ve *mwh* soyları çaprazlanmış, belirli bir süre sonra yumurta ve larvalar toplanmış, belirlenen dozlarda kimyasal ve hazır besiyeri (Carolina) ile hazırlanan uygulama tüplerine alınmıştır. Böylece larvalar istenilen süre boyunca kimyasal ile beslenmiştir.

Yapılan kanat benek testi, genetik materyal üzerinde meydana gelen değişiklikler sonucunda oluşan mutant klonlar, biyolojik açıdan anlamlı olan 3 kategoriye ayrılmıştır. Kategoriler; sadece *mwh* tipi klonlardan oluşan küçük tekli benekler, *mwh* ya da *flare* tipi klonlardan oluşan büyük tekli benekler ve hem *mwh* hem de *flare* tipi klonlardan oluşan ikiz benekler olarak adlandırılmıştır.

Bu sınıflandırmaya göre kanatlarda oluşan benekler kaydedilmiş ve veriler hipotez testleri ve microsta adlı program ile istatistiksel olarak değerlendirilmiştir.

2. GENEL BİLGİLER

2. 1. Antidepresanlar

Antidepresan, depresyon veya distimi (kronik depresyon) gibi hastalıklarda kullanılan psikiyatrik ilaç, besin veya bitkisel maddeleri tanımlayan bir terimdir. Antidepresan ilaçların çoğu etkilerini zamanla gösterir ve bu yüzden tüketimleri haftalar, aylar veya yıllarca devam edebilir. Antidepresanlar stimülanlardan ve hemen öforik etki gösteren ilaçlardan ayrılırlar. Antidepresan ilaçlar, depresyon ve distiminin dışında anksiyete bozuklukları, bipolar bozukluk, obsesif ve kompulsif bozukluk (saplantılı ve takıntılı olma), sosyal fobi, dikkat eksikliği, hiperaktivite bozukluğu (ADHD), uyku bozuklukları, bulimia nervosa gibi yeme bozuklukları ve ayrıca kronik ağrı tedavilerinde kullanılmaktadır. Ayrıca düşük dozlu antipsikotikler ve benzodiazepin gibi diğer ilaçlar da antidepresan sınıfına girmese bile depresyon tedavileri için kullanılmaktadırlar [7]. Monoamin oksidaz (MAO) inhibitörleri, trisiklik antidepresanlar ve seçici serotonin geri alım inhibitörü gibi ilaç grupları antidepresanlar arasında tanımlanmaktadırlar. Antidepresan ilaçların etken maddelerinin ortaya çıkması 1950'li yıllara kadar uzanmaktadır [8]. Modern psikotrop ilaçların psikiyatrik tedavide kullanımı tesadüfen olmuştur. Tamamen sentetik olarak hazırlanan chlorpromazin ilk olarak 1952 yılında şizofren hastalarında kullanılmıştır ve iyileştirici etkisi belirlenmiştir. Bu ilacın ilk kez psikotik bir hastalıkta kullanımı psikofarmakoloji alanında yenilikçi bir yaklaşım olmuştur [9].

Psikofarmakolojide ikinci önemli yenilik chlorpromazin'nin sentezinden bir süre sonra monoamin oksidaz inhibitörü (MAOI) türü antidepresanların keşfedilmesi olmuştur. Bu keşifte de etken maddenin tedavideki etkisi tesadüfen belirlenmiştir.

Tüberkülozlu hastaların tedavisindeki kullanılan iproniazid ile bu hastaların olmaları gerekenden daha hareketli ve neşeli oldukları gözlenmiştir. Bunun nedeni ilacın Monoamin oksidaz (MAO) enzimini inhibe ederek beyindeki monoamin seviyesini değiştirmesidir. Böylece 1956 yılında iproniazid ilk kez hastaların tedavisinde kullanılmıştır [10]. İproniazid'in toksik ve yan etkilerinin çok olması, yaygın bir şekilde kullanımını engellemiş ancak bu konudaki çalışmalara hız kazandırmıştır.

Aynı şekilde trisiklik antidepresanların (TCA) etken maddeleri, pre-anestezik ilaçların araştırılması ile ortaya çıkmıştır. İmipramin'nin psikotik etkisi araştırıldığında ilacın

böyle bir etkisinin olmadığı belirlenmiştir. Fakat yapılan çalışmalarda depresyon tedavisinde düzelmeye neden olabileceği belirlenmiş ve ilacın psikofarmakolojik ilaç sektöründeki kullanımı hızlı olarak gelişmiştir. Monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOI) ve trisiklik antidepresanların (TCA) beyin nörotransmitterleri üzerindeki etkilerinin belirlenmesi, depresyonlarda biyojenerik amin hipotezinin ortaya çıkmasına ve geliştirilmesine neden olmuştur. Sonuç olarak depresyonda beyinin noradrejenik ve serotonerjik fonksiyonlarında düşüş olduğu ortaya çıkmıştır [9]. Bundan sonra psikotropik hastalıkların tedavisi için farklı bir ilaç grubu olan seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) tasarlanmıştır.

Antidepresanların kullanım tarihine bakacak olursak, 1957-1970 yılları arasında TCA ve MAOI grubu ilaçlar, 1970-1980 yılları arasında NARI (noradrenalin geri alım inhibitörü) grubu ilaçlar, 1980'li yıllardan sonra SSRI'lar, RIMA (geri dönüşümlü monoamin oksidaz inhibitörü), SNRI (serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörü), NASSA (noradrenalin ve spesifik serotonejik antidepresan) ve diğer antidepresan ilaç grupları depresyon tedavisi için kullanıma sunulmuştur [11].

Norepinefrin, serotonin ve dopamin gibi bazı nörotransmitterler sinaptik aralığa salındıktan sonra sinir uçlarından geri alınırlar. Bu sistem, nörotransmitterlerin etkilerinin sona ermesine yol açar ve post sinaptik membrandaki diğer reseptörlerin aşırı uyarılmasının engellenmesine neden olur. Antidepresanlar bu geri alım sistemini bloke ederek ve sinaptik aralıkta nörotransmitterlerin seviyesini yüksek tutarak etkili olurlar. Nörotransmitterlerin etkileri antagonist bir ajan yolu ile post sinaptik reseptörlerin bloke edilmesi ile seçici ve ani bir şekilde ortadan kaldırılabilir [11]. Araştırmacılar, bu etkilerin, üç önemli nörotransmitterin (dopamin, norepinefrin ve serotonin) yıkımına sebep olan monoamin oksidaz enziminin aktivitesinin bloke edilmesi ile ortaya çıktığını belirlemişlerdir [8].

Monoamin oksidaz inhibitörlerinin (MAOI) yanı sıra, norepinefrin ve serotonin geri alım sistemlerinin bloke edilmesinde etkili olan trisiklik antidepresanlar da (TCA), bu dönemde ortaya çıkarak tedavilerde kullanıma başlamıştır [12].

Psikolojik hastalıkların tedavisi için giderek kullanımı artan bu ilaçların, zamanla ölümcül yan etkileri ortaya çıkmıştır. Bu yüzden araştırmacılar daha güvenilir ve yan etkileri daha az olan etken maddeleri bulmak için çalışmalar yapmaya başlamışlardır.

1990'lı yılların başından itibaren, yan etkilerinin daha az olduğu düşünölen serotonin-norepinefrin geri alım inhibitörleri (SNRI) ve seçici serotonin geri alım inhibitörleri (SSRI) grubu ilaçlar piyasaya sürölerek tedavilerde yaygın olarak kullanılmaya başlanmıştır. Ancak bu tarihten sonra SSRI grubunun etken maddeleri üzerinde yapılan çalışmalar, bu maddelerin yan etkilerinin yanı sıra toksik etkiler de gösterebileceğini ortaya çıkarmıştır [13].

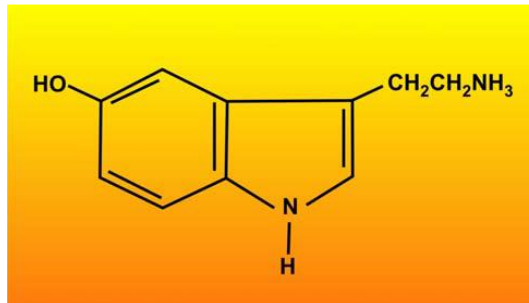
Serotonin

Serotonin ilk kez 1937 yılında Erspamer ve Vialli tarafından düz kaslarda kasıcı etkisinden dolayı enteramin olarak tanımlanmıştır [14]. Ayrıca aynı dönemde Rapport ve arkadaşları tarafından (1937) serotonin olarak adlandırılmış ve hipertansiyona sebep olan bir molekül olarak tariflenmiştir. Daha sonra 1948 yılında öküzdten alınan serumlarda kratinin ve sulfurik asitle kompleks yapan vazokonströktör madde olarak izole edilmiş serotonin olarak isimlendirilmiştir [15].

1953 yılında Twarong ve Page, serotonini beyinden izole etmişler ve aynı yılda Gaddum, LSD-25 (liserjikasid dietilamid-25)'in anti-seroton etkisi olduğunu belirlemiştir [2, 16].

Serotoninin mental bozukluklar ile bağlantılı olduğunu düşönen araştırmacılar, çalışmalarının bir kısmını, bu maddenin somatik sinir sistemindeki fizyolojik rolü üzerine yapmışlardır [2, 16].

Serotonin yapı olarak bir indoletilamindir (C₁₀ H₁₂ NO₂) ve molekül ağırlığı 176.2 dir. Bu maddenin kimyasal yapısı 5-hidroksitriptamin (5-HT) olarak belirlenmiştir (Şekil 2. 1).



Şekil 2. 1. Serotoninin kimyasal yapısı.

Serotonin bağırsak ve gastrik mukozasının enterokromafin hücrelerinden izole edilebilmektedir. Çünkü vücuttaki serotoninin %90'dan fazlası gastrointestinal sistemindeki enterokromafin hücrelerinde depolanmaktadır [17, 18].

Vücuttaki toplam serotoninin sadece %1'i merkezi sinir sisteminde bulunmasına rağmen, kan basıncı regülasyonu, uyku mekanizması, termo-regülasyon, davranışlar, hafıza ve yeme-içme gibi bir çok önemli olaylarda rol almaktadır [19]. Bazı hastalıklar, serotonin metabolizmasındaki patolojik değişiklikler ile birlikte ortaya çıkmaktadır. Örneğin, karsinoid sendromunda, serotonin miktarı ve ölçümü hastalık teşhisinde çok değerlidir. 1954 yılında tanımlanmış olan karsinoid sendromunun önemli bir madde olarak görülmesinin nedeni, serotonin düzeyinin yüksek olduğu düşüncesidir [20, 21]. Serotoninin farklı sistemlerdeki yeri ve mekanizmaları ile ilgili yapılan çeşitli araştırmalar sonucunda bu maddenin çok önemli bir monoamin olduğu ortaya çıkmıştır [22].

Serotonin omurgalı, omurgasız ve bitkiler olmak üzere çok farklı canlı gruplarında bulunabilmektedir. Sentezi; köpek, ördek, balık, kaplumbağa, akrep, böcek ve örümcek gibi farklı canlılarda gösterilmiştir [17, 23].

Son yıllarda yapılan çalışmalar, serotoninin beyin gelişiminde ve nöral dokuların oluşumunda (nörogenez) önemli rol oynadığını ortaya çıkarmıştır [24, 25]. Araştırmalar sonucunda serotoninin omurgasızlarda merkezi sinir sistemi (MSS) ve motor fonksiyonlarında değişimlere neden olduğu tespit edilmiştir [26]. Memeli sinir sisteminde epinefrin, serotoninine benzer bir fonksiyon göstermektedir [27].

Wooley ve Shaw (1954) serotoninin beyin gelişimindeki etkisini, bitkilerdeki büyüme hormonu olarak tanımlanan oksine benzediğini ispatlamışlardır [28]. Daha sonra Gaddum ve Picarelli (1975) tarafından serotonin reseptörlerinin var olduğu tespit edilmiştir [29]. Bugüne kadar serotoninin 7 farklı reseptörü saptanmıştır [30]. Serotoninin bu farklı reseptör alt tiplerinden olan selektif agonistlerden sumatriptan ve analogları migrenin akut tedavisinde, antagonistlerinden tropisetron ve analogları kemoterapiye bağlı kusmalarda, urapidil ve ketanserin de hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır [31].

Genel olarak nörotransmitterler kendi etkilerini reseptörler vasıtası ile gerçekleştirirler. *D. melanogaster* genomunda, 5-HT1Adro, 5-HT1Bdro, 5-HT2dro ve 5-HT7dro isimli 4 farklı serotonin reseptörü tespit edilmiştir [32]. Farmakolojik ve genomik çalışmalara göre serotonin reseptörlerinin bir çok alt tipi olduğu [33] ve bu alt tiplerin kendi aralarında homoloji gösterdikleri ortaya çıkmıştır [30]. Bu nedenle, uygun bir model organizma kullanılarak serotonin reseptörlerini etkileyen madde ve bileşenlerin genotoksik etkilerinin araştırılması, bu maddenin insan gibi, çalışılması tehlikeli ve uzun zaman alan canlılardaki fonksiyonlarına ışık tutacaktır.

2. 1. 1. Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri (SSRI)

1950'li yıllardan itibaren antidepresan olarak kullanılan trisiklik antidepresan gruplarında ortak olan yan etkilerinden (prokonvülsif etkinlik, antikolinergik etkileri gösterme, hipotansiyon ve üst dozlarda belirgin kardiyotoksisite) dolayı daha az yan etki gösteren ilaçları bulmak amaçlanmaktadır. Bu çalışmalar sonucunda, trisiklik olmayan yeni antidepresan grupları geliştirilmiştir. Bu antidepresanların bazılarının tedavi süreçleri, trisiklik antidepresanlara göre çok avantajlı olmasa da yan etkileri açısından daha güvenilirdir.

Seçici serotonin geri alım inhibitörler grubu antidepresanlar, MAOI ve TCA grubu ilaçların aksine tedavi dozlarında beyindeki diğer nörotransmitterlere (adrenalin, dopamin ve nörepinefrin) hiç etki göstermeden ve doğrudan serotoninin geri alımını çok güçlü bir şekilde bloke ederler. Bu yüzden seçici olarak adlandırılırlar [34, 35].

Günümüzde seçici serotonin geri alım inhibitörlerinin (SSRI), major depresyonlarda etkili olduğu kadar panik bozukluk ve saplantılı bozukluk gibi çeşitli psikolojik hastalıkların tedavisinde de etkili oldukları kabul edilmiştir. Yukarıda değinilen maddelere göre daha güvenilir olduklarından dolayı çoğu ülkede en yaygın olarak reçetelenen antidepresanlardır [36].

Bu ilaçlar başta depresyon olmak üzere birçok psikiyatrik hastalığın sebebi olan serotonin nörotransmisyonundaki bozuklukların araştırılmaya başlamasından sonra geliştirilmiştir.

Seçici serotonin geri alım inhibitörleri grubundan ilk sentezlenen ilaç 1987 yılında zimelidin olmuştur. Ancak bu ilacın Gullian Barre sendromuna neden olduğu ortaya çıkınca kullanımı sonlanmıştır. Bu ilaç yerine 1988 yılında sentezlenen SSRI

grubundan fluoksetin günümüzde de yaygın olarak kullanılmaktadır. Zimedin'in sonra bu güne kadar SSRI grubundan 5 ilaç sentezlenmiştir: fluoksetin, fluvoksamin, sertralin, paroksetin ve sitalopram [37].

Bu grup ilaçların etki mekanizmaları her ne kadar aynı olsa da seçici serotonin geri alım inhibitörleri kendi aralarında farmakokinetik açıdan farklılık göstermektedir.

SSRI grubu ilaçların konsantrasyonlarına bağlı olarak etkileri sırasıyla şunlardır:

- 1- Serotonin sinir terminallerine geri alımının engellenmesi,
- 2- Antidepresif etkinlik,
- 3- Serotonine bağlı olan yan etkilerin sıklığı ve ağırlığı,
- 4- Sitokrom (P450) enzim sistemine etkisi,

SSRI grubu ilaçlar gastrointestinal sistem tarafından yavaşça ve tamamen emilirler ve genelde bu emilimleri besinlerden olumsuz olarak etkilenmez. Bu ilaçların, plazma konsantrasyonlarının pik yapma ve geniş dağılım gösterme süreleri 3-8 saat arasındadır. Ancak proteinlere bağlanma kapasiteleri, aktif metabolitleri, sitokrom P enzimlerini de içeren metabolizmaları, yarı ömürleri, dozlara yanıt ilişkilerinin doğrusal olmaları veya olmamaları, seçicilik düzeyleri, yaşa bağlı etkileri ve organ yetmezliklerindeki etkileri açısından birbirlerinden farklıdırlar.

SSRI grubu ilaçlar, serotonin geri alımını inhibe etme açısından şu şekilde sıralanmaktadır:

sitalopram > paroksetin > sertralin > fluvoksamin > fluoksetin [37].

Pre-sinaptik nöron uçların keseciklerinden salgılanan serotonin, sinaptik aralığa geçtikten sonra post-sinaptik nöronlardaki serotonin reseptörlerine bağlanarak impulsları oluşturur ve ardından pre-sinaptik nöronlardaki serotonin geri alım taşıyıcı proteinleri (serotonin reuptake transporter protein – SERT) vasıtası ile geri alınır. Bu geri alım mekanizması beyindeki serotonin salgılanma seviyesini ayarlama konusunda çok önemli bir rol oynamaktadır.

SSRI grubu antidepresanlar, SERT kanalını bloke ederek serotoninin geri alımını engeller ve bu yolla beyindeki serotonin seviyesinin yüksek olmasına neden olurlar

[12]. Beyindeki serotonin konsantrasyonunun fazlalığı, hastalarda belirgin bir şekilde depresyon işaretlerinin azalmasına neden olduğu daha önceki çalışmalarda tespit edilmiştir [8].

Son yıllarda ilaç ve diğer kimyasal atıkların ayrıştırılmadan çöplere ve atık maddelere karışması, çevreye ve özellikle açık denizlerdeki sucul hayvan ve organizmalar için ciddi bir tehlike haline gelmiştir [38]. SSRI grubu antidepresan etken maddelerinden, fluoksetin ve sertralin'in zooplanktonlar üzerindeki olası toksik etkilerini belirlemek amacı ile yapılan bir çalışma sonucunda, bu etken maddelerinin çevresel olarak tolere edebilir dozlarda populasyonlar üzerinde henüz toksik bir etki göstermedikleri belirlenmiştir [39].

Bu tez çalışmasında kullandığımız SSRI grubu antidepresan etken maddelerinden, fluoksetin (FLU), sertralin (Ser), ve sitalopram (Cit), 2011 yılının verilerine göre ABD'de en çok kullanılan ilaçlardır [40].

2. 1. 1. 1. Sertralin

Sertralin (sertralin hidroklorür, $C_{17}H_{17}NCl_2 \cdot HCl$), ilk olarak 1991 yılında piyasaya çıkarılmış olan ve nöral serotonin (5-HT) için çok güçlü ve seçici özelliği yüksek olan bir geri alım inhibitörüdür. Bu yüzden depresyon tedavisinde en çok kullanılan etken maddelerden biridir. Ancak MAOI ve TCA'lerden farklı olarak diğer nörotransmitterler üzerinde göz ardı edilebilir bir etkisi vardır ve bu nedenle antikolinergik, antihistaminik ve antidopaminerjik etkileri olan ilaçların sebep olduğu yan etkilere sahip değildir [41].

Klinik dozlarda sertralin, trombositlerde serotonin alımını bloke eder. Sertralin sedasyon yapmaz ve psikomotor performansda bir etkisi yoktur. Nöral serotoninin (5-HT) geri alımı üzerine yaptığı seçici inhibisyon ile uyumlu olarak sertralinin katekolaminerjik aktivitesini çoğaltmaz. Sertralin kolinerjik reseptörlerini etkilemediği gibi serotonin, dopamin, adrenalin, histamin, GABA veya benzodiazepin reseptörlerinde de etkisi yoktur. Sertralin özellikle diğer SSRI grubu ilaçları tolere edemeyen hastalara faydalıdır [41].

Sertralin erişkin hastalarda major depresif bozukluk tedavisinde, hem erişkin hem de çocuk hastalarda obsesif-kompulsif bozukluk, panik bozukluğu ve anksiyete

bozukluğu gibi hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan etken bir maddedir [42].

Ancak son yıllardaki çalışmalara göre; uyku problemi, cinsel isteksizlik ve cilt problemleri gibi yan etkilerinin yanında genç hastalarda intihara sebep olabileceği belirlenmiştir [42]. Sertralin, özellikle hamile kadınlarda ciddi akciğer hasarlarına ve fetusta morfolojik bozuklukların ortaya çıkmasına neden olabilmektedir [43].

Draz ve arkadaşları (2009) SSRI grubundan fluoksetin ve sertralin, TCA antidepresan grubundan da chlomipramin kullanan bir grup hastada bir çalışma yapmıştır [36]. Bu çalışmada ilaçları kullanan belli sayıda kadın ve erkek hastaların ve kontrol grubu olarak ilaç kullanmayan sağlıklı kişilerin lökosit izolasyonu yapılarak, jel elektroforez yöntemi ile oluşan DNA hasarları birbiri ile karşılaştırılmıştır. Sonuç olarak, bu ilaç gruplarının önemli ölçüde DNA hasarı oluşturduğu tespit edilmiştir [36]. Ayrıca çalışmada en çok hasarın fluoksetin kullanan hastalarda ve en az hasarın ise chlomipramin kullanan hastalarda olduğu gözlenmiştir. Çalışma sonuçlarına göre erkek hastalarda oluşan DNA hasarının, kadın hastalara göre daha fazla olduğu belirtilmiştir [36].

Ayrıca bu konuda günümüze kadar çeşitli yöntemler ile yapılan çalışmaların toplandığı bir yayında, sertralinin erkek sıçanlarda karaciğer tümörüne (günde 10 mg/kg), dişi sıçanlarda ise tiroid ve uterus tümörlerine (günde 40 mg/kg) neden olduğu belirtilmiş ve sitalopramın da sıçanlarda ince bağırsak tümörüne sebep olduğu tespit edilmiştir [13].

Başka bir çalışmada sertralinin ratlardaki somatik büyüme ve refleks gelişimleri üzerindeki etkileri araştırılmış ve bu çalışmanın sonucunda sertralin konsantrasyonunun fazla olduğu sıçanlarda vücut ve organ gelişimlerinin geciktiği, vücut ağırlıklarının azaldığı, kuyruk ve kafa gelişimlerinin yavaşladığı tespit edilmiştir [44].

2. 1. 1. 2. Fluoksetin

Fluoksetin (fluoksetin hidroklorür, $C_{17}H_{18}F_3NO \cdot HCl$) isimli etken maddenin, santral nöronlarda serotoninin geri alımını inhibe ederek antidepresan etkisi gösterdiği

düşünülmektedir. Fluoksetin de diğer SSRI'lar gibi seçici olarak serotoninin geri alımını engeller ve noradrenalin ve dopamin geri alımını etkilemez.

Fluoksetin ilk SSRI grubu etken maddelerinden biridir. Bu etken madde 1987 yılında piyasaya tanımlanmış ve 2001 yılından itibaren genel kullanımına başlanmıştır.

Fluoksetin; adrenalin, asetilkolin, serotonin, histamin, dopamin ve GABA reseptörleri ile bağlantı yapmaz. Fluoksetin uzun yıllardan beri erişkinlerde ve çocuklarda major depresif bozukluk, panik bozukluğu, obsesif-komplusif bozukluk, bulimia nervosa, premenstrüel disforik bozukluğu gibi çok çeşitli psikiyatrik hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılan SSRI grubu ilaçlardandır [45].

Farklı grup antidepresanların etken maddeleri ve SSRI grubundan sadece fluoksetin kullanıldığı bir çalışma sonucunda da ilaç dozları arttıkça, sıçan C6 glioma hücrelerinde DNA hasarlarının arttığı gözlenmiştir [46].

2. 1. 1. 3. Sitalopram

Sitalopram (sitalopram hidrobromür, $C_{20}H_{21}FN_2O \cdot HBr$), Citalopram olarak da isimlendirilmektedir. Sitalopram, serotonin için en yüksek seçicilik özelliğine sahip olan bir moleküldür, ancak karaciğer sitokrom P enzimleri ailesi ile çok az etkileşime geçer ve bu nedenle diğer ilaçlar ile etkileşimlerden çok az etkilenmektedir.

Sitalopram başta major depresif bozukluklar olmak üzere, relaps/reküransların önlenmesinde, yaygın anksiyete bozuklukları, obsesif-kompulsif bozukluk, adet öncesi depresif duygular, beden dismorfik bozukluk ve agorafobili veya agorafobisiz panik bozukluğu gibi mental hastalıkların tedavisinde yaygın olarak kullanılmaktadır. Ayrıca Alzheimer hastalarının davranış sorunları üzerinde etkili olan nadir ilaçlardandır. Ancak ince bağırsak gibi organlarda 5-HT konsantrasyonunu artırarak bazı yan etkilerin meydana gelmesine sebep olabilir [23].

Sitalopram da dahil olmak üzere tüm SSRI grubu ilaçların, MAO inhibitörler grubu ile birlikte kullanıldığı durumlarda, hipertansif krizlere (serotonin sendromu) ve ölümcül olabilen yan etkilere neden olabileceği belirtilmektedir [8].

2. 2. Toksisite ve Genotoksisite

Bir maddenin canlı bir organizma üzerinde zararlı veya zehirleyici etkisi toksisite olarak tanımlanmaktadır. Toksik etkiye sebep olan maddeye toksik veya toksikant denir. Çevremizde bulunan bir çok madde miktarları yeterince fazla olduğunda toksik etkiye sahip olabilir [47].

Eğer bir maddenin toksik etkisi, organizmanın genetik materyali üzerinde değişikliğe neden oluyorsa bu etkiye genotoksik etki ve o maddeye de mutajen denir. Genetik toksikolojinin temel konusu, genotoksik maddelerin hücre veya organlarda kalıtıma etkileri ve bu etkilerin mekanizmalarıdır.

Genetik toksikologlar, mutajenlerin karakterizasyonu ve bu mutajenlerin neden olabileceği riskleri belirlemek için çeşitli test sistemleri kullanmaktadırlar.

Mutajenler şimdiki ve sonraki nesillerde genetik materyal üzerinde hataları indükleyip, kanser oluşumu gibi somatik hücre hasarlarını artırırılar [48]. Deney hayvanları üzerinde uygulandığı zaman tümör veya kanser oluşturan maddelere karsinojen, kanserojen veya onkojen denmektedir. Karsinojenik maddeler fiziksel, kimyasal ve biyolojik kökenli olabilir [49].

Fiziksel karsinojenler: Fiziksel karsinojenlere en iyi örnek radyasyonlar ve ultraviyole (mor ötesi) gibi ışınlardır. Mor ötesi gibi ışınların karsinojenik etkilerinin temel nedeni, bu ışınların, DNA'nın yapısını oluşturan moleküllerin yapılarını değiştirerek çeşitli mutasyonları indüklemesidir. Radyasyonlar da kromozom kırığı, translokasyon ve nokta mutasyonlara sebep oldukları için güçlü karsinojenlerden sayılırlar. Ayrıca fiziksel karsinojenlere örnek olarak sıcaklık verilebilir.

Viral karsinojen ajanlar: Virüslerin hepsi karsinojenik etki göstermez. Hayvanlarda tümörlere sebep olan yaklaşık 150 virüs türü bulunmuştur. Bu sayının yaklaşık 1/3'ü DNA, diğerleri ise RNA virüsüdür. DNA virüslerinden örnek olarak *Papova*, *Herpes*, *Epstein barr* (EBV), *Hepatit B* ve *Papilloma* virüslerini sayabiliriz. RNA virüslerine de *HTLV-1*, *fare meme kanseri* ve *fare lösemi virüsünü* örnek gösterebiliriz [50].

Kimyasal karsinojenler: Bu grup, karsinojenlerin en büyük grubudur. Karsinojenik etki gösteren kimyasalların, yapı ve etki mekanizmaları birbirinden farklıdır. Bu kimyasal maddeler etki mekanizmalarına göre sınıflandırılmaktadırlar:

a) Baz analogları: Örnek olarak 5-bromourasil timin analogudur. Bu baz adenin veya guanine ile baz çiftleşmesi yapabilir ve böylece sonraki replikasyonlarda, timin-adenin baz çiftlerini, guanin- sitozin baz çiftlerine ve guanin-sitozin baz çiftlerini, timin- adenin baz çiftlerine dönüştürerek hataya sebep olabilir.

b) DNA'dan bazların uzaklaşmasına neden olan kimyasallar: Örneğin aflatoksin guanin bazına bağlanarak, guanini kararsız hale getirir ve böylece guanin DNA'dan uzaklaşır ve abazik (herhangi bir bazın olmadığı) bölge oluşur.

c) DNA'ya bağlanan kimyasallar: Örneğin etidyum bromür, çift iplikli DNA'daki bazların arasına girerek DNA'nın şeklini bozar. Böylece DNA replikasyonu ve DNA onarım sisteminin çalışmasını bozabilmektedir.

d) DNA'daki bazların değişimine neden olan kimyasallar: Örneğin EMS (etil metan sülfonat) guanin alkilasyonu gibi çeşitli nükleotid değişikliklerine neden olur ve bu nedenle rasgele mutasyonlara sebep olabilir. EMS 5×10^{-4} ile 5×10^{-2} gende bir genin mutasyonuna neden olur. EMS'nin etil grubu DNA'daki guanine saldırarak, anormal O⁶-etilguanin bazının oluşumuna sebep olur. Bu nedenle DNA replikasyonunda DNA polimeraz normal şartlarda guaninin karşısına sitozin getirmesi gerekirken O⁶-etilguanin karşısına timin getirir ve böylece sonraki replikasyonlarda G-C baz çifti, A-T baz çiftine dönüşerek hasar oluşur.

EMS zaman zaman guanini N7 ve adenini N3 pozisyonlarından da metilleyebilir. Bu durum DNA replikasyonunu bloke ettiğinden dolayı, onarılmazsa öldürücü bir hasar ortaya çıkabilmektedir [51].

EMS'nin oluşturduğu mutasyonlar genellikle nokta mutasyonlardır ve bu özelliklerden dolayı EMS bilim adamları tarafından mutajen olarak sıkça kullanılmaktadır [52].

2. 2. 1. Genotoksisite Testleri

Genetik toksikolojisinin temel konusu olan mutajenlerin sebep oldukları mutasyonları ve kromozom değişikliklerini belirlemek amacı ile çeşitli *in vivo* ve *in vitro* test sistemleri uygulanmaktadır [53].

2. 2. 1. 1. *In vitro* Genotoksisite testleri

Bu testler; insan, deney hayvanı ve çeşitli canlılardan alınan çeşitli dokuların hücre kültürlerinin veya bu amaçla üretilen hazır hücre kültürlerinin kullanıldığı mutajenite testleridir. Bu testler ile kromozom kırıklıkları, kromatid değişiklikleri, kromatid birleşmeleri ve halka kromozom oluşumu gibi kromozomal anormallikler saptanmaktadır.

In vitro genotoksisite testlerinden, beyaz kan hücrelerindeki kromozom kırıklarının sayılma yöntemi ve çeşitli bitki veya memeli hücre kültürlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD) yöntemi [54], örnek verilebilir.

Genotoksisite testlerinde bakteriler sıkça kullanılmaktadır [55]. Bakteriyel mutajenite testlerinden en iyi bilineni AMES testidir. Bu test sisteminde histidin bağımlı *Salmonella typhimurium* suşları kullanılır [56]. Nitrofuranlı gıda katkı maddelerinin çeşitli dozlarının mutajenite etkileri AMES testi ile araştırılmış ve bunların mutajen oldukları saptanmıştır [57].

Ökaryotların daha yüksek organizasyonlu canlılar olmaları mayaların bakterilere göre daha çok tercih edilmesinin sebebidir. Bu yüzden *Saccharomyces cerevisiae* ve *Schizosaccharomyces pombe* türleri mutajenite testlerinde en çok kullanılan model organizmalardır. Ökaryot olmalarından dolayı mayaların hücresel yapıları ve kromozom dizilimleri daha yüksek yapıları canlılara benzerliklerinin yanında, laboratuvar çalışmaları, kültürlerinin hazırlanması ve deneylerinin kurulması, yüksek yapıları canlılara göre daha kolaydır.

2. 2. 1. 2. *In vivo* Genotoksisite testleri

Bu testler genellikle memelilerde veya *Drosophila* türlerinde genotoksik etkileri araştırılan kimyasalların beslenme veya enjeksiyon gibi yöntemler ile canlıya verilmesi

ve bunun sonucunda indüklenen genotoksik etkinin farklı yöntemler ile belirlenmesine dayanmaktadır.

Bu amaçla yaygın olarak kullanılan memeli testlerinden biri dominant letalite testidir. Bu test sisteminde mutajenik etkisi araştırılan madde erkek sıçanlara uygulanır ve kromozomal değişiklikler, interfaz mikronükleusu sayımı ve mitotik metafaz kromozomlarındaki anormalliklerin analizleri ile saptanır.

Drosophila türlerinde kolaylıkla saptanabilen dominant letalitenin yanı sıra en çok çalışılmış konulardan biri de eşeye bağlı resesif letalitedir.

Eşeye bağlı resesif letaliteyi araştıran test sisteminde, eşey hücrelerinde oluşturulan mutasyonlar sonraki nesillerde bazı fenotiplerin gözlenip gözlenmediğine göre belirlenmektedir [58].

Genetik mekanizmaları ve detoksifikasyon mekanizmaları açısından memelilere olan benzerliğinden dolayı, *Drosophila melanogaster* toksisite ve genotoksisite çalışmaları için uygun bir model organizmadır.

Drosophila türleri bir çok kimyasal ve kimyasal karışımının metabolize edilmesi için gereken metabolik yolların çoğuna sahiptir. Ayrıca insanlar için karsinojenik etki gösteren birçok madde, bu organizmalar üzerinde yapılan testlerde de pozitif sonuçlar göstermektedir [59, 60, 61]. *Drosophila* türleri ile yapılan çalışmalarda promutajen ve prokarsinojenlerin etkilerinin araştırılmasında ilave metabolik enzimlere gerek yoktur. Halbuki kültüre alınan memeli hücrelerinde ve mikroorganizmalarda, memelilerin metabolik aktivasyon sistemlerinin çoğunun bulunmaması, bu testlerin yapıldığı kültür ortamlarına alternatif metabolik aktivasyon sistemlerinin de eklenmesini gerektirmektedir [6].

2. 3. SMART Testi

Model organizma olarak *D. melanogaster*'i kullanan testler içinde son yıllarda oldukça kullanılanlardan biri de somatik mutasyon ve rekombinasyon (SMART) testidir [62].

D. melanogaster'de somatik mutasyon ve rekombinasyon testi, fiziksel ve kimyasal ajanların genotoksik etkilerinin belirlenmesi için uygun bir test sistemidir [6, 63]. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testleri ile sadece bir nesilde sonuç

alınabilmektedir [62]. Mesela kanat benek testinde yapılan tek çaprazın sonucu elde edilen larvalara toksik etkisi araştırılacak madde uygulanır ve ergin hale gelen bireylerin kanat preparatları üzerinde incelemeler yapılır. Ayrıca kanat benek testi, antigenotoksisite deneyleri için de geniş bir varyasyon ve uygulama esnekliği sağlamaktadır [64]. Somatik mutasyon ve rekombinasyon test sisteminde hem önce (pre-) hem de sonra (post-), olmak üzere çeşitli dönemlerde, aynı anda bir veya birden fazla bileşik uygulanabilir [65]. Bu test sistemi ile çalışmanın amacına göre larvalara akut olarak, yani 1-6 saatlik periyotlarla veya kronik olarak, yani 24-96 saatlik sürekli uygulamayla toksik bileşik, besin yolu ile verilebilmektedir. Ayrıca bazı özel durumlarda kimyasal, enjeksiyon yolu ile de larvaya uygulanabilir.

SMART testi, üreme hücrelerindeki mutasyonları belirlemeyi hedefleyen testler ile karşılaştırdığında çok daha avantajlıdır [65]. Bu test sisteminde sonuç almak için sadece bir jenerasyon yeterlidir. SMART'da kullanılan kanat preparatlarındaki genetik işaretleri fark etmek oldukça kolaydır ve tek bir bireyde bile çok sayıda hücre analizi yapabilme imkanı bulunmaktadır. SMART testinde çalışma süresi oldukça kısadır. Bunun yanında bu test sistemi oldukça ekonomiktir. Yapılan birçok deney ve çalışma ile güvenilirliği kanıtlanmıştır. SMART testi ile nokta mutasyonları, delesyonlar, kromozom bozuklukları ve mitotik rekombinasyonlar belirlenmektedir [64].

SMART testinin temeli, uygun gen işaretlerinin heterozigotluğunun kaybına dayalıdır. Yani bir genin heterozigotluğunun herhangi bir mutasyonla kaybedilmesi mutant fenotipin ortaya çıkmasına neden olur [48, 66].

SMART testi, göz benek testi ve kanat benek testi olmak üzere iki çeşite ayrılır. Bu test yöntemleri *D. melanogaster* larvalarının imajinal disklerinde mitotik olarak çoğalan büyük hücre gruplarını hedef almaktadır. İmajinal diskler, larval gelişim döneminde mitozla çoğalırlar ve metamorfoz ile ergin bireyin farklı yapı ve organlarını oluşturmaktadırlar. Eğer imajinal disklerdeki hücrelerin herhangi birinin genetik materyali üzerinde bir değişiklik olursa bu değişiklik sonraki oğul hücrelere aktararak mutant hücre grupları oluşturur. Eğer bu genetik değişiklik fenotipte gözlenebilen bir değişikliğe neden olursa, mutant hücre grupları ergin bireyin kanatları ve gözlerinde mutant hücre benekleri olarak ortaya çıkarlar.

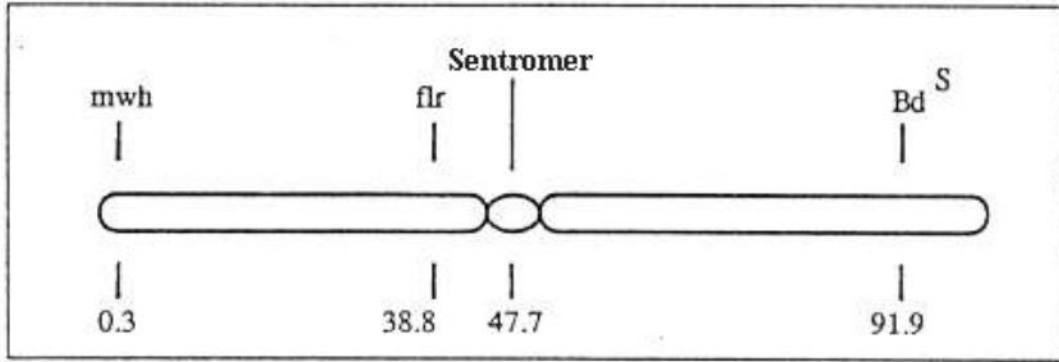
Bu çalışmada, *D. melanogaster*'in kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi veya diğer ismi ile kanat benek testi kullanılmıştır.

2. 3. 1. Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi

Bu test sisteminde kanat üzerinde fenotipik olarak gözlenebilen iki işaret geni kullanılmaktadır. Bu genlerden birincisi çoklu kanat kılı (*mwh*) genidir. Bu gen üçüncü kromozomun sol kolunun ucuna yakın (3-0.3) bölgesinde yer almaktadır (Şekil 3. 4).

Bu gen resesif bir gendir ve homozigot olarak (*mwh/mwh*) *mwh* stokları şeklinde tutulabilir. Homozigot olarak bulunduğu bireylerde hücre başına bir kanat kılı yerine çoklu kanat kıllarının oluşumuna neden olur [67].

Diğer işaret geni *flare* (*flr³*) ise kanat kıllarının şeklini etkileyen resesif mutant bir gendir. Bu gen, üçüncü kromozomun sol kolunda fakat sentromere daha yakın bir bölgede (3-38.8) yer almaktadır (Şekil 3. 4), (Şekil 2. 2).

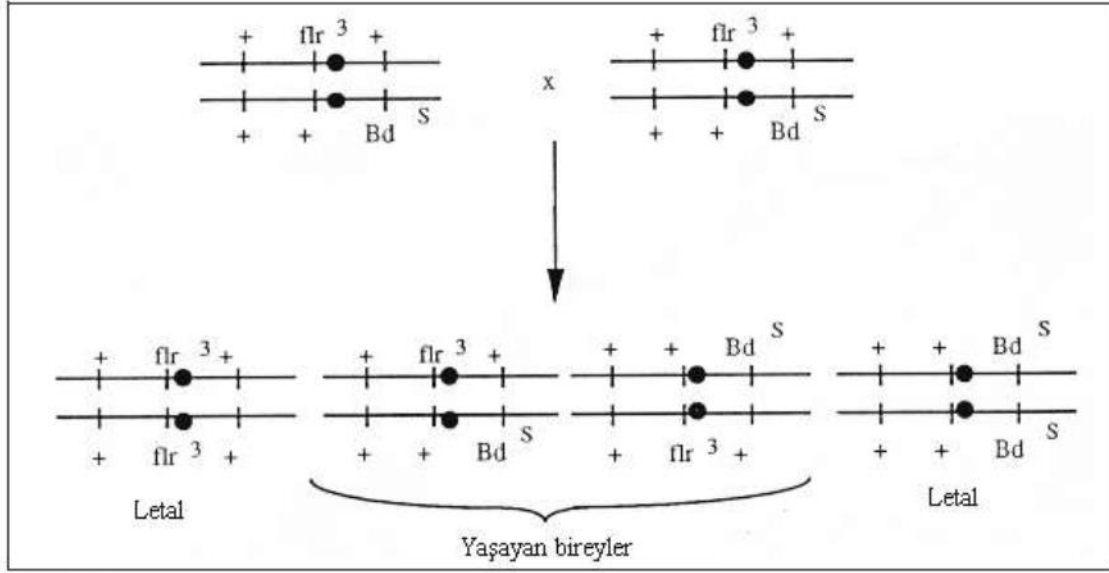


Şekil 2. 2. *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde kullanılan belirleyici genlerin üçüncü kromozom üzerindeki yerleşimleri [66, 67].

Flare geninin üç mutant alleli vardır ve her üçü de homozigot letaldır (*flr* geni için homozigot olan zigotlar ergin bireye dönüşemez).

Fakat heterozigot bir bireyin kanat imajinal disklerindeki homozigot hücreler yaşayabilir ve mutant kanat hücrelerini oluşturabilir. Homozigot letalite nedeni ile *Flare* allelleri, çok

inversiyonu olan homozigot halinde letal olan ve dominant bir işaret geni (*Beaded^S*(*Bd^S*)) taşıyan dengeleyici bir kromozom ile birlikte (*flr³/TM3*, *Bd^S*) stoklanabilir (Şekil 2. 3). Bu stoklarda kanat kenarları testere şeklindedir ve serrat kanat diye adlandırılır [67].



Şekil 2. 3. *flr³ / TM3*, *Bd^S* bireylerindeki homozigot letal etkiler [66].

Kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde farklı mutant soyları içeren iki tür çaprazlama kullanılmaktadır. Bunlardan biri standart çapraz (ST) diğeri ise yüksek biyoaktivasyon (YB) çaprazıdır.

Standart çapraz için *flr³/TM3*, *Bd^S* soyundan toplanan virjin dişiler, *mwh* soyundan toplanan erkek bireyler ile çaprazlanır. *flr³/TM3*, *Bd^S* soyu daha yüksek yumurta verimine sahip olduğu için standart çaprazın dişileri bu soydan kullanılmaktadır.

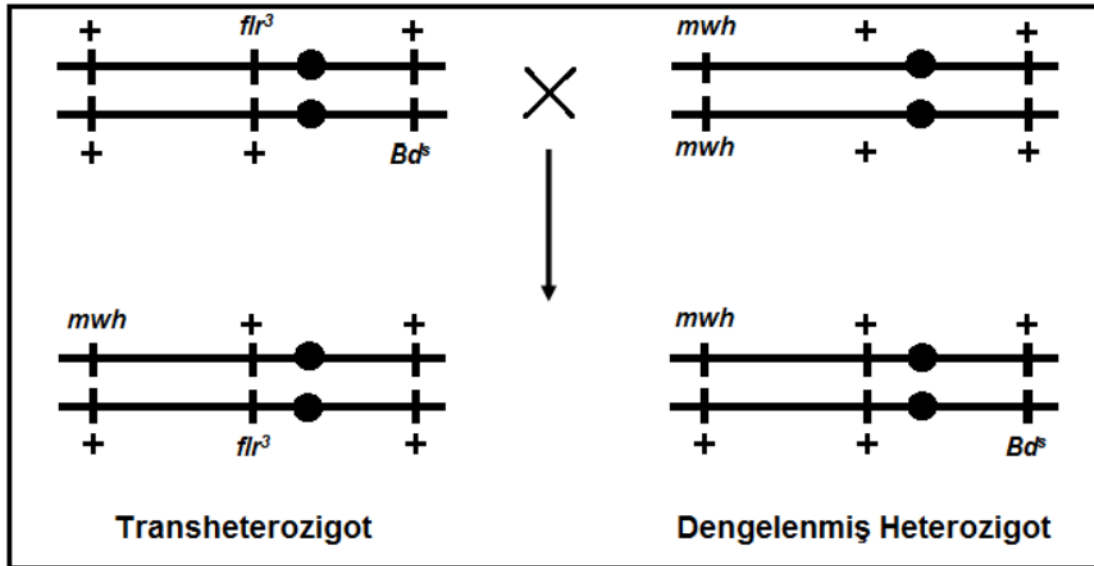
Yüksek biyoaktivasyon çaprazında ise *ORR/ORR*; *flr³/TM3*, *Bd^S* soyundan alınan virjin dişiler, *NORR/NORR*; *mwh* erkek bireyleri ile çaprazlanır. Yüksek biyoaktivasyon çaprazında kullanılan bu soylar, *D. melanogaster*'in DDT'ye dirençli olan Oregon-R

soyundan geliştirilmiştir. Bu soylar diğer mutant soylara göre ($flr^3/TM3$, Bd^S) daha yüksek sitokrom P450 seviyesine sahiptir. Yüksek biyoaktivasyon çaprazı ile birçok pro-mutajenin artan genotoksitesi belirlenmiştir [67, 68, 69, 70].

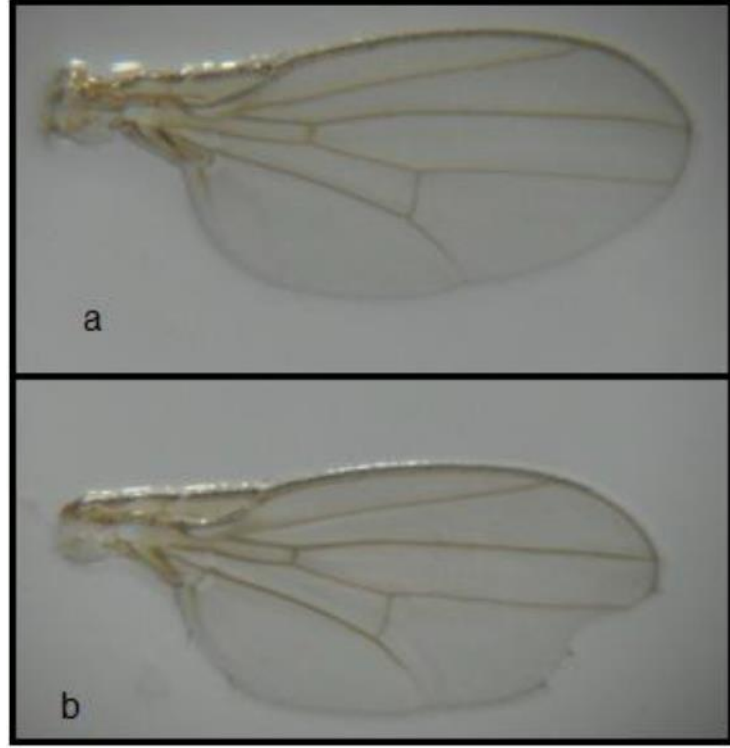
Her iki çaprazlamada da mutajenitesi araştırılan maddeler heterozigot larvalara uygulanmaktadır. Bu larvalardan gelişen ergin bireylerin kanatları, beklenen somatik mutasyonu belirleme amacı ile incelenmektedir.

Ergin bireyler fenotipik olarak ayırt edilebilen iki farklı fenotipe sahiptirler:

- a) Trans-heterozigot bireyler ($mwh\ flr^+/mwh^+ flr^3$; normal kanatları olan bireyler).
- b) Dengeleyici-heterozigot bireyler ($mwh\ flr^+/TM3, Bd^S$; kanat kenarları testere dişli olan bireyler) (Şekil 2. 4), (Şekil 2. 5).



Şekil 2. 4. $flr^3/ TM3$, Bd^S ve mwh/mwh çaprazı ve transheterozigot mwh/flr^3 ve dengelenmiş heterozigot $mwh/TM3$, Bd^S birey elde edilmesi [71].



Şekil 2. 5. Çaprazlardan elde edilen bireylerin kanat tipleri: a) transheterozigot bireylerin yabanıl tipteki kanatları, b) Bd^S genini taşıyan bireylerin testere uçlu (Serrat) kanat tipleri [50].

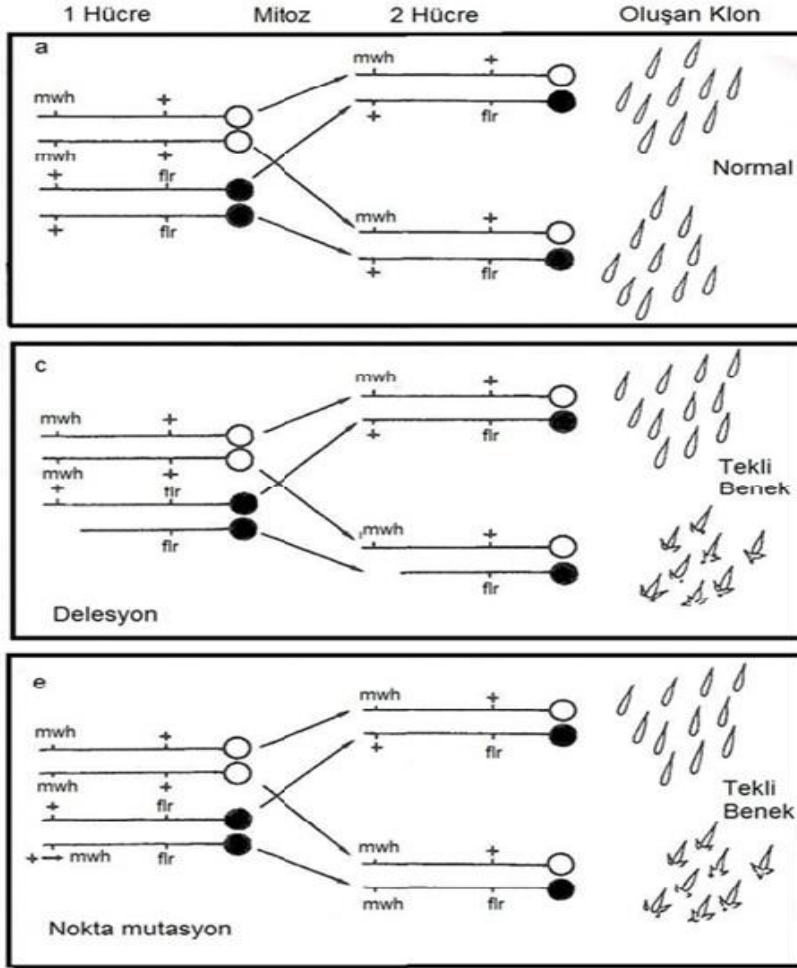
Dengeleyici-heterozigot bireylerde çok sayıda inversiyon olduğu için rekombinasyonlar engellenmiştir [67].

Kanat benek testinde meydana gelen mutasyonları belirlemek amacı ile kanatlar mikroskop altında incelenmektedir. Böylece mutasyon veya mitotik rekombinasyon sonucunda heterozigotluğun kaybedilebilmesi ile ortaya çıkan mutant hücre klonları araştırılmakta ve mutant hücre klonları farklı beneklere sahip gruplara ayrılarak kaydedilmektedir. Tekli benekler, *mwh* veya *flr* fenotipindeki hücrelerden oluşurken ikili benekler, *mwh* ve *flr* fenotiplerini gösteren hücreleri birlikte taşımaktadır [70].

Tekli beneklerden 1-2 hücreli olanlar küçük tekli benek olarak, 3 veya daha fazla benek olanlar ise büyük tekli benek olarak tanımlanmaktadır.

Ayrıca somatik hücrelerde mutasyonların indüksiyon zamanı ile mutant hücre klonlarının büyüklüğü arasında pozitif bir bağlantı saptanmıştır. Yani eğer mutasyon, hücre bölünmesinin başlarında ve yoğun olduğu dönemde meydana gelirse, bu mutant hücreden köken alan benekler daha fazla hücre içerdiği için daha büyük olacaktır [6, 48].

Farklı benek tipleri, farklı genetik mekanizma ve mutasyonlar sebebi ile ortaya çıkmaktadır. Tekli benekler, nokta mutasyonu, delesyon ve iki işaret geni (*mwh/flr*) arasındaki mitotik rekombinasyondan kaynaklanmaktadır. Ancak ikili benekler 3. kromozomun sentromeri ile *flr* geni arasındaki mitotik rekombinasyon sonucunda ortaya çıkmaktadır (Şekil 2. 6).



Şekil 2. 6. Somatik mutasyon ve rekombinasyon testinde kanat beneklerinin oluşumunun gösterilmesi: *mwh* ve *flr* hücre belirteçlerinin ifadesi, a) normal kromatid ayrılması, b) *flr* belirtecinin karşılıklı rekombinasyonu sonucu oluşan ikiz klon, c) delesyon sonucu, d) *flr* belirtecinin distal rekombinasyonu sonucu, e) nokta mutasyon sonucu ve f) ayrılmama sonucu oluşan tekli benekler [66].

3. GEREÇ VE YÖNTEM

3. 1. Kullanılan Organizma

Bu çalışmada, *Drosophila melanogaster*'in (Diptera, Drosophilidae) *mwh/mwh* ve *flr³/ln* (3LR) *TM3 Bd^s* mutant soylarına ait larva ve ergin bireyler kullanılmıştır.

Çaprazlarda kullanılan soylar, İsviçre Zürih Üniversitesi'nde bulunan Dr. F. E. Würgler tarafından geliştirilmiştir. Bu çalışmada kullanılan *Drosophila melanogaster* soyları Prof. Dr. Bülent KAYA'dan (Akdeniz Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü) temin edilmiştir.

3. 2. Deney Koşulları

3. 2. 1. Laboratuvar Koşulları

Bu çalışmada kullanılan stok kültürler, kontrol ve uygulama grupları 25±1°C sıcaklıkta, %40 – 60 bağıl nem oranında, 12 saat aydınlık, 12 saat karanlık ışık periyodunda ve sabit sıcaklığı koruyan kabinde (etüv) saklanmıştır. Çalışma boyunca stok kültürleri iki haftada bir taze besiyerine aktararak saklanmıştır. Kontrol ve deney gruplarını oluşturacak çiftleşmemiş (virjin) bireyler karbondioksit ile bayılarak toplanmıştır. Bu işlem sırasında, stoklar etüvden çıkarılmış ve bu sırada çalışılan ortamın sıcaklığının 25±1°C olmasına dikkat edilmiştir.

3. 2. 2. *Drosophila* Besiyeri

Laboratuvarımızdaki tüm stok kültürler standart *Drosophila* besiyerinde (Çizelge 3. 1) tutulmaktadır. Standart *Drosophila* besiyeri, mısır unu, şeker, bira mayası, agar, distile su ve anti-fungal amaçlı kullanılan asit karışımı içermektedir. Anti-fungal olarak hazırlanan asit karışımı, propionik asit, ortofosforik asit ve distile sudan oluşmaktadır (Çizelge 3. 2), [72].

Bu çalışmada, besiyerini mite ve bunun gibi parazit organizmalardan korumak için metil hidroksibenzoat (metil paraben) veya diğer adıyla nipagen çözeltisi (Çizelge 3. 3) kullanılmıştır. Besiyeri hazırlanırken önce asit ve metil paraben dışındaki diğer maddeler, karıştırılarak kaynatılır. Kaynadıktan sonra asit ve metil paraben çözeltileri eklenerek ılık halde 250 ml'lik şişelere ya da 2,5 cm x 7,5 cm boyutundaki cam tüplere dökülür. Besiyerleri, vantilatör karşısında kurutulduktan sonra tüp ya da şişeler steril pamuklarla kapatılarak kullanıma hazır hale getirilir.

Çizelge 3. 1. *Drosophila* besiyeri içeriği.

Madde	Miktar
Mısır Unu	13 g
Şeker	6 g
Maya	2,375 g
Agar	0,75 g
Asit karışımı (bkz. Çizelge 3. 2)	0,75 mL
Metil paraben (bkz. Çizelge 3. 3)	1,3 mL
Distile su	130 mL

Çizelge 3. 2. Asit karışımı.

Madde	Miktar (mL)
Propionik asit (%99)	104,50
Ortofosforik asit (%85)	10,4
Distile su	135,1
TOPLAM	250

Çizelge 3. 3. Metil hidroksibenzoat çözeltisi (%20'lik).

Madde	Miktar
Metil hidroksibenzoat	40 g
Etil alkol (%99)	200 mL

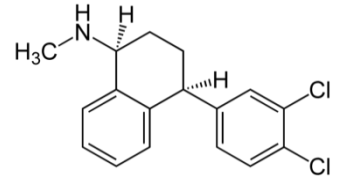
3. 3. Kullanılan Kimyasallar

3. 3. 1. Antidepresan Etken Maddeleri

Sertralin hidroklorür ($C_{17}H_{17}NCl_2 \cdot HCl$)

M.A.= 342.69 gr/mol

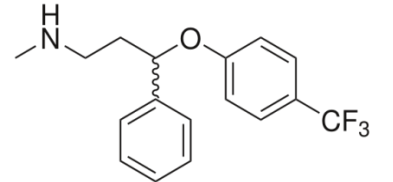
CAS No: 79559-97-0 (Sigma Aldrich Co. Ltd.)



Fluoksetin hidroklorür ($C_{17}H_{18}F_3NO \cdot HCl$)

M.A. = 345,79 gr/mol

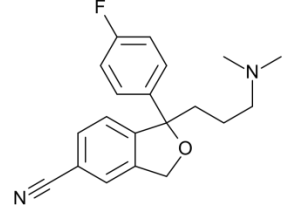
CAS No: 56296-78-7 (Sigma Aldrich Co. Ltd.)



Sitalopram hidrobromür ($C_{20}H_{21}FN_2O \cdot HBr$)

M.A. = 405,30 gr/mol

CAS No: 59729-32-7 (Sigma Aldrich Co. Ltd.)



3. 3. 2. Çözücü Madde

Dimetil sülfoksit – DMSO ((CH₃)₂SO)

M.A. = 78,13 gr/mol

CAS No: 67-68-5 (Sigma Aldrich Co. Ltd.)

Çalışmada tüm etken maddelerin ortak çözücüsü olan DMSO kullanılmıştır.

3. 3. 3. Pozitif kontrol

Etil metan sülfonat – EMS (CH₃SO₃C₂H₅)

M.A. = 124,16 gr/mol

CAS No: 62-50-0 (Sigma Aldrich Co. Ltd.)

Kanat benek testinde mutajenik etkisi olduğu bilinen EMS, pozitif kontrol olarak kullanılmıştır.

3. 3. 4. Negatif kontrol

Yaptığımız çalışmada hiçbir mutajenik etkisi olmayan distile su negatif kontrol olarak kullanılmıştır. Ayrıca çözücü olarak kullanılan ve deneylere göre mutajenik etkisi olmadığı belirlenen DMSO da negatif kontrol olarak kullanıldı.

3. 3. 5. Faure Solüsyonu

Bu solüsyon kanat preparatlarının hazırlanmasında kullanılır. 30 gr. arap zamkı (gum arabic), 20 mL gliserol, 50 gr kloral hidrat, 100 mL distile su karışımından oluşan solüsyon Graf ve ark. [66] ile Würgler ve Vogel'in [6] çalışmasındaki tarife göre hazırlanmıştır.

3. 4. Larva Toplama

Bu çalışmada kontrol ve uygulama gruplarını oluşturmak için, *Drosophila melanogaster*'in 72±4 saatlik (L3) transheterozigot larvaları kullanılmıştır. Bu larvaları elde etmek için laboratuvarımızdaki *flr³* dişileri ile *mwh* erkekleri çaprazlanmıştır. Stoklar yeterince çoğaltıldıktan sonra 4 saat arayla *flr³* soyundan virjin dişiler, *mwh* soyundan da virjin erkek bireyler toplanmıştır. Çapraz kurulmadan önce sinekler eşeysel olgunluğa erişmeleri için 3 gün bekletilmişlerdir. Bu bireyler daha sonra çiftleştirilmek için besiyeri içeren kültür şişelerine alınmıştır. Yeterli sayıda transheterozigot larva elde etmek için her şişede 25 *flr³* ♀, 25 *mwh* ♂ çapraza alınmış ve 24 saat boyunca bir arada tutulmuşlardır. Daha sonra aynı yaşta larvalar elde etmek amacı ile yeni besiyeri içeren şişelere aktarılmışlar ve 8 saat boyunca yumurta bırakmaları sağlanmıştır. Bu süre sonunda bireyler kültür şişelerinden çıkarılmış ve aynı bireyler yumurta toplama işlemi için yeni şişelere aktararak kullanılmıştır. Bireyler yumurta bırakmaları için şişeye alındıktan 72±4 saat sonra kültür şişeleri içine %20'lik NaCl çözeltisi eklenerek larvaların hipertonic ortamın etkisiyle çözelti yüzeyinde toplanması sağlanmıştır. Daha sonra içinde larvaların bulunduğu bu çözelti L3 larvalarını geçirmeyen bir eleğe dökülerek elekteki larvalar su ile birkaç defa yıkanarak çözeltiden arındırılmıştır [63, 66].

3. 5. Yumurta Toplama

Yumurta toplama kapları kullanılarak yumurta toplama işlemi gerçekleştirilmiştir. Bu işlem için 6 gr agar, 1000 ml distile suyun içinde çözülerek, kaynatılmıştır. Daha sonra bu sıvı, yumurta toplama kaplarının kapak kısmına ince bir şekilde dökülmüştür. Katılaştıktan sonra dişi bireylerin yumurta verimini arttırmak amacı ile ortasına bir miktar maya serpilmiştir.

flr³ soyundan alınan 25 virjin dişi ile *mwh* soyundan alınan 25 virjin erkek birey bir kültür şişesinde çaprazlanıp 24 saat boyunca bir arada tutulmuştur. Aynı yaşta yumurta ve L1 larvası elde etmek için bu bireyler yumurtlama kaplarına aktarılıp agar içeren kapaklar hava geçirecek şekilde kapatılmıştır. Böylece 8 saat boyunca döllenmiş dişilerin yumurta bırakmaları sağlanmıştır. Bu bireyler 8 saat ara ile yeni besiyerlerine alınarak hedef sayıda yumurta elde edilmiştir.

3. 6. Çözeltilerin Hazırlanması ve Larvalara Uygulanması

Bu çalışma için etkilerinin araştırılması planlanan sertralin, fluoksetin ve sitalopramın literatür araştırmaları sonucunda belirlenen 0.01 mM, 0.1 mM, 1.0 mM ve 5.0 mM'lık dozları kullanılmıştır.

Uygulamada kullanılacak konsantrasyonlardaki çözeltileri hazırlamak için etken maddelerin herbiri, dimetil sülfoksit (DMSO) içinde çözölmüş ve 5.0 mM'lık stok çözeltiler halinde saklanmıştır. Uygulamalar sırasında bu stok çözeltilerden deneyde kullanılacak dozlar elde edilmiştir. İçlerine *Drosophila* hazır besiyeri (Carolina, Formula 4-24) koyulan tüplere bu konsantrasyonlardaki maddelerden tüp başına 100 µL madde eklenerek larvaların beslenme yolu ile bu maddelere maruz kalmaları sağlanmıştır. Tüp başına uygulanan maddelerin miktarları Çizelge 3. 4'te gösterilmektedir.

Çizelge 3. 4. Deney gruplarında tüp başına uygulanan madde miktarları.

Konsantrasyon	Sertralin	Fluoksetin	Sitalopram
0.01 mM	0.0003 mg	0.0003 mg	0.0004 mg
0.1 mM	0.0034 mg	0.0034 mg	0.0040 mg
1.0 mM	0.0342 mg	0.0345 mg	0.0405 mg
5.0 mM	0.1713 mg	0.1728 mg	0.2026 mg

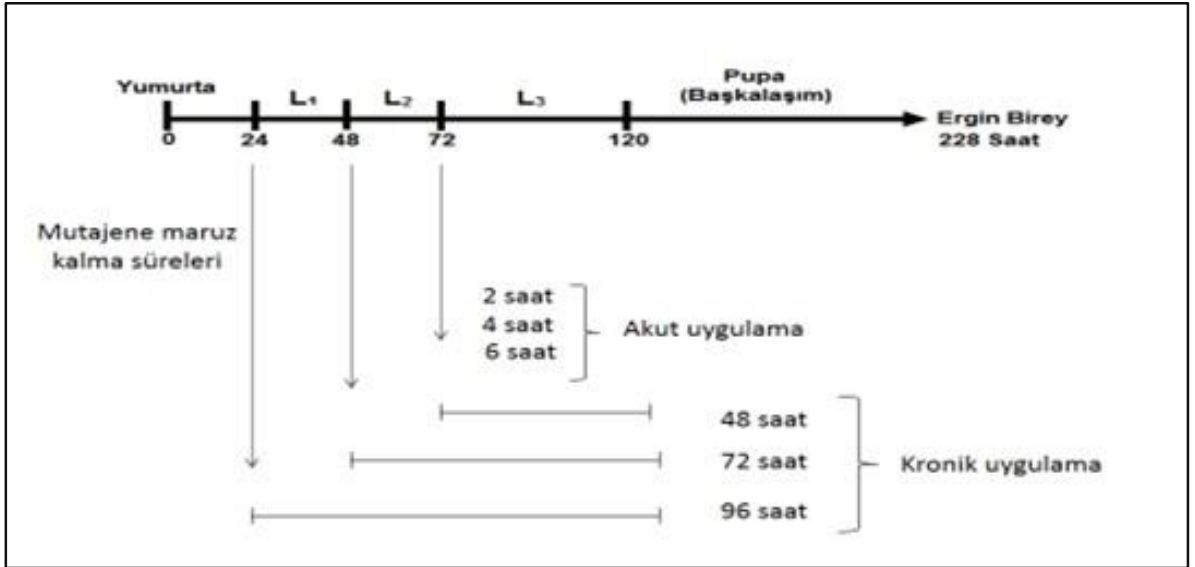
3. 7. Uygulama Grupları

İmajinal diskler larval gelişimi boyunca sürekli mitotik olarak bölünen hücre gruplarıdır. Kanat imajinal disk hücrelerinin sayısı 1. larval evrede 50-100, 3. larval evrede 24400'tür. Böylece bu iki evre arasında mutasyonların hedef hücre sayısı açısından önemli fark bulunmaktadır. Bu çalışma kapsamında bu farkı genotoksisite açısından araştırmak için birbirinden bağımsız iki ayrı deney yapılmıştır. Bu yüzden çalışmamızda kullanılan antidepresan etken maddelerini *Drosophila melanogaster*'in iki farklı larval evresinde yani L1 ve L3 evrelerinde uygulama yapılmıştır (Şekil 3. 1).

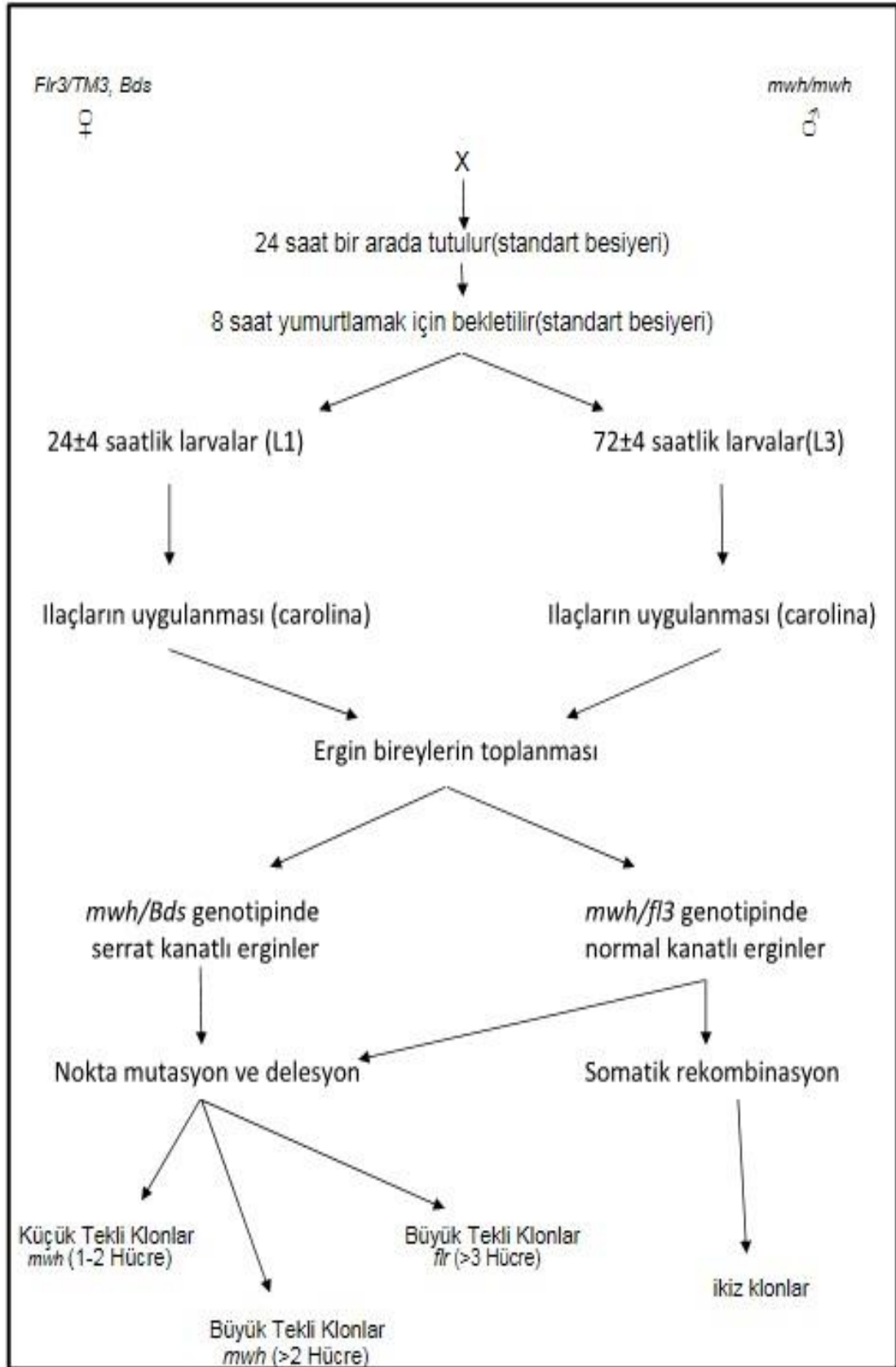
- **Birinci deney:** 24±4 saatlik larvalara, 96 saat boyunca kullandığımız anti depresan etken maddelerin 4 ayrı dozu kronik olarak uygulanmıştır (Şekil 3. 2).

- **İkinci deney:** 72 ± 4 saatlik larvalara, 48 saat boyunca kullandığımız anti depresan etken maddelerin 4 ayrı dozu kronik olarak uygulanmıştır (Şekil 3. 2).

Uygulama yapılan her bir doz için hem normal kanatlı (*mwh/flr³*), hem de serrat kanatlı (*mwh/TM3*) bireylerden, rasgele olarak 40 birey (80 kanat) seçilerek kanat preparatları hazırlanmıştır. Bu deney için her dozdan 80 kanadın değerlendirilmesinin istatistiksel olarak yeterli olduğu Frei ve Würzler [73] tarafından belirlenmiştir.



Şekil 3. 1. SMART testinde akut ve kronik uygulamalar.



Şekil 3. 2. Çalışılan kanat benek testi uygulamasının şematik gösterimi [71].

3. 8. Kanat Preparatlarının Hazırlanması

Uygulama ortamında antidepresan etken maddelerine maruz bırakılan larvaların pupa evresini takiben çıkan ergin bireyler, günlük olarak karbondioksit ile bayıltılarak toplanmıştır. Kanat preparatlarını hazırlamak için yeterli birey sayısı elde edilene kadar toplanan bireyler %70'lik etil alkole alınmıştır. Alkolde saklanan bireyler distile su bulunan bir petriye alınarak incelenmişlerdir. Toplanan ergin bireylerin kanat fenotiplerine göre iki gruba ayrıldıkları gözlenmiştir:

- 1- Normal kanatlı (transheterozigot *mwh/flr³*),
- 2- Serrat kanatlı (dengelenmiş heterozigot *mwh/TM3*).

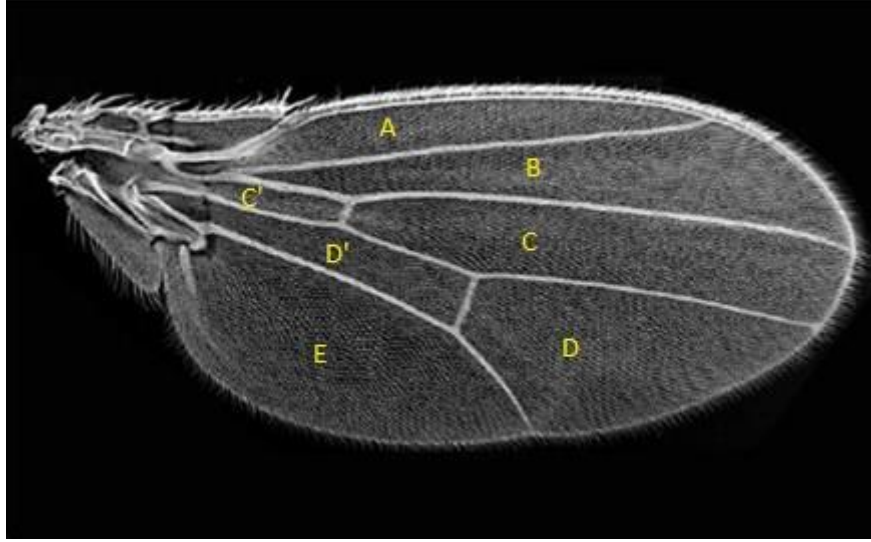
Normal kanatlı fenotipe sahip (*mwh/flr³*) bireyler, hem mutasyon hem de rekombinasyon sonucu oluşan mutant klonları içermektedir. Ancak serrat kanatlı fenotipe sahip olan bireyler (*mwh/TM3*, *Bd^S*), dengeleyici kromozomun rekombinasyonu baskılaması nedeni ile sadece mutasyon sonucu oluşan klonları içermektedir.

Bu nedenle bu iki farklı fenotipteki kanatların preparatları ayrı ayrı hazırlanarak değerlendirilmiştir. Preparatlar hazırlanırken çukur lam üzerine faure solüsyonundan iki damla koyulmuştur. Etanol içinde saklanan ancak daha önce kanat fenotiplerine göre ayrılan bireyler distile suya alınmıştır. Bu bireylerin kanatları, diseksiyon mikroskobu altında iğne ile tutulup, ince uçlu pens yardımı ile kanatların üzerindeki kıllara ve kanat bütünlüğüne zarar vermeden vücuttan dikkatlice ayrılmıştır. Ayırma işlemi sırasında zarar gören kanatlar kullanılmamıştır. Her bireyin kanatları ayrıldıktan sonra aynı bireye ait kanatlar lam üzerine yanyana uygun aralıklarla yerleştirilmiştir. Kanatlar lam üzerine yerleştirildikten sonra bu preparatlar kurumaları için tozsuz bir yerde (petri kapları içerisinde) bir gün bekletilmiştir. Preparatlar kuruduktan sonra lamların üzerine bir iki damla faure solüsyonu damlatılmış ve üzerleri hava kabarcığı kalmayacak şekilde lamel ile kapatılmıştır. Kanatların düzgün bir şekilde kurumaları için kapatılan lamların üzerine mermer ağırlıklar konularak üç gün boyunca bekletilmiştir. Daha sonra preparatların üzerinden ağırlıklar alınarak lam üzerinden taşınmış olan faure solüsyonu, distile su ve kurutma kağıdı ile temizlenmiştir. Bu şekilde hazırlanan preparatlar ışık mikroskobunda incelenmiştir [66].

3. 9. Kanatların Mikroskobik Analizleri

Hazırlanan kanat preparatları ışık mikroskobunda X 40'lık objektifte incelenmiştir. Kanat preparatların incelenmesinde kolaylık sağlamak için kanat üzerindeki sektörler Şekil 3. 3'deki gibi A, B, C, C', D, D', E olarak bölümlere ayrılmıştır [66].

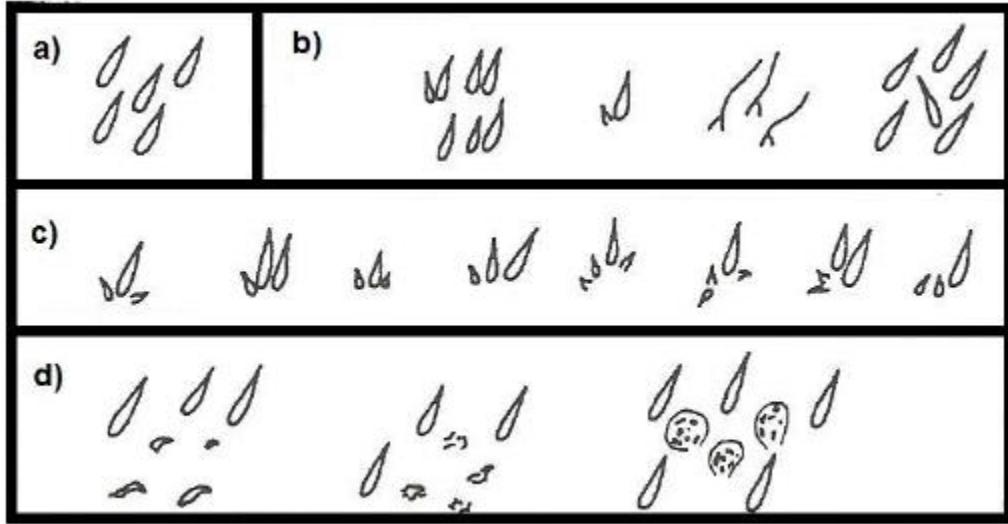
Kanatların her iki yüzündeki hücrelerin incelenmesi mikrovida yardımı ile yapılmış ve bu şekilde her iki taraftaki mutant klonlar sayılarak kayıt edilmiştir.



Şekil 3. 3. Kanadın sayım için sektörlerle ayrılması [66].

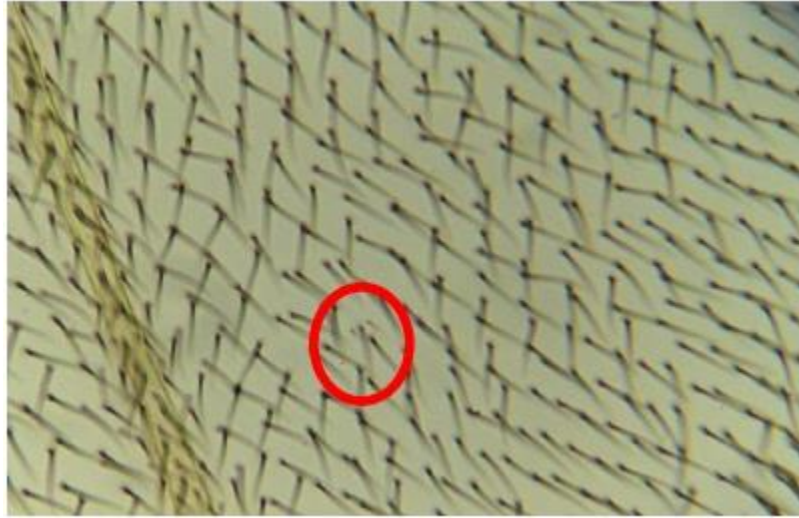
Bu çalışmada gözlenen beneklerin sınıflandırılması ve biyolojik açıdan anlamı daha önce Graf ve arkadaşları (1984) [66] tarafından gösterilmiştir. Graf'a göre 3 tip benek vardır: Tekli küçük benek, tekli büyük benek ve ikili (ikiz) benek.

Sayımlar sırasında rastlanan anormal kanat kılları Graf'ın sınıflandırmasına göre ayrılarak değerlendirilmiştir (Şekil 3. 4).



Şekil 3. 4. Kanat yüzeyindeki kıllar: a) normal kanat kılı, b) *mwh* ya da *flr³* olarak sayılmayacak bozuk kanat kılları, c) *mwh* tipinde trikomlar, d) tipik *flr³* kıllar [66].

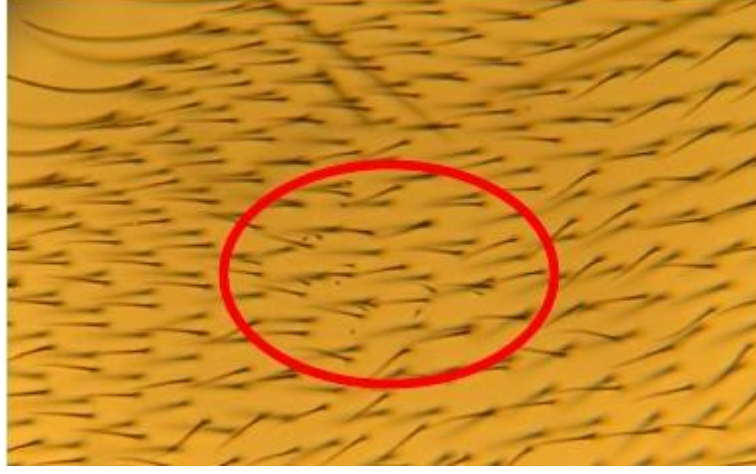
Küçük tekli benekler: Bir veya iki *mwh* fenotipindeki trikomların oluşturduğu beneklerdir (Şekil 3. 5).



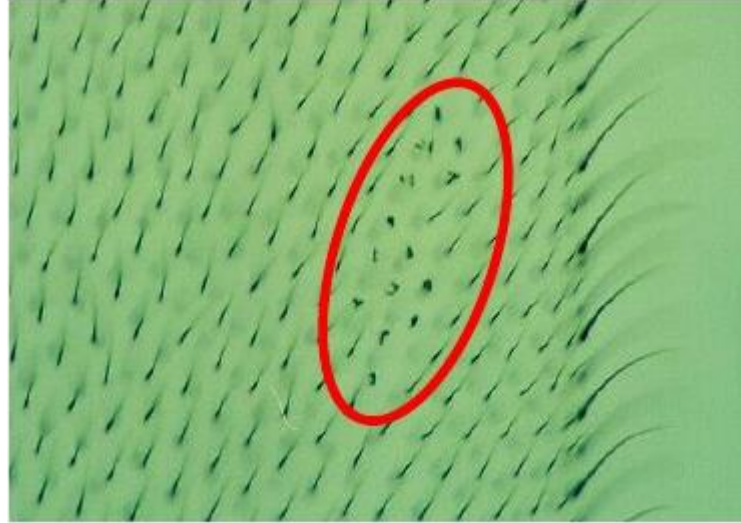
Şekil 3.5. Tekli küçük klon (*mwh* fenotipinde 1 trikom), [50].

Büyük tekli benekler: Üç veya daha fazla sayıdaki *mwh* tipi trikomlardan oluşan benekler (Şekil 3. 6) veya 4 ve üzeri sayıdaki *flr³* tipi trikomlardan oluşan beneklerdir

(Şekil 3. 7). Üç ve altındaki sayılardaki flr^3 tipi trikomlar ise varyasyon sonucu oluşabileceği için bu sınıflandırmaya dahil edilmemektedir [66, 74].

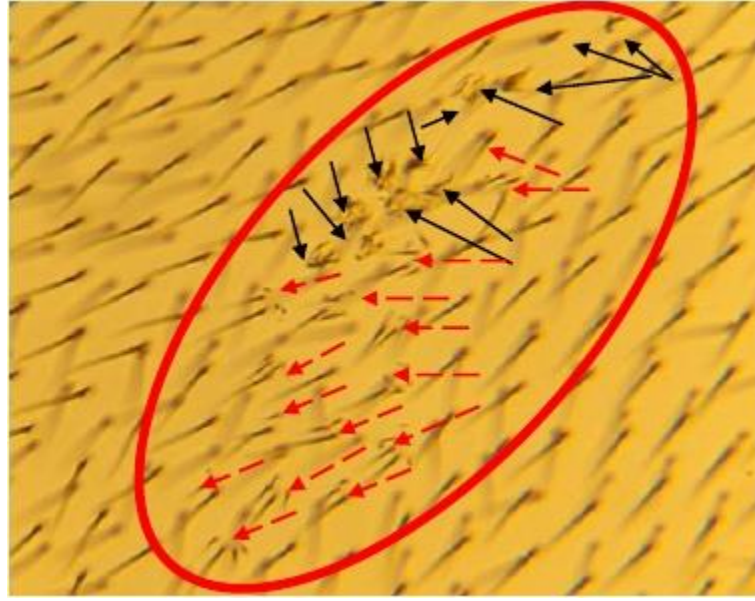


Şekil 3.6. mwh tipi tekli büyük klon (mwh fenotipinde 8 trikom), [50].



Şekil 3.7. flr^3 tipi tekli büyük klon (flr^3 fenotipinde 14 trikom), [50].

İkiz benekler: Aynı anda bir ya da birden fazla mwh ve flr^3 tipi trikomlar yan yana gözlemlendiğinde bu tür benekler ikiz benek olarak sınıflandırılır. Ancak yan yana bulunan mwh ve flr^3 klonların arasındaki normal tip trikomların sayısı üçü geçmiyorsa o zaman ikiz klon olarak değerlendirebiliriz. Eğer aralarındaki normal tip trikomların sayısı üçü geçiyorsa benekler ayrı ayrı değerlendirilir (Şekil 3. 8).



Şekil 3. 8. İkiz (ikili) klon (*mwh* fenotipinde [kırmızı kesikli oklarla gösterilmiştir] 15 trikom ve *flr³* fenotipinde [siyah oklarla gösterilmiştir] 12 trikom), [50].

3. 10. İstatistiksel Yöntemler

3. 10. 1. Verilerin Analizi

Bu çalışmada elde edilen verilerin istatistiksel olarak değerlendirilmesinde *Drosophila* kanat somatik mutasyon ve rekombinasyon testi için hazırlanan MICROSTA adlı bilgisayar programı kullanılmıştır. Bu sistemde değerlendirme yapılmadan önce iki farklı hipotez kurulmuştur:

- 1- Orijinal (null) hipotez (H_0)’da uygulama grupları ile kontrol grubu arasında istatistiksel olarak fark olmadığı varsayılmaktadır.
- 2- Alternatif hipotez (H_A)’da ise uygulama gruplarındaki indüklenen mutasyon oranının kontrol grubundan m defa daha fazla olduğu varsayılmaktadır.

Bu iki hipotez, binomial şartlı test kullanılarak sınanmıştır.

Hesaplamalar sonucunda eğer uygulama grubundaki (n_t) mutant benek sayısı çizelgede belirlenen değere eşit veya bu değerden büyükse H_0 hipotezi reddedilir. Aynı şekilde kontrol grubundaki (n_c) mutant benek sayısı eğer çizelgedeki değere eşit veya daha büyükse H_A hipotezi red edilmektedir. Buna göre orijinal ve alternatif

hipotezlerin kabul veya red edilmesi Kastenbaum ve Bowman (1970) [75] çizelgesine göre yapılmıştır (Çizelge 3. 5), [75].

Çizelge 3. 5. Hipotez değerlendirme tablosu [75].

HİPOTEZLER		H_A	
		KABUL (1-β)	RED (β)
H₀	KABUL (1-α)	ÖNEMSİZ FARK $P=(1-\alpha)(1-\beta)=1-\alpha-\beta+\alpha\beta$	NEGATİF $P=(1-\alpha)\beta=\beta-\alpha\beta$
	RED (α)	POZİTİF $P=\alpha(1-\beta)=\alpha-\alpha\beta$	ZAYIF POZİTİF $P=\alpha\beta$

Değerlendirmeler sonucunda H_0 ve H_A 'nın kabul veya red edilmesine göre Çizelge 3. 5'i kullanılarak pozitif (+), zayıf pozitif (z), önemsiz fark (i) veya negatif (-) olarak belirlenmiştir [50, 73].

3. 10. 2. Klon indüksiyon frekansının hesaplanması

Bu çalışmada ve tüm kronik uygulamalarda her hücrede ve hücre bölünmesindeki ortalama indüksiyon frekansı Szabad ve arkadaşlarına (1983) [74] göre aşağıdaki formül ile hesaplanmıştır.

$$f = \frac{n}{N \times C} \times 10^{-5}$$

Sadece *mwh* klonlar dikkate alınırsa formüldeki “f”, *mwh* klonların indüksiyonunun ortalama frekansının; “n”, gözlenen toplam *mwh* klon sayısının; “N”, analiz edilen kanat sayısının ve “C” de bir kanat üzerindeki incelenebilecek hücre sayısının simgesidir. Önceki yapılan çalışmalara göre bu sayı 24400 olarak belirlenmiştir ve bu sayı sabit 24400 olarak kullanılmaktadır [76].

4. BULGULAR

Antidepresan etken maddelerinden sertralin, fluoksetin ve sitalopramın genotoksik etkileri *Drosophila* kanat testi (SMART) ile incelenmiştir.

L1 larvalarında yapılan uygulamalarda, distile su ve DMSO uygulama grupları dışında tüm etken madde ve dozlarında toksik etki gözlenmiş ve larvaların çoğu ölmüştür. Bu nedenle etken maddelerin genotoksik etkisi sadece L3 larvalarına yapılan uygulamalar ile ölçülmüştür.

4. 1. Sertralin

SSRI grubu antidepresan etken maddelerinden sertralin'nin dört dozunun *Drosophila melanogaster*'in transheterozigot larvaları üzerinde uygulanması sonucunda hiç pozitif sonuç ortaya çıkmamıştır (Çizelge 4. 1).

mwh/flr³ genotipli bireyler üzerinde 0.01 mM sertralin uygulama deneyinde sadece ikiz klonlarda kontrol grubuna göre fark oluşmuştur ki bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır. Diğer küçük tek tip, büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrole göre fark saptanmamıştır (Çizelge 4. 1).

Normal kanatlı bireylerin 0.1 mM sertralin uygulamasında, ikiz klonların yanı sıra küçük tek tip klonlarda da fark ortaya çıkmıştır, ancak bu farklar istatistiksel olarak anlamsızdır. Bu dozda da büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarda elde edilen veriler kontrole göre negatiftir (Çizelge 4. 1).

mwh/flr³ genotipli bireylerin 1.0 ve 5.0 mM sertralin uygulamasında büyük tek tip klonlarda kontrole göre anlamlı fark oluşmamıştır. Ancak küçük tek tip, ikiz klon, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrol grubuna göre fark oluşmuştur ama bu farklar istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur (Çizelge 4. 1).

Normal kanatlı bireylerde klon indüksiyon frekansı açısından doza bağlı bir artıştan söz edilebilir ancak bu frekans sertralin'nin 5.0 mM dozunda 1.0 mM'a göre düşüş göstermektedir (Çizelge 4. 1).

mwh/Tm3 genotipine sahip serrat kanatlı bireyler 0.01 mM sertralin uygulanması sonucunda sadece küçük tek tip klonlarda kontrole göre fark bulunmuştur ancak bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır. Büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrole göre bir fark saptanmamıştır ve sonuçları negatif olarak değerlendirilmiştir (Çizelge 4. 2).

Serrat kanatlı bireyler 0.1 mM'lık sertralin uygulanması sonucunda büyük tek tip klonlarda kontrole göre fark görülmemiştir. Ancak küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon grupların değerleri ile kontrol arasında fark görülmektedir ancak bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır (Çizelge 4. 2).

Serrat kanatlı bireylere 1.0 mM'lık sertralin uygulandığında büyük tek tip klonlar açısından fark önemsiz görülürken, küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar açısından pozitif sonuç görülmektedir. Bu uygulama dozu normal kanatlı bireylerin benzer klonlarında önemsiz farklar göstermiştir (Çizelge 4. 2).

mwh/Tm3 genotipli bireyler 5.0 mM sertralin uygulandığında tüm klonlarda oluşan fark istatistiksel olarak anlamsızdır. Ama 1.0 mM uygulama sonuçlarında üç klonda oluşan bu fark istatistik olarak anlamlı bulunmuştur (Çizelge 4. 2).

Serrat kanatlı bireylerin klon indüksiyon frekanslarının ilk üç derişiminde (0.01, 0.1 ve 1.0 mM) doza bağlı artış gösterdiği, ancak 5.0 mM uygulama dozunda ise düşüş gösterdiği saptanmıştır (Çizelge 4. 2).

Sertralin uygulama sonucunda normal ve serrat fenotipine sahip bireylerde ortaya çıkan tüm klon tipleri ve sayıları (Şekil 4. 1) ve (Şekil 4. 2)'de, toplam klonların sayısı açısından normal ve serrat kanatlı bireylerde karşılaştırmaları (Şekil 4. 3)'de ve klon frekans indüksiyon karşılaştırması ise (Şekil 4. 4)'de verilmektedir.

Buna göre sertralinin normal ve serrat kanatlarda toplam klon sayısı ve klon frekans indüksiyonu bakımından çok farklılık ortaya çıkarmadığı görülmektedir.

Çizelge 4. 1. Sertralinin *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (normal kanat).

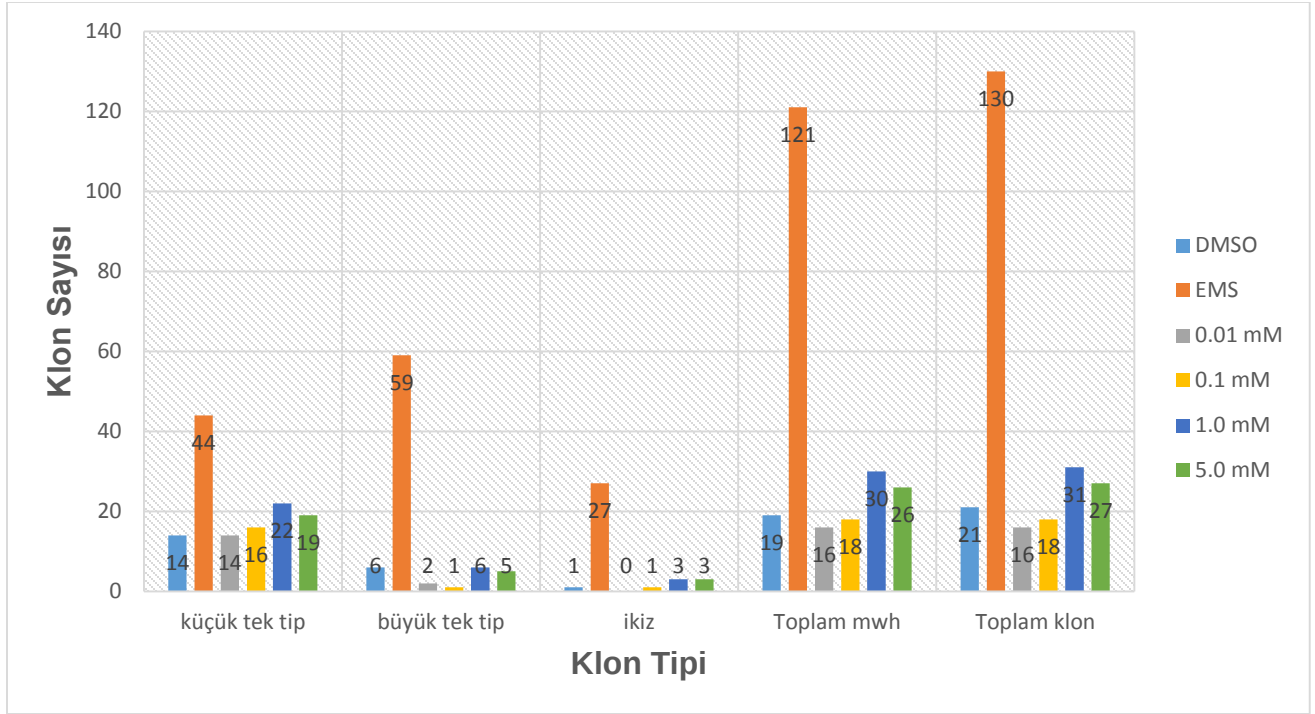
Gruplar Ve Dozlar	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre) (m=5)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam mwh klonları (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	
Distile su	80	15	0.19		4	0.05		0	0.00		18	0.23		19	0.24		0.92
DMSO	80	14	0.18	-	6	0.08	i	1	0.01	i	19	0.24	-	21	0.26	-	0.97
EMS	80	44	0.55	+	59	0.74	+	27	0.34	+	121	1.51	+	130	1.63	+	6.20
0.01 mM	80	14	0.18	-	2	0.03	-	0	0.00	i	16	0.20	-	16	0.20	-	0.82
0.1 mM	80	16	0.20	i	1	0.01	-	1	0.01	i	18	0.23	-	18	0.23	-	0.92
1.0 mM	80	22	0.28	i	6	0.08	-	3	0.04	i	30	0.38	i	31	0.39	i	1.54
5.0 mM	80	19	0.24	i	5	0.06	-	3	0.04	i	26	0.33	i	27	0.34	i	1.33

Kanat benek testi için; Fr: frekans; D: Frei ve Würbler'in [73] istatistiksel değerlendirme kararı; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz (inconclusive); m=çarpım faktörü; olasılık düzeyleri p=0.05.

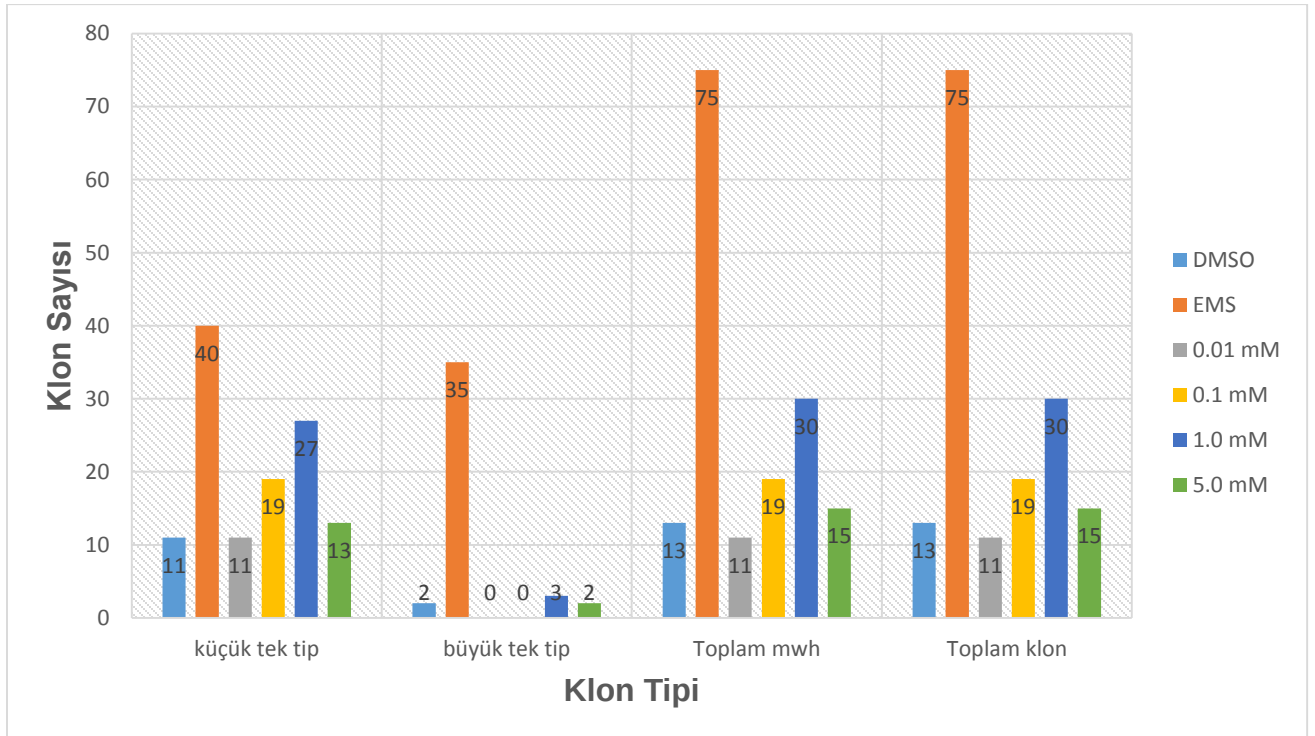
Çizelge 4. 2. Sertralinin *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (serrat kanat).

Gruplar Ve Dozlar	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre) (m=5)			Toplam mwh klonları (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	
Distile su	80	10	0.13		2	0.03		12	0.15		12	0.15		0.61
DMSO	80	11	0.14	i	2	0.03	i	13	0.16	i	13	0.16	i	0.67
EMS	80	40	0.50	+	35	0.44	+	75	0.94	+	75	0.94	+	3.84
0.01 mM	80	11	0.14	i	0	0	-	11	0.14	-	11	0.14	-	0.56
0.1 mM	80	19	0.24	i	0	0	-	19	0.24	i	19	0.24	i	0.97
1.0 mM	80	27	0.34	+	3	0.04	i	30	0.38	+	30	0.38	+	1.54
5.0 mM	80	13	0.16	i	2	0.03	i	15	0.19	i	15	0.19	i	0.77

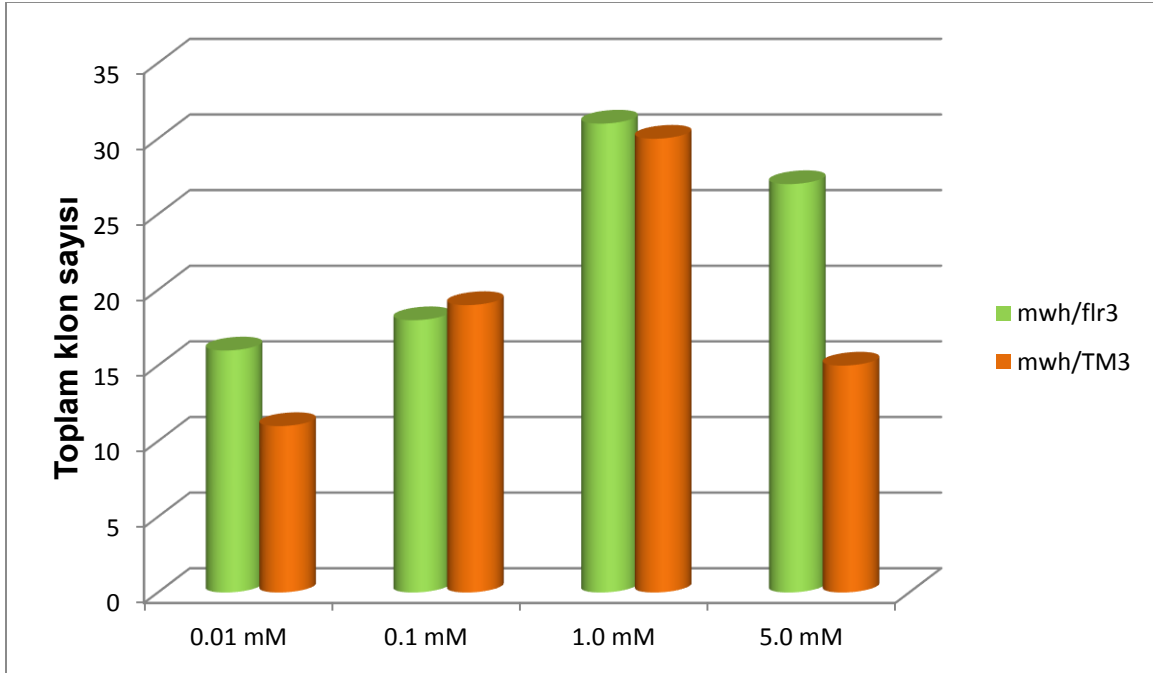
Kanat benek testi için; Fr: frekans; D: Frei ve Würbler'in [73] istatistiksel değerlendirme kararı; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz (inconclusive); m=çarpım faktörü; olasılık düzeyleri p=0.05.



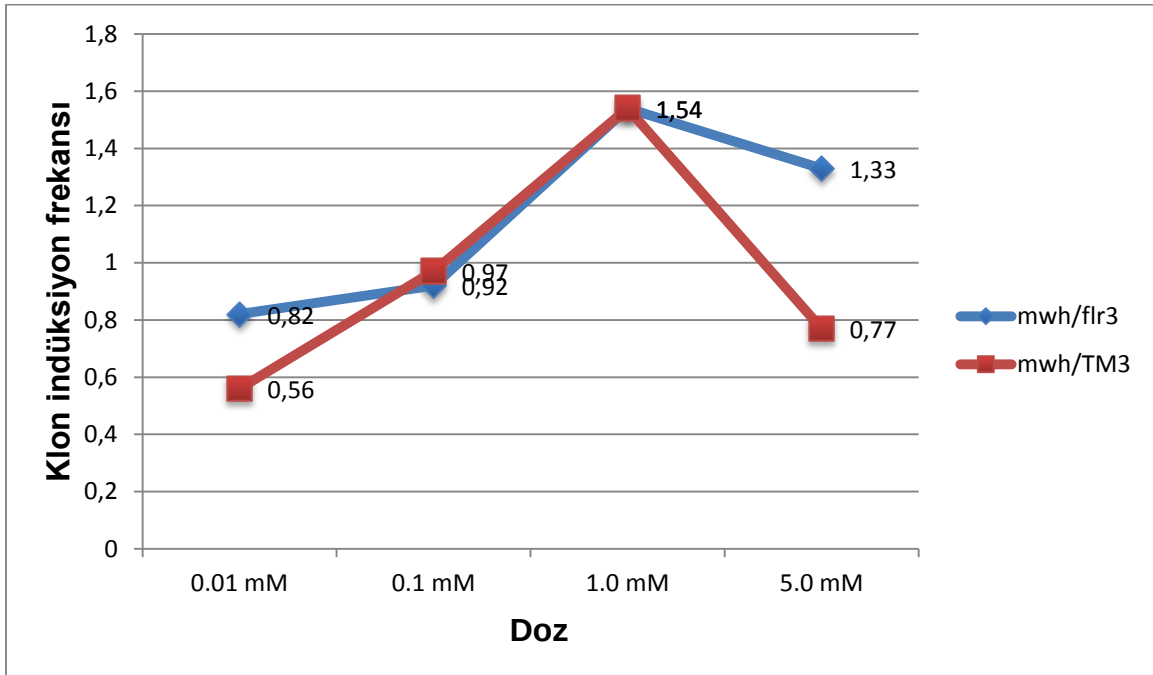
Şekil 4. 1. Sertralinin normal kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.



Şekil 4. 2. Sertralinin serrat kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.



Şekil 4. 3. Sertralin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde toplam klon sayısı.



Şekil 4. 4. Sertralin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde klon indüksiyon frekansı.

4. 2. Fluoksetin

SSRI grubu antidepresan etken maddelerinden olan fluoksetin'nin dört derişiminin uygulanması sonucunda bazı dozlarda pozitif etki saptanmıştır.

mwh/flr³ genotipindeki normal kanatlara sahip bireylerin 0.01 ve 0.1 mM fluoksetin uygulama sonucunda küçük tek tip, büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrole göre anlamlı bir fark olmadığı ve sonuçların negatif olduğu görülmüştür. Bu dozlarda sadece ikiz klonlarda kontrole göre farkın olduğu saptanmış ancak istatistiksel olarak önemsiz olduğu ortaya çıkmıştır (Çizelge 4. 3).

Normal kanatlı bireylerin 1.0 mM fluoksetin uygulamasında büyük tek tip klonlarda kontrole göre anlamlı bir fark gözlenmemiştir ve sonuç negatiftir. İkiz klonlarda fark gözlenmiştir ama bu fark istatistiksel olarak önemsizdir. Ancak bu dozda küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonların değerlerinin kontrole göre anlamlı olarak farklı olduğu gözlenmiş ve sonucun pozitif olduğu bulgulanmıştır (Çizelge 4. 3).

Fluoksetin'nin 5.0 mM uygulama sonucunda *mwh/flr³* genotipli normal kanatlı bireylerin tüm klon tiplerinde pozitif sonuç görülmüştür (Çizelge 4. 3).

Normal kanatlı bireylerin klon indüksiyon frekansına bakıldığında tüm klon tiplerinde doza bağlı bir artış söz konusudur (Çizelge 4. 3).

mwh/TM3 genotipine sahip serrat kanatlı bireylerin 0.01 ve 0.1 mM fluoksetin uygulama sonuçlarına göre küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamlı bir fark yoktur ve değerlendirmelere göre sonuçlar negatiftir (Çizelge 4. 4). Ancak büyük tek tip klonlar açısından bu dozlarda kontrole göre fark olduğu ama bu farklılıkların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı gözlenmiştir (Çizelge 4. 4).

Serrat kanatlı bireylerin 1.0 ve 5.0 mM fluoksetin uygulamasında büyük tek tip klonların değerleri kontrole göre önemli fark göstermezken küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrole göre anlamlı farkın olduğu ve değerlendirmelere göre pozitif sonuçlar vermiştir (Çizelge 4. 4).

mwh/TM3 genotipli bireylerin klon indüksiyon frekanslarında da normal kanatlardaki gibi doza bağılı artış gözlenmiştir. Ancak serrat kanatlı bireylerde normal kanatlı bireylere göre bu frekans azalmaktadır (Çizelge 4. 4).

Fluoksetin uygulama sonucunda normal ve serrat fenotipine sahip bireylerde ortaya çıkan tüm klon tipleri ve sayıları (Şekil 4. 5) ve (Şekil 4. 6)'de, toplam klonların sayısı açısından normal ve serrat kanatlı bireylerin karşılaştırılması (Şekil 4. 7)'de ve klon frekans indüksiyon karşılaştırması ise (Şekil 4. 8)'de gösterilmiştir.

Buna göre fluoksetin uygulama grubunda olduğu gibi normal kanatlı bireylerde ortaya çıkan klon sayılarının ve indüksiyon frekanslarının daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4. 3. Fluoksetinin *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (normal kanat).

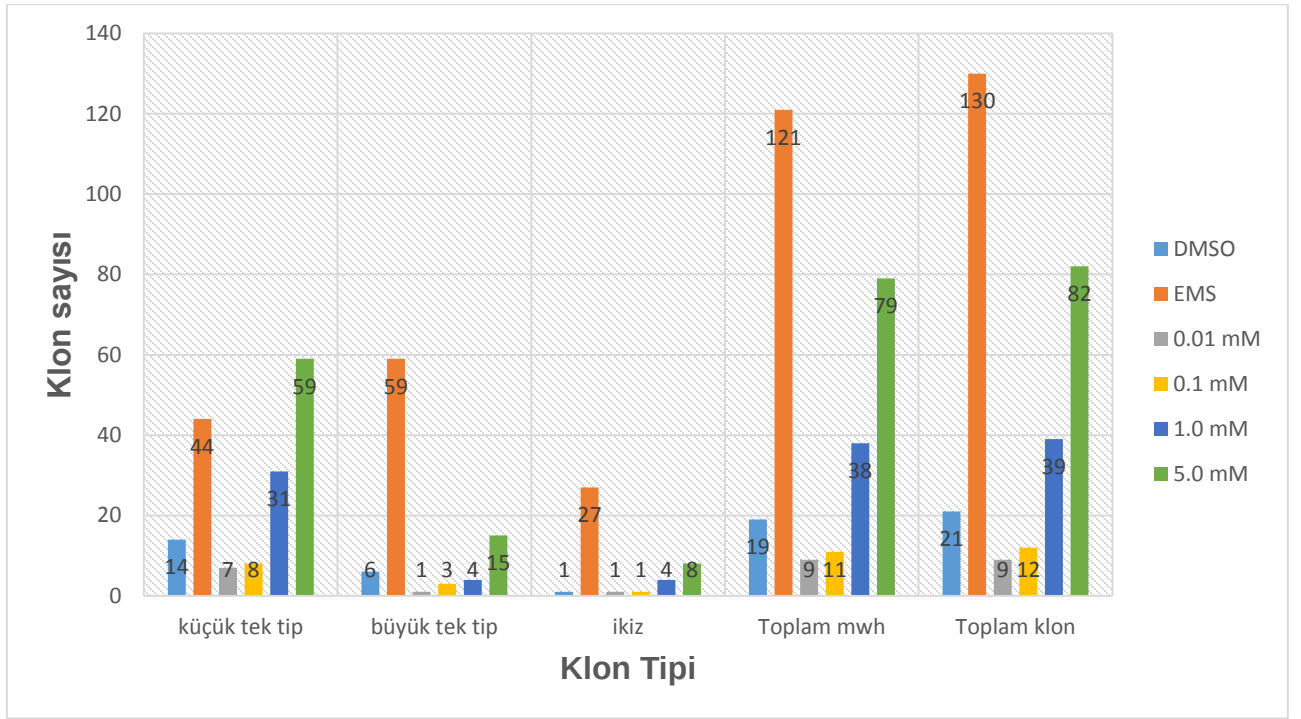
Gruplar Ve Dozlar	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre) (m=5)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam mwh klonları (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	
Distile su	80	15	0.19		4	0.05		0	0.00		18	0.23		19	0.24		0.92
DMSO	80	14	0.18	-	6	0.08	i	1	0.01	i	19	0.24	-	21	0.26	-	0.97
EMS	80	44	0.55	+	59	0.74	+	27	0.34	+	121	1.51	+	130	1.63	+	6.20
0.01 mM	80	7	0.09	-	1	0.01	-	1	0.01	i	9	0.11	-	9	0.11	-	0.46
0.1 mM	80	8	0.10	-	3	0.04	-	1	0.01	i	11	0.14	-	12	0.15	-	0.56
1.0 mM	80	31	0.39	+	4	0.05	-	4	0.05	i	38	0.48	+	39	0.49	+	1.95
5.0 mM	80	59	0.74	+	15	0.19	+	8	0.10	+	79	0.99	+	82	1.03	+	4.05

Kanat benek testi için; Fr: frekans; D: Frei ve Würbler'in [73] istatistiksel değerlendirme kararı; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz (inconclusive); m=çarpım faktörü; olasılık düzeyleri p=0.05.

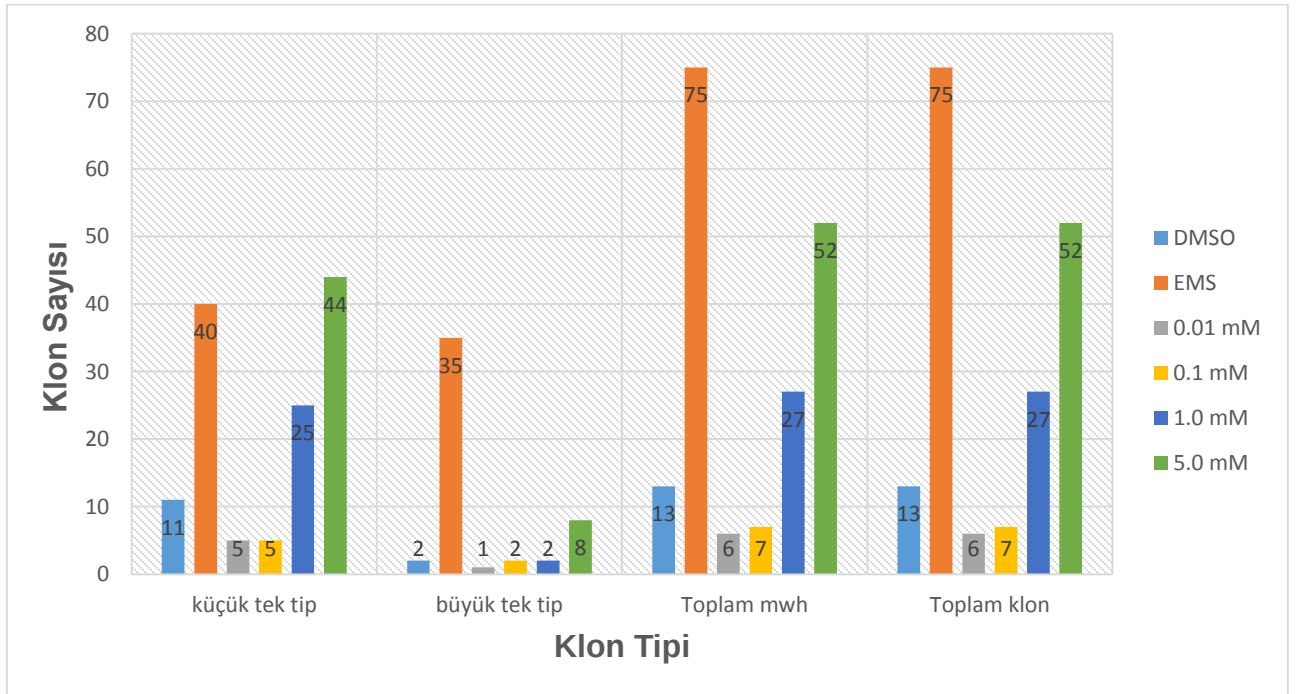
Çizelge 4. 4. Fluoksetinin *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (serrat kanat).

Gruplar Ve Dozlar	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre) (m=5)			Toplam mwh klonları (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	
Distile su	80	10	0.13		2	0.03		12	0.15		12	0.15		0.61
DMSO	80	11	0.14	i	2	0.03	i	13	0.16	i	13	0.16	i	0.67
EMS	80	40	0.50	+	35	0.44	+	75	0.94	+	75	0.94	+	3.84
0.01 mM	80	5	0.06	-	1	0.01	i	6	0.08	-	6	0.08	-	0.31
0.1 mM	80	5	0.06	-	2	0.03	i	7	0.09	-	7	0.09	-	0.36
1.0 mM	80	25	0.31	+	2	0.03	i	27	0.34	+	27	0.34	+	1.38
5.0 mM	80	44	0.55	+	8	0.10	i	52	0.65	+	52	0.65	+	2.66

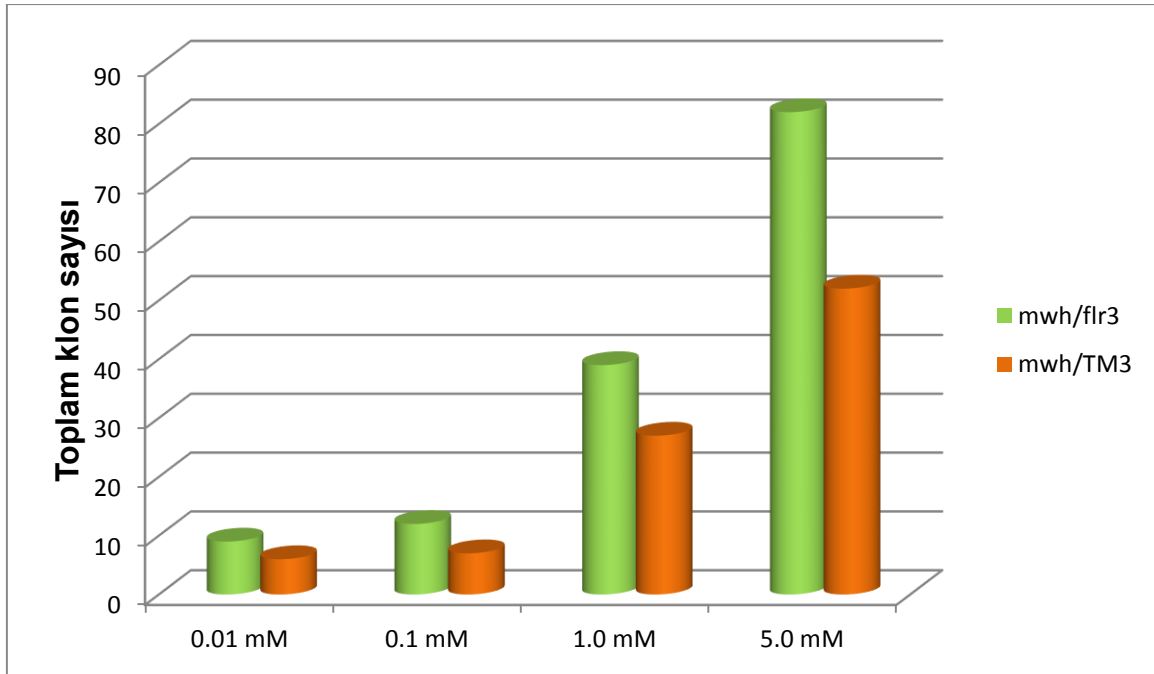
Kanat benek testi için; Fr: frekans; D: Frei ve Würger'in [73] istatistiksel değerlendirme kararı; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz (inconclusive); m=çarpım faktörü; olasılık düzeyleri p=0.05.



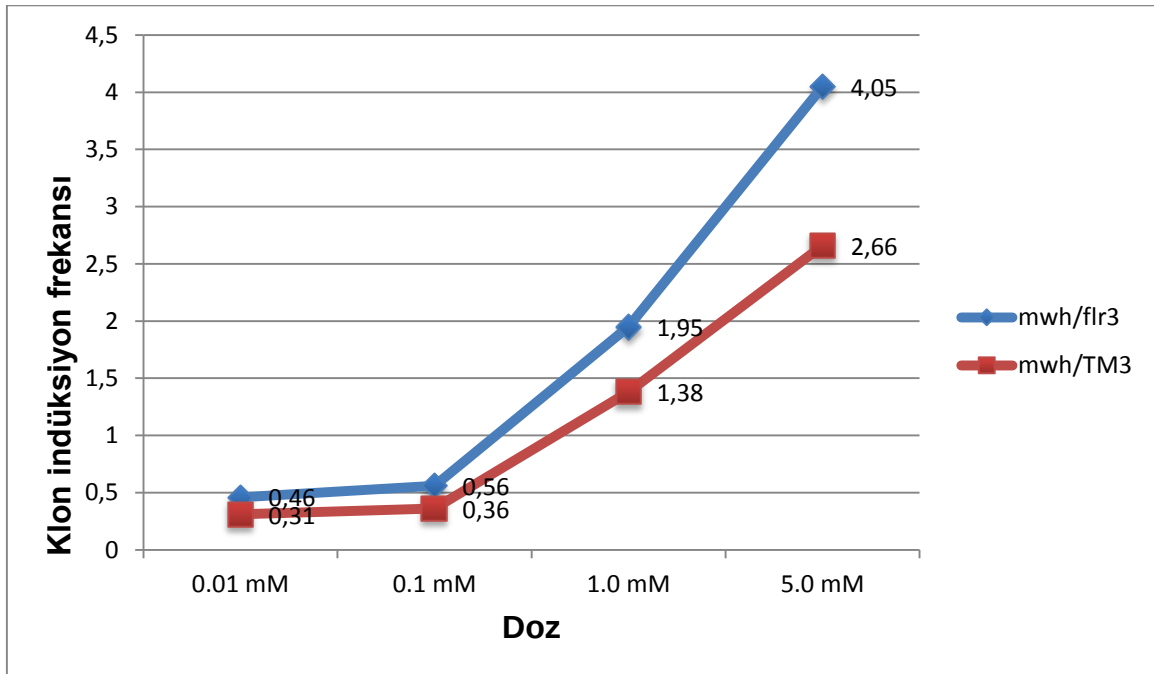
Şekil 4. 5. Fluoksetinin normal kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.



Şekil 4. 6. Fluoksetinin serrat kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.



Şekil 4. 7. Fluoksetin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde toplam klon sayısı.



Şekil 4. 8. Fluoksetin uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde klon indüksiyon frekansı.

4. 3. Sitalopram (Citalopram)

SSRI grubu etken maddelerinden olan sitalopram'ın dört dozu (0.01, 0.1, 1.0, 5.0 mM) ile transheterozigot larvalara (L3) yapılan uygulamaların sonuçları negatif kontrol ile karşılaştırdığında hem normal kanatlı hem de serrat kanatlı bireylerde bazı dozlarda pozitif sonuçlar görülmüştür (Çizelge 4. 5).

mwh/flr³ genotipine sahip bireylerde sitalopram 0.01 mM dozunun uygulama sonuçlarına göre küçük tek tip, büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar açısından kontrole göre negatiftir, ancak bu doz ikiz klonlarda kontrole göre anlamlı bir fark göstermemektedir (Çizelge 4. 5).

Sitalopramın 0.1 mM uygulama dozunda, küçük tek tip, büyük tek tip ve ikiz klonlar kontrole göre önemsiz fark gösterirken toplam *mwh* ve toplam klonlar açısından kontrole göre pozitif sonuç göstermiştir (Çizelge 4. 5).

Sitalopramın 1.0 mM uygulama dozunda, ikiz klonlar kontrol grubu ile karşılaştırıldığında iki grup arasındaki farkın anlamsız olduğu görülmüştür. Ancak bu dozun diğer klon tiplerinin hepsinde pozitif sonuç ortaya çıkmıştır (Çizelge 4. 5).

Sitalopramın 5.0 mM dozunda tüm klon tiplerinde pozitif sonuç görülmüştür (Çizelge 4. 5).

Sitalopram uygulama sonucunda *mwh/flr³* genotipli normal kanada sahip olan bireylerde klon indüksiyon frekansına bakıldığında tüm klon tiplerinde doza bağlı artış ortaya çıkmıştır (Çizelge 4. 5).

mwh/TM3 genotipli bireylerin sitalopram 0.01 mM uygulama sonucunda küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrole göre negatif sonuç görülmüştür. Büyük tek tip klonlarda kontrole göre önemsiz fark ortaya çıkmıştır (Çizelge 4. 6).

Serrat kanatlı bireylerin 0.1 mM sitalopram uygulama sonucunda tüm klon tiplerinde kontrole göre önemsiz fark görülmüştür (Çizelge 4. 6).

Serrat kanatlı bireylerin 1.0 ve 5.0 mM sitalopram uygulamasında büyük tek tip klonlarda kontrole göre fark önemsiz olarak saptanmıştır. Ancak küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar açısından bu iki derişim için pozitif sonuçlar görülmüştür (Çizelge 4. 6).

Serrat kanatlı bireylerde de klon indüksiyon frekansına bakıldığında doza bağlı artış görülmektedir. Ancak normal kanatlı bireylere göre bu değerin düşük olduğu görülmüştür (Çizelge 4. 6).

Sitalopramın uygulama sonucunda normal ve serrat fenotipine sahip bireylerde ortaya çıkan tüm klon tipleri ve sayıları (Şekil 4. 9) ve (Şekil 4. 10)'de, toplam klonların sayısı açısından normal ve serrat kanatlı bireylerde karşılaştırma (Şekil 4. 11)'de ve klon frekans indüksiyon karşılaştırması ise (Şekil 4. 12)'de gösterilmektedir.

Buna göre normal kanatlı bireylerde ortaya çıkan klon sayılarının ve indüksiyon frekanslarının daha yüksek olduğu görülmektedir.

Çizelge 4. 5. Sitalopramın *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (normal kanat).

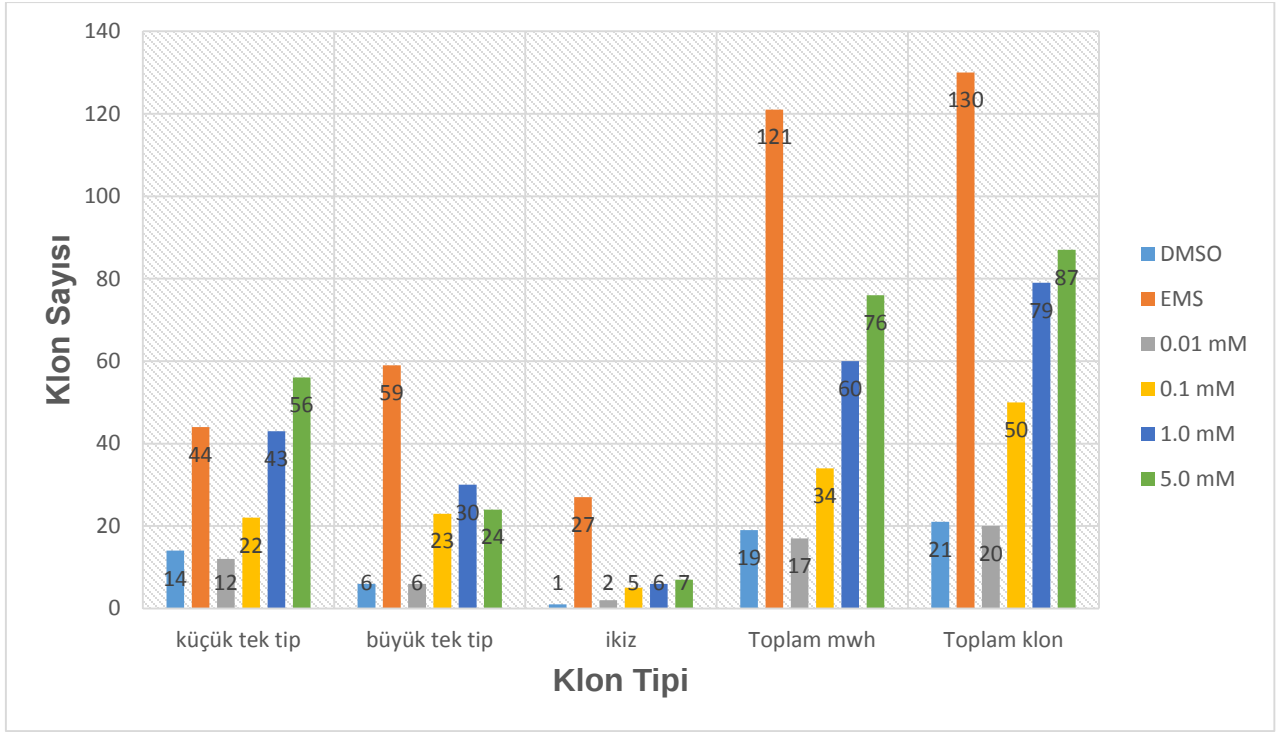
Gruplar Ve Dozlar	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre) (m=5)			İkiz klonlar (m=5)			Toplam mwh klonları (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	
Distile su	80	15	0.19		4	0.05		0	0.00		18	0.23		19	0.24		0.92
DMSO	80	14	0.18	-	6	0.08	i	1	0.01	i	19	0.24	-	21	0.26	-	0.97
EMS	80	44	0.55	+	59	0.74	+	27	0.34	+	121	1.51	+	130	1.63	+	6.20
0.01 mM	80	12	0.15	-	6	0.08	-	2	0.03	i	17	0.21	-	20	0.25	-	0.87
0.1 mM	80	22	0.28	i	23	0.29	i	5	0.06	i	34	0.43	+	50	0.63	+	1.74
1.0 mM	80	43	0.54	+	30	0.38	+	6	0.08	i	60	0.75	+	79	0.99	+	3.07
5.0 mM	80	56	0.70	+	24	0.30	+	7	0.09	+	76	0.95	+	87	1.09	+	3.89

Kanat benek testi için; Fr: frekans; D: Frei ve Würger'in [73] istatistiksel değerlendirme kararı; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz (inconclusive); m=çarpım faktörü; olasılık düzeyleri p=0.05.

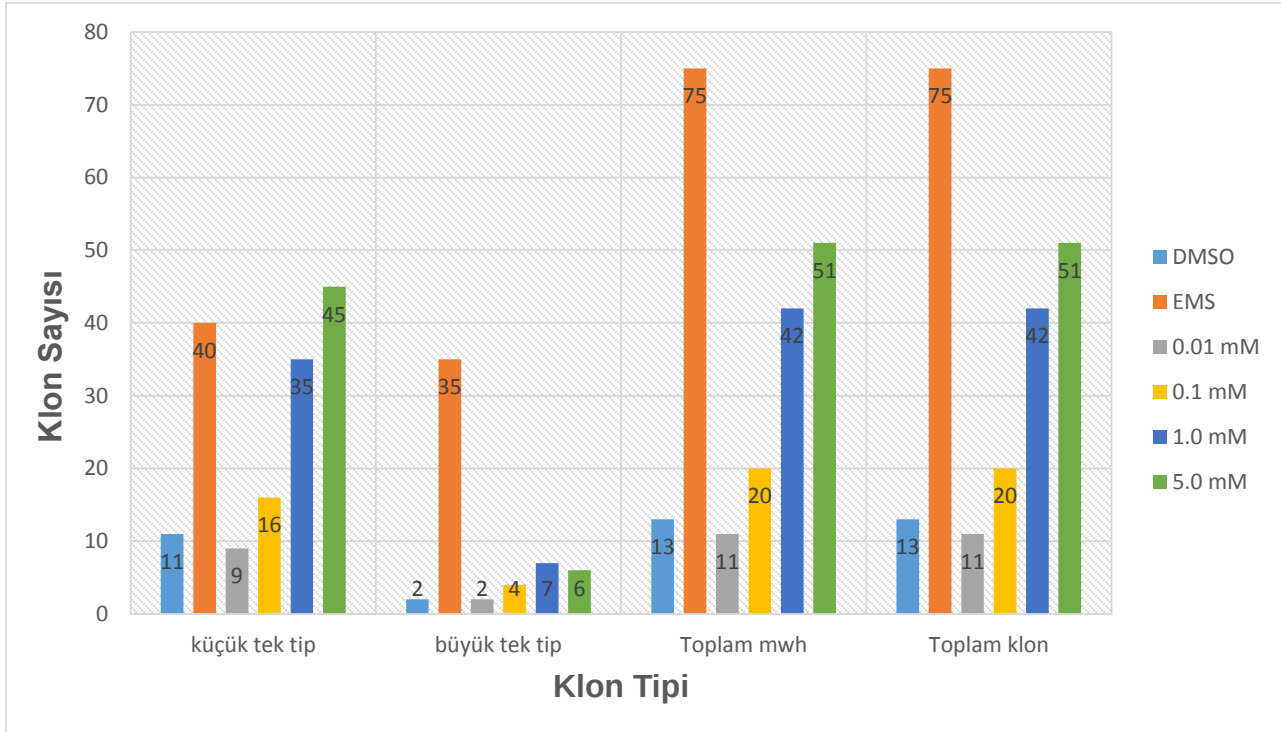
Çizelge 4. 6. Sitalopramın *Drosophila melanogaster*'de somatik mutasyon ve rekombinasyona etkileri (serrat kanat).

Gruplar Ve Dozlar	Kanat Sayısı (N)	Küçük tek tip klonlar (1-2 hücre) (m=2)			Büyük tek tip klonlar (>2 hücre) (m=5)			Toplam mwh klonları (m=2)			Toplam klon (m=2)			Klon indüksiyon frekansı (10 ⁵ hücre)
		Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	Sayı	Fr.	D	
Distile su	80	10	0.13		2	0.03		12	0.15		12	0.15		0.61
DMSO	80	11	0.14	i	2	0.03	i	13	0.16	i	13	0.16	i	0.67
EMS	80	40	0.50	+	35	0.44	+	75	0.94	+	75	0.94	+	3.84
0.01 mM	80	9	0.11	-	2	0.03	i	11	0.14	-	11	0.14	-	0.56
0.1 mM	80	16	0.20	i	4	0.05	i	20	0.25	i	20	0.25	i	1.02
1.0 mM	80	35	0.44	+	7	0.09	i	42	0.53	+	42	0.53	+	2.15
5.0 mM	80	45	0.56	+	6	0.08	i	51	0.64	+	51	0.64	+	2.61

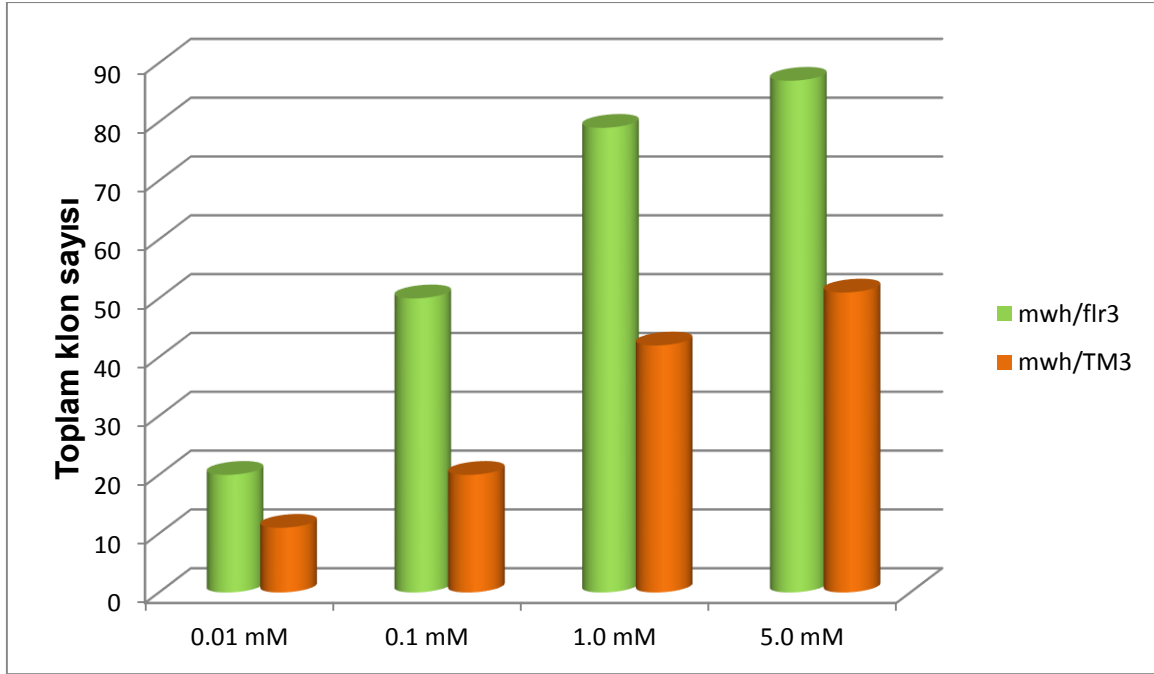
Kanat benek testi için; Fr: frekans; D: Frei ve Würger'in [73] istatistiksel değerlendirme kararı; +, pozitif; -, negatif; i, önemsiz (inconclusive); m=çarpım faktörü; olasılık düzeyleri p=0.05.



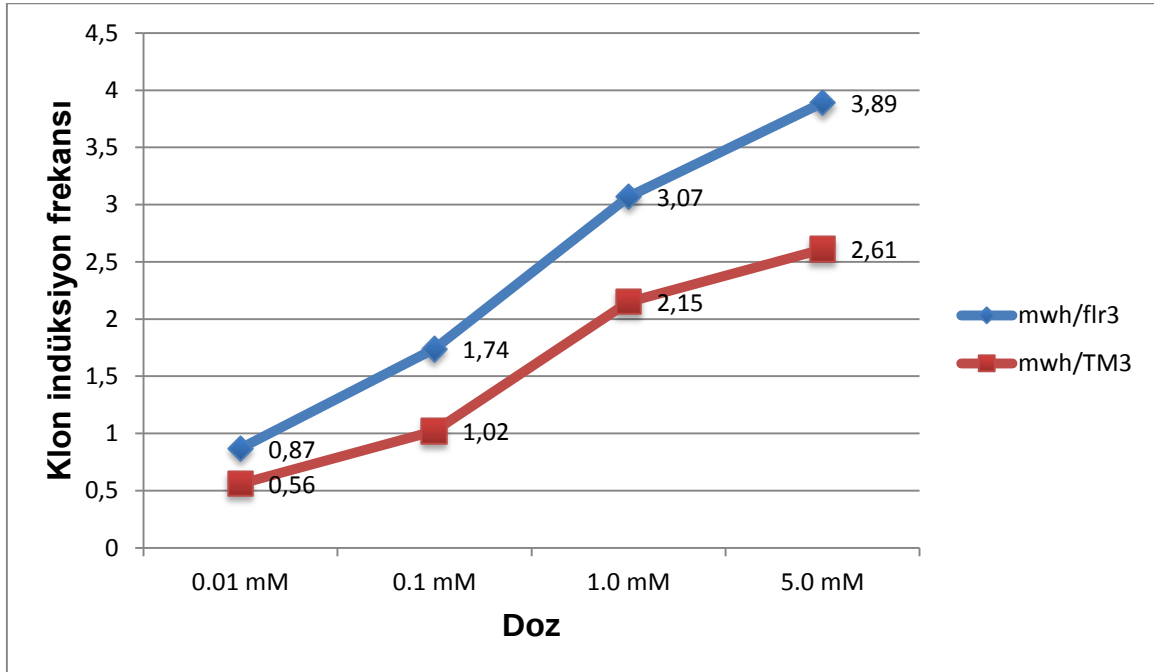
Şekil 4. 9. Sitalopramın normal kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.



Şekil 4. 10. Sitalopramın serrat kanatlı bireylerde klon tipleri ve klon sayıları.



Şekil 4. 11. Sitalopram uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde toplam klon sayısı.



Şekil 4. 12. Sitalopram uygulamasında normal ve serrat kanatlı bireylerde klon indüksiyon frekansı.

5- SONUÇLAR VE TARTIŞMA

Antidepresan etken maddelerinden sertralin, fluoksetin ve sitalopramın genotoksik etkileri *Drosophila* kanat testi (SMART) ile incelenmiştir. Deneyler aşamasında SMART testi için kullanılan *D. melanogaster*'in iki farklı mutant soyu yani *flr³* ve *mwh* soylarının gelişimini etkileyebilecek iç ve dış etkenler standart tutulmuştur.

Ayrıca bu antidepresan etken maddelerin ortak çözücüsü olan dimetil sülfoksit (DMSO)'in genotoksik etkisinin olup olmadığını belirlemek amacı ile 3 farklı derişimi deneye dahil edilmiş ve incelemelerden elde edilen DMSO sonuçları ile negatif kontrol olan distile su sonuçları arasında anlamlı bir fark olmadığı ortaya çıkmış ve deney sonuçları buna göre yorumlanmıştır.

Çalışmada etil metan sülfonat (EMS), bilinen genotoksik etkisini ve mevcut deney koşullarında SMART ile uygulanabilirliğini göstermek amacı ile pozitif kontrol grubu olarak seçilmiştir. EMS pozitif kontrol olarak bir çok çalışmada kullanılmaktadır [77, 78, 79]. EMS'nin, DNA'nın yapısını doğrudan etileyici ürünler üretme yolu ile ya da metilleme ile nokta mutasyonlar, küçük delesyonlar ve kromozom kırılmaları ile rekombinajenik aktivitelere neden olduğuna yönelik çalışmalar bulunmaktadır [70, 80]. Bu bilgilerin ışığında deneyde uyguladığımız etken maddelerin bulguları arasında gözlenen farkların uygulanan maddelerin etkisi sonucunda ortaya çıktığını söyleyebiliriz.

L1 (24±4 saat) evresinde olan larvalara 96 saatlik uygulamalar sonucunda, negatif kontrol ve DMSO dışında her üç maddenin dört derişiminde de larval ölümlere sebep oldukları gözlenmiştir. İmajinal diskler larval gelişme boyunca sürekli mitotik bölünme ile büyüyen hücre gruplarıdır. Kanat imajinal disk hücreleri birinci larval evrede 50-100 kadar ve üçüncü larval evrede 24400'e ulaşmaktadır. Genç larvalarda oluşan klonlar sayı bakımından azdır ama oldukça büyüktür. Larval gelişme esnasında bölünerek çoğalan hücreler, imajinal disklerde hedef hücre sayısının artmasına neden olur ve larvanın yaşı büyüdükçe klon indüksiyon frekansında artışa sebep olur. Ancak bu klonlar daha genç larvalarda oluşan klonlara göre daha küçüktür bu nedenle L1 evresinde uygulanan maddeler larval ölümlere sebep olmaktadır [48].

Antidepresan ilaçlar yıllardır kullanılmaktadır. Bu ilaçların tedavi edici ve aşırı doz kullanımlarının yan etkileri ve toksisiteleri hakkında bilgiler olmasına rağmen genotoksisite ile ilgili bilgiler çok sınırlı ve birbirinden farklıdır. İnsan popülasyonlarında kanserin meydana gelmesinde çevresel faktörlerin kalıtsal faktörlerden daha önemli olduklarını belirtmektedir [81]. Mitotik rekombinasyonlar, bazı kanserlerin gelişiminde önemlidir ve bu nedenle genotoksite çalışmaları rekombinojenik ajanların belirlenmesinde de etkin bir rol oynamaktadır [82].

Antidepresanların hasta tedavilerindeki başarılarına rağmen bu ilaçların kanser oluşumu ve gelişimi hakkında bilgiler çok değişkendir. Örneğin yapılan bir çalışmada trisiklik antidepresanların yapısal özelliklerinden dolayı histamin bağlanmasını inhibe ederek sitokrom P450 monooksijenaz katalitik aktivitesinin düşmesine sebep olup, bu yolla kansere neden olduğu bulgulanmıştır [83]. Bunun aksine başka bir çalışmada trisiklik antidepresanların potansiyel olarak faydalı etkilere neden olabileceği gösterilmiştir [84].

Bu çalışmada elde ettiğimiz bulgular SSRI grubu antidepresan etken maddelerinden sertralin'in *Drosophila melanogaster*'in transheterozigot larvaları üzerinde uygulanması sonucunda, bu maddenin 1.0 mM'lık derişimi hariç diğer üç dozda pozitif sonuç ortaya çıkmamıştır. Normal kanatlı, *mwh/flr³* genotipli bireyler üzerinde sertralin'in 0.01 mM uygulama deneyinde sadece ikiz klonlarda ve 0.1 mM uygulama sonucunda ikiz ve küçük tek tip klonlarında kontrol grubuna göre fark oluşmuştur, ancak fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p > 0.05$).

mwh/flr³ genotipli bireylerin 1.0 ve 5.0 mM sertralin uygulama sonuçlarına göre küçük tek tip, ikiz klon, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrol grubuna göre fark gözlenmektedir ancak fark istatistiksel olarak anlamlı değildir ($p > 0.05$).

mwh/Tm3 genotipine sahip serrat kanatlı bireylerin 0.01 mM sertralin ile uygulama sonucunda sadece küçük tek tip klonlarda, 0.1 mM uygulama sonucunda küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon gruplarında ve 1.0 mM uygulamada büyük tek tip klonlarında kontrol grubuna göre istatistiksel olarak anlamsız fark gözlenmiştir ($p > 0.05$).

Ancak serrat kanatlı bireylere 1.0 mM'lık sertralin uygulama sonucunda küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar açısından pozitif sonuç yani istatistiksel olarak anlamlı fark göstermektedir ($p < 0.05$). Halbuki bu derişim normal kanatlı bireylerin benzer klonlarında kontrole göre önemsiz fark göstermiştir ($p > 0.05$).

mwh/Tm3 genotipli serrat kanatlı bireylerde 5.0 mM sertralin uygulama sonucunda tüm klonlarda oluşan fark istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur ($p > 0.05$).

Genelde ilk olarak normal kanatlara bakılır, eğer incelenen kanatlardaki spotların miktarı istatistiksel olarak pozitif sonuç veriyorsa uygulamanın sonuçlarının mutasyon veya rekombinasyon kaynaklı olduğunu anlamak için serrat kanatlar incelenir. Eğer normal kanatlı bireylerde bir grupta sonuç pozitif ve serrat kanatlı bireylerde de aynı grupta pozitif sonuç gözleniyorsa o zaman bu etkinin hem mutasyon hem rekombinasyon sonucunda oluştuğu anlaşılır. Sadece normal kanatlı bireylerde pozitif sonuç gözleniyorsa, serrat kanatlı bireylerde dengeleyici kromozom rekombinasyonu baskıladığı için bu etkinin sadece mutasyonlardan kaynaklandığını gösterir. Sertralin uygulama sonucunda sadece serrat kanatlı bireylerin 1.0 mM'lık dozunda pozitif sonuç görüldüğü için bu pozitif sonuç göz ardı edilebilir.

Kocaoğlu tarafından (2010) SMART testi ile sertralinin genotoksik etkisi daha önce de araştırılmıştır [71]. Bu çalışmaya göre etken maddenin benzer dozlarında pozitif sonuç bulunmamış ve kontrol grubuna göre oluşan farklar anlamsız olarak değerlendirilmiştir.

Yapılan benzer bir deneyde sertralin kullanan ve kullanmayan hastalarda oluşan kardeş kromatid değişimi (SCE) istatistiksel olarak anlamsız bulunmuştur [85]. Davies ve Klowe (1998), erkek farelere sertralin uygulaması sonucunda iyi huylu karaciğer tümörü oluşumunda anlamlı derecede artış gözlemiş ancak sıçanlarda yapılan kanserojenite deneylerine göre aynı uygulama negatif sonuç göstermiştir [86].

Draz ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan başka bir çalışmada sertralin kullanan hastalarda az da olsa DNA hasarı ortaya çıkmıştır [36]. Yapılan başka bir çalışmada Johanson ve arkadaşları (2006) sucul ortamda yayılan sertralin'in toksik etki oluşturduğu ortamdaki canlılar ve yosunlar üzerinde saptamıştır [87].

Cotterchio ve arkadaşlarının (2000) yaptığı bir çalışmada SSRI grubu antidepresan ilaçlarından sertralin kullanan bir grup hastada meme kanseri oluşumunda zararlı etki

gösterdiği saptanmıştır [88]. SMART testi ile sertralin'in genotoksitesisi *mwh/flr³* genotipli bireylerde 50 µg ve 175 µg'lık uygulamada küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon gruplarında pozitif sonuç görülmüştür [89].

Çalışmamızda elde ettiğimiz veriler 1988 yılından itibaren kullanılan SSRI grubuna ait fluoksetin uygulamasının bazı derişimlerde pozitif sonuç verdiğini ortaya koymaktadır. *mwh/flr³* genotipindeki normal kanatlara sahip bireylerin 0.01, 0.1 ve 1.0 mM fluoksetin uygulama sonucunda sadece ikiz klonların kontrol grubuna göre farklı olduğu ortaya çıkmıştır ancak bu fark istatistiksel olarak anlamlı bulunmamıştır ($p > 0.05$). Ancak fluoksetinin 1.0 mM uygulama sonucunda küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonların değerlerinde kontrole grubuna göre anlamlı farkın olduğu gözlenmiş ve sonucun pozitif olduğu bulgulanmıştır ($p < 0.05$).

Fluoksetin'nin 5.0 mM uygulama sonucunda *mwh/flr³* genotipli normal kanatlı bireylerin tüm klon tiplerinde kontrole göre istatistiksel olarak anlamlı derecede farklı olduğu ve sonucun pozitif olduğu belirlenmiştir ($p < 0.05$).

mwh/TM3 genotipine sahip serrat kantalı bireylerin 0.01 ve 0.1 mM fluoksetin uygulama sonuçlarına göre büyük tek tip klonlar açısından bu dozlarda kontrole göre farklı olduğu ancak bu farkın istatistiksel olarak anlamsız olduğu gözlenmiştir ($p > 0.05$).

Serrat kanatlı bireylerin 1.0 ve 5.0 mM fluoksetin uygulama sonucuna göre küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlarda kontrole göre anlamlı farkın olduğu ve değerlendirmelere göre pozitif sonuçlar verdiği görülmüştür ($p < 0.05$).

Fluoksetinin 1.0 ve 5.0 mM'lık uygulamalarında küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon gruplarında hem normal kanatlı hem de serrat kanatlı bireylerde istatistiksel olarak pozitif sonuç saptanmıştır. Bu nedenle oluşan mutant benekler hem mutasyon, hem rekombinasyon kaynaklı olmalıdır. Ancak büyük tek tip klonlarda sadece normal kanatlı bireylerde pozitif sonuç gözlenmesi, oluşan mutant beneklerin mutasyonlar sonucunda oluştuğunu gösterir.

Kocaoğlu (2010) tarafından yapılan benzer bir çalışmada SMART testi ile fluoksetin'in genotoksitesisi araştırılmıştır ve 0.01 ve 0.1 mM'lık uygulamalarda aynı sonuçlar elde edilmiştir, ancak 1.0 ve 5.0 mM'lık uygulamasında bazı klonlarda kontrole göre

anlamsız fark gösterirken bizim yaptığımız deneyde bu farklar istatistik olarak anlamlı bulunmuştur [71].

Ali ve arkadaşları (2001) tarafından yapılan başka bir çalışmada fluoksetin'in gebe farelerin kemik iliği hücrelerinde sitogenetik değişimleri indüklediği ortaya çıkmıştır ve bu değişimler kontrole göre istatistiksel olarak artış göstermiştir. Kemik iliği hücrelerinde kromozom bozuklukları; sentromerik azalma, kırılma, delesyon, uç uca gelme, halka yapışma, sentrik füzyon ve poliploidi olarak tanımlanmaktadır [90]. Öte yandan Brandes ve arkadaşları (1992) fluoksetin türü ilaçların kanser oluşumuna sebep olduğunu göstermişlerdir [91]. Yapılan başka bir çalışmaya göre fluoksetin'in plasenta bariyerini geçebildiğini hatırlatarak bu tür ilaçlardan oluşabilecek olası zararların tek taraflı yaşanmadığı vurgulanmıştır [92]. Draz ve arkadaşları (2009) tarafından yapılan bir çalışmaya göre fluoksetin ve sertraline ile tedavi olan hastalarda DNA hasarı ortaya çıkmıştır ve bu çalışmaya göre fluoksetin'in zararlı etkileri sertralinden daha fazla olduğu tespit edilmiştir [36]. Ayrıca fluoksetin erkek farelerde prostat karsinoma hücrelerinin gelişimini engellemektedir [93]. Ratlar üzerinde yapılan başka bir çalışmaya göre fluoksetin hücrelerde apoptosis işlevini engelleyebilmekte [94] ve erkek farelerde karaciğer kanserinin indüklemesine neden olmaktadır [95].

Bununla birlikte fluoksetin dişi fareler ve sıçanlarda meme kanseri oluşumunu indüklediği saptanmıştır [88, 96].

SSRI grubu antidepresanlardan özellikle fluoksetin ve sitalopram kullanan bir grup hasta üzerinde yapılan başka bir çalışmada uzun süreli kullanımlarda bu etken maddelerin, COLO320 DM isimli insan kolon hücreleri üzerinde sitotoksik etki göstererek kolon kanserinin azalmasına neden oldukları gösterilmiştir [97].

SSRI grubu etken maddelerinden olan sitalopram ile transheterozigot larvalara yapılan uygulamalar sonucunda hem normal kanatlı hem de serrat kanatlı bireylerde bazı dozlarda pozitif sonuçlar görülmüştür.

mwh/flr³ genotipine sahip normal kanatlı bireylerde sitalopram'ın 0.01 mM dozunun uygulama sonuçlarına göre sadece ikiz klonlarda kontrole göre bir fark gözlenmiştir ancak bu fark istatistiksel olarak anlamsızdır ($p > 0.05$). Diğer grupların karşılaştırmalarında ise bir fark gözlenmemiştir. Sitalopram'ın 0.1 mM uygulama

sonucunda, küçük tek tip, büyük tek tip ve ikiz klonlarda ve 1.0 mM uygulamaya göre ikiz klonlarda kontrole göre farkın olduğu ancak istatistik değerlere göre önemsiz bulunmuştur ($p > 0.05$).

Bununla birlikte 0.1 mM uygulamasında toplam *mwh* ve toplam klonlar grubunda ve 1.0 mM'lık uygulamada küçük tek tip, büyük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar açısından kontrole göre pozitif sonuç göstermiştir ($p < 0.05$). Sitalopram'ın 5.0 mM derişiminin uygulama sonuçlarına göre tüm klon tiplerinde pozitif sonuç yani istatistiksel olarak anlamlı farklar bulunmuştur ($p < 0.05$).

mwh/TM3 genotipli bireylerin sitalopram 0.01 mM uygulama sonucuna göre büyük tek tip klonlarda kontrole göre önemsiz fark ortaya çıkmıştır, 0.1 mM uygulamasında da tüm klon tiplerinde farkın olduğu ama istatistiksel olarak önemsiz olduğunu görölmektedir ($p > 0.05$).

Serrat kanatlı bireylerin 1.0 ve 5.0 mM sitalopram uygulama sonucunda sadece büyük tek tip klonlarda kontrole göre önemsiz bir farkın olduğu saptanmıştır ($p > 0.05$). Ancak küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klonlar açısından bu iki doz uygulamaları için pozitif sonuçlar görölmüştür ($p < 0.05$).

Sitalopramın 0.1 mM'lık uygulaması toplam *mwh* ve toplam klonlarda, 1.0 ve 5.0 mM'lık uygulaması ise büyük tek tip klonlarda sadece normal kanatlı bireylerde pozitif sonuç gözlenmiştir. Bu sonuç mutant beneklerin mutasyonlar sonucunda oluştuğunu gösterir. Ancak 1.0 ve 5.0 mM sitalopram uygulamasının küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon gruplarında her iki kanat tipinde de pozitif sonuç gözlenmiştir. Bu sonuç mutant beneklerin oluşumuna hem mutasyonların hem de rekombinasyonların rol oynadığını gösterir.

Serafeim (2002) tarafından sitalopram kullanan bir grup hasta üzerinde yapılan çalışmada, bu etken maddenin serotonin transporterlerini bloke ederek burkit bez hücrelerinde apoptosisi önlediği saptanmıştır [98]. Ayrıca sıçanlar üzerinde yapılan benzer bir çalışmada sitalopramın serotonin'i bloke ederek, poliferatif sinyalleri indükleyerek ince bağırsak ve kolonda mitotik bölünmeleri hızlandırarak ince bağırsak ve kolon kanserine neden olduğu gösterilmiştir [99].

SMART testi ile sitalopram'ın genotoksisitesi araştırılmış ve elde edilen sonuçlara göre *mwh/flr³* genotipli bireylerde 100 µg ve 150 µg'lık uygulamada toplam *mwh* ve toplam klon gruplarında ve 200 µg'lık uygulamada küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon gruplarında pozitif sonuç görülmüştür [89]. Bunun yanısıra *mwh/TM3* genotipli bireylerde uygulama sonucunda 200 µg'lık derişimde küçük tek tip, toplam *mwh* ve toplam klon gruplarında pozitif sonuçlar elde edilmiştir [89].

Farklı test sistemlerini kullanarak antidepresanların genotoksisitesini araştıran çalışmalardan elde edilen sonuçlara bakıldığında test sistemine bağlı farklı sonuçlar elde edildiği görülmektedir. Memelilerde *in vivo* testler yüksek maliyeti ve uzun sürmesi nedeniyle çok az ve sınırlıdır. Bu açıdan *D. melanogaster* ve özellikle SMART testi, memelilerde tamamlayıcı bir *in vivo* temsilci olarak kullanılabilir [81].

Günümüzde her yaş grubundan insanlar farklı amaçlar için antidepresan ilaçlar kullanmaktadır. Bu ilaçların faydalı veya zararlı olduklarını belirlemek amacı ile genotoksisite testleri kaçınılmaz olmuştur. Ayrıca yapılan literatür taramasına göre kullandığımız bu üç etken madde ile ilgili genotoksite testleri konusunda bilgiler çok sınırlı ve eksiktir.

Bu çalışmada bazı antidepresan ilaçların iki gen açısından heterozigot olan *D. melanogaster* larvalarında mutajenik ve rekombinojenik etkileri araştırılmıştır ve kullanılan ilaçların bazı dozlarının larvalar üzerinde toksik etkiye neden olduğu görülmüştür. Bu maddelerin başta kanser ve genetik materyal üzerinde hasarlara neden olduğunu gösteren çalışmalar göz önüne alındığında, bu maddelerin yaratabileceği zararlar göz ardı edilemez.

Ayrıca *D. melanogaster*'in model organizma olarak insana büyük oranda benzerlik göstermesi ve ökaryotik bir organizma olması [100, 101], kullanılan testin *in vivo* bir test olması, elde edilen bulgular açısından önemlidir. *In vivo* testlerin organizmanın bütünlüğü içinde yapıyor olması, herhangi bir ajana karşı organizma tarafından verilen cevabın böyle bir test ile gösterilmesi büyük öneme sahiptir [102].

Çalışmamızdan elde ettiğimiz bulgular bize SSRI grubu etken maddeler arasında sitaloparm ve fluoksetin'in sertralin'e göre *D. melanogaster*'de etkisinin daha toksik olduğunu göstermektedir.

Bu maddelerin başka genotoksite testleri ile farklı taksonlardaki canlılar ve insan hücre kültürleri ile tekrarlanması oldukça önemlidir. Elde edilecek benzer sonuçlar antidepressan ilaç üretiminde genotoksik etkisi en az olan etken maddelere yönelmesi açısından oldukça önemlidir.

Uzun süreli ilaç kullanımı sonucunda hastalarda ortaya çıkabilecek yan etkilerin en aza indirilmesi toplumsal sağlık ve ülkelerin sağlık giderlerine yaptığı harcamaların azaltılması açısından üzerinde dikkatle durulması gereken bir konudur.

KAYNAKLAR

- [1] Paingua-Perez, R., Madrigal-Bujaid, E., Reyes, C S., Perez, G J., Velasco, M O and Molina, D., Sister chromatid exchanges produced by imipramine and desipramin in mouse bone marrow cells in vivo, *Toxicology Letters*, 132, 123-129, **2002**.
- [2] Picard, M., Olichon, D., Gombert, J., Determination of Serotonin in plasma by Liquid chromatography with Electrochemical Detection, *Journal of Chromatography B: Biomedical Sciences and Applications*, 341, 445-451, **2002**.
- [3] Vaswani, M., Linda. FK and Ramesh, S., Role of serotonin reuptake inhibitors in psychiatric disorders, *Progress in neuro- Psychopharmacology & Biological Psychiatry*, 27, 85-102, **2003**.
- [4] Brooks, B. W., Foran, C. M., Richards, S. M., Weston, J., Turner, P. K., Stanley, J. K., La Point, T. W., Aquatic ecotoxicology of fluoxetine, *Toxicology Letters*, 142(3), 169-183, **2003**.
- [5] Hutchinson, T. H., Reproductive and developmental effects of endocrine disruptors in invertebrates: in vitro and in vivo approaches, *Toxicology Letters*, 131(1), 75-81, **2002**.
- [6] Würgler, F.E ., Vogel, E.W., In vivo mutagenicity testing using somatic cells of *Drosophila melanogaster* Chemical mutagenesis, Principles and methods for their detection, *Plenum press*, New york, s, 1-72, **1986**.
- [7] <http://en.wikipedia.org/wiki/Antidepressant> (Temmuz, **2013**).
- [8] Hecht, A., Antidepressants and anxiety drugs (ed: Triggler, D. J.), *Infobase Publishing*, New York, **2011**.
- [9] Birsöz, S., Turay, A., Depresyon ve Antidepressant İlaçlar, *Medikomat Basın Yayın sanayi*, Ankara, 121-16, **1994**.
- [10] Crane, G.E., The psychiatric side-effects of iproniazid, *American Journal of Psychiatry*, 112(7), 494-501, **1956**.
- [11] Battal, S., Çetin, M., Depresyonun İlaçla Tedavisinde Temel İlkeler, *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 8(4), 202 – 214, **1998**.
- [12] Mitchell, E. S., Drugs The Straight Facts: Antidepressants (ed: Triggler, D.J.), *Chelsea House Publishers*, China, **2004**.
- [13] Brambilla, G., Mattioli, F., Martelli, A., Genotoxic and carcinogenic effects of antipsychotics and antidepressants, *Toxicology*, 261(3), 77-88, **2009**.

- [14] Ersparmer, V., Arch. F. Exp. Pathology and Pharmacology, *Current psychiatry reviews*, 196, 366, **1940**.
- [15] Ido, P.K., Elisabeth G.E., De Vries., Frits, A.M., Clinical chemistry of serotonin and metabolites, *Journal Of Chromatography*, 747, 33-48, **2000**.
- [16] Van Zwieten, P.A., Blauw, G.J., ve Van Brummelen, P., Serotonergic receptors and drugs in hypertension, *Pharmacological Toxicology*, 70, s, 17-22, **1992**.
- [17] Kuhn, DM., Lovenberg, W., Assay of serotonin, related metabolites and tryptophan hydroxylase, methods in biogenic amine research, chapter 23, *Elsevier Science Publishers*, **1983**.
- [18] Vanhoutte, P.M., Amery, A., Birkenhager, W., Breckenridge, A., Buhler, F., Distler, A., Dormandy, J., Doyle, A., Frohlich, E., Hansoon, L., Hedner, T., Hollenber, N. Jensen, H., Lund-Johansen, P., Meyer, P.L., Opie, L., Robertson, I.,Safar, M., Serotonergic mechanism in hypertension, Focus on the effects of ketanserin, *Hypertension*, 11, 11-133, **1988**.
- [19] Keller, R.,Greiling, H., Gressner, AG., Lehrbuch der Klinischen Chemie und Pathobiochemie, *Schattauer Verlag*, Stuttgart, **1987**.
- [20] Jouve, J., Martineau, J., Marioette, N., Barthelemy, C., Muh, J. P., Lelord, G., Determination of urinary Serotonin Using Liquid chromatography with Electrochemical Detection, *Journal Of Chromatography*, 378, 437-443, **1986**.
- [21] Lüscher, T.F., Richard, M., Tschudi, M., ve Yang, Z., Serotonin and the endothelium, *Clinical Physiology Biochemistry*, 8 (suppl 3), 108-119, **1990**.
- [22] Glusa, E., Ve Müller–Schweinitzer, E., Heterogeneity of 5-HT receptor subtypes in isolated human femoral and saphenous veins, *Naunyn Schmiedberg's Archive Pharmacology*, 347,133-136, **1993**.
- [23] Stahl, S. M., *The prescriber's guide*, Cambridge University Press, London, **2011**.
- [24] Yan, W., Wilson, C. C., Haring, J. H., 5-HT_{1a} receptors mediate the neurotrophic effect of serotonin on developing dentate granule cells, *Developmental Brain Research*, 98(2), 185-190, **1997**.
- [25] Gould, E., Serotonin and hippocampal neurogenesis, *Neuro Psychopharmacology*, 21, 46-51, **1999**.
- [26] Marinesco, S., Carew, T. J., Serotonin release evoked by tail nerve stimulation in the CNS of Aplysia, characterization and relationship to heterosynaptic plasticity, *The Journal Of Neuroscience*, 22(6), 2299-2312, **2002**.

- [27] Shuranova, Z. P., Burmistrov, Y. M., Strawn, J. R., Cooper, R. L., Evidence for an autonomic nervous system in decapod crustaceans, *International Journal Of Zoological Research*, 2(3), 242-283, **2006**.
- [28] Woolley, D. W., Shaw, E., A biochemical and pharmacological suggestion about certain mental disorders, *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 40(4), 228, **1954**.
- [29] Gaddum, J. H., Picarelli, Z. P., Two kinds of tryptamine receptor, *British Journal Of Pharmacology*, 120(1), 134-139, **1975**.
- [30] Barnes, N. M., Sharp, T., Central 5-HT receptors and their function, *Neuropharmacology*, 38(8), 1083-1152, **1999**.
- [31] Cooper, J. R., Bloom, R. H., *The biochemical basis of neuropharmacology*, 5th Edition, New York, Oxford University Press, **1986**.
- [32] Colas, J. F., Launay, J. M., Maroteaux, L., Maternal and zygotic control of serotonin biosynthesis are both necessary for *Drosophila* germband extension, *Mechanisms of Development*, 87(1), 67-76, **1999**.
- [33] Hoyer, D., Hannon, J. P., Martin, G. R., Molecular, pharmacological and functional diversity of 5-HT receptors, *Pharmacology Biochemistry and Behavior*, 71(4), 533-554, **2002**.
- [34] Tollefson, G.D., Rampey, A.H., Jefferson, J.W., Kobak, K.A., Katzelnick, D.J., Serlin, R.C., A Multicenter Investigation of Fixed-Dose Fluoxetine in the Treatment of Obsessive-Compulsive Disorder, *Archives Of Genetical Psychiatry*, 51(7), 559-567p, **1994**.
- [35] Chouinard, G., Sertraline in the treatment of obsessive compulsive disorder: two double blind, placebo-controlled studies, *International Clinical Psychopharmacology*, 7, 37-41p, **1992**.
- [36] Draz, E. I., Emara, A. M., Saad, K. M., Badaway, A., Hassab E, N., Abd-Elgelil, H., Genotoxicity of some commonly used antidepressants (fluoxetine, sertraline and clomipramine), *Mansoura Journal of Forensic Medicine and Clinical Toxicology*, 17(2), 63-77, **2009**.
- [37] <http://www.eminceylan.com/pro1.asp?CatID=139>.
- [38] Johnson, D. J., Sanderson, H., Brain, R. A., Wilson, C. J., Solomon, K. R., Toxicity and hazard of selective serotonin reuptake inhibitor antidepressants fluoxetine, fluvoxamine and sertraline to algae, *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 67(1), 128-139, **2007**.

- [39] Laird, B. D., Brain, R. A., Johnson, D. J., Wilson, C. J., Sanderson, H., Solomon, K. R., Toxicity and hazard of a mixture of SSRIs to zooplankton communities evaluated in aquatic microcosms, *Chemosphere*, 69(6), 949-954, **2007**.
- [40] <http://psychcentral.com/lib/2012/top-25-psychiatric-medication-prescriptions-for-2011> (Haziran, **2013**).
- [41] Aşkın, R., Turan, M., Cilli, A.S., Kaya, N., Clomipramine versus Sertraline in the Treatment of Obsessive Compulsive Disorder, *European Neuropsychopharmacology*, Volume 7, Supplement 2, 228-229p, **1997**.
- [42] drugs.com/sertraline.htm (Haziran, **2013**).
- [43] Ferguson, J. M., The effects of antidepressants on sexual functioning in depressed patients, *The Journal Of Clinical Psychiatry*, 62, 22- 34, **2000**.
- [44] Deiró, T. C. B. J., Manhães-de-Castro, R., Cabral-Filho, J. E., Barreto-Medeiros, J. M., Souza, S. L., Marinho, S. M. O. C., Barros, K. M. F. T., Sertraline delays the somatic growth and reflex ontogeny in neonate rats, *Physiology and Behavior*, 87(2), 338-344, **2006**.
- [45] <http://www.rxlist.com/prozac-drug/clinical-pharmacology.htm> (Haziran, **2013**).
- [46] Slamon, D. N., Ward, T. H., Butler, J., Pentreath, V. W., Assessment of DNA damage in C6 glioma cells after antidepressant treatment using an alkaline comet assay, *Archives of Toxicology*, 75(4), 243-250, **2001**.
- [47] Ecobichon, D.J., *The basis of toxicity testing (2nd ed.)*, CRC Press LLC, Boca Raton, FL, p. 49, **1997**.
- [48] Rincon, J.G., Graf, U., *Drosophila melanogaster* somatic mutation and recombination test as a biomonitor, biomonitors and biomarkers as indicators of environmental change, *Environmental Science Research*, Plenum Press, NEW YORK, S. 169_179, **1995**.
- [49] Diril, N., “*Doğadaki Mutajenler ve Saptanmaları (II)* ” Yüksek Lisans Dersi, Ders Sunumu, (ppt belgesi), 174 s, **2011**.
- [50] Özcan, P. Ö., *Propolisin Antimutajenik Etkilerinin Drosophila melanogaster’de Araştırılması*, Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara, **2011**.
- [51] Snow, E.T., Foote, R.S., Mitra, S., Basepairing properties of O-6- methylguanine in template DNA during in vitro DNA replication, *Journal Of Biological Chemistry*, 259, 8095-8100, **1984**.

- [52] Ashburner, M., *Drosophila a Laboratory Handbook*, Cold Spring Harbor Press, New York, 689s, **1989**.
- [53] Houk, V. S., The genotoxicity of industrial wastes and effluents, *Mutation Research/Reviews in Genetic Toxicology*, 277, Issue 2, p. 91-138, **1992**.
- [54] Wolff, S., Sister Chromatid Exchange, *Annual review of genetics*, 11, 183-201, **1977**.
- [55] Sarıkaya, R., Çakır, Ş., Genotoxicity testing of four food preservatives and their combinations in the *Drosophila* wing spot test, *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 20, 424–430, **2005**.
- [56] Ames, B.N., Food Constituents as a Source of Mutagens, Carcinogens and Anticarcinogens, *Genetic Toxicology of the Diet*, (Alan R. Liss, Inc., New York, NY), 3-32, **1986**.
- [57] Ebringer, L., Subik, J., Lahitova, N., Trubaic, S., Horvathova, R., Siekel, P., Krajcovic, J., Mutagenic effects of two nitrofurans food preservatives, *Neoplasma*, 29 (6), 675–684, **1982**.
- [58] Lee, W.R., Abrahamson, S., Valencia, R., Von Halle, E.S., Würzler, F.E., Zimmering S., The sex-linked recessive lethal test for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*, A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program, *Mutation Research*, 123(2), 183-279, **1983**.
- [59] Idaomar, M., EL Hamss, R., Bakkalğ, F., Mezzoug, N., Zhiri, A., Baudoux, D., Munoz-Serrano, A., Liemans, V. and Alonsomoraga, A., Genotoxicity and antigenotoxicity of some essential oils evaluated by wing spot test of *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research*, 513, 61-68, **1983**.
- [60] Lehmann, M., Franco, A., Vilar, K.S.P., Regul, M.L., Andrade, H. H. R., Doxorubicin and two of its analogues are preferential inducers of homologous recombination compared with mutational events in somatic cells of *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research*, 539, 167-175, **2003**.
- [61] Osaba, L., Rey, M.J., Aguirre, A., Alonso, A., Graf, U., Evaluation of genotoxicity of Captan, Maneb and Zineb in the wing spot test of *Drosophila melanogaster*, role of nitrosation, *Mutation Research*, 518, 95-106, **2002**.
- [62] Vogel, E.W., Zijlstra, J.A., Mechanistic and methodological aspect of chemically induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research*, 182, 243-264, **1987**.

- [63] Graf, U., Frei, H., Kagi, A., Katz, A.J., Würgler, F.E., Thirty compounds tested in *Drosophila* wing spot test, *Mutation Research*, 222, 359-373, **1989**.
- [64] Graf, U., Würgler, F.E., The somatic white ivory eye spot does not detect the some spactrum of genotoxis events as the whing somatic mutation and recombinational test in *Drosophila melanogaster*, *Environmental and Molecüler Mutagenesis*, 27, 219-226, **1996**.
- [65] Graf, U., Abraham, S.K., Guzman-Rincon, J., Würgler, F.E., Antigenotoxicity studies in *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research*, 402, 203-209, **1998**.
- [66] Graf, U., Würgler, F.E., Katz, A.J., Frei, H., Juan, H., Hall, C.B., Kale, P.G., Somatic Mutation and Recombination Test in *Drosophila melanogaster*, *Environmental Mutagenesis*, 6, 153-188, **1984**.
- [67] Graf, U., Van Schaik, N., Improved high bioaktivasyon cross for the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, *Mutation Research* 271, 59-67, **1992**.
- [68] Lindsley, D.L., Zimm, G.G., *The Genome of Drosophila melanogaster*, Academic Pres, SAN DIEGO, s.1133, **1992**.
- [69] Yeşilada, E., Özata, L., Doğan, E.E., Evaluation of the genotoxicity of some textile dyes and textile wastewater in two crosses of *Drosophila melanogaster* using wing somatic mutation and recombination Test, *Society of Environmental Toxicology and Chemistry (SETAC)*, North America 26th Annual Meeting, Baltimore, Maryland, USA, **2005**.
- [70] Marec, F., Socha, R., Dose-response analysis of data obtained in the *Drosophila* wing spot test after ethyl methanesulfonate treatment, *Acta Entomologica Bohemoslovaca*, 84, **1987**.
- [71] Kocaoğlu Cenkci, S., *İki Heterosiklik Amin'in Genotoksisitesine Karşı Klorofil A ve Klorofil B'nin Drosophila Kanat Somatik Mutasyon ve Rekombinasyon Testi İle Koruyucu Etkilerinin Araştırılması*, Doktora Tezi, Akdeniz Üni. Fen Bil. Enst., Biyoloji A.B.D., Antalya, s 84, **2010**.
- [72] Ünlü, H., Bozcuk, A.N., Genetics of Longevity in *Drosophila*-I. The effects of w, m and f mutants genes in various genotype combinations, *Experimental gerontology*, 14,117-124, **1979**.
- [73] Frei, H., Würgler, F.E., Statistical methods to decide whether mutagenicity test, data from *Drosophila* assays indicate a positive, negative or inconclusive result, *Mutation Research*, 203, 297–308, **1988**.

- [74] Szabad, J., Soos, I., Polgar G., Hejja, G., Testing the mutagenicity of malondialdehyde and formaldehyde by the *Drosophila* mosaic and the sex-linked recessive lethal tests, *Mutation Research*, 113 , pp. 117–133, **1983**.
- [75] Kastenbaum, M.A., Bowman, K.O., Tables for determining the statistical significance of mutation frequencies, *Mutation Research*, 9, 527-549, **1970**.
- [76] Garcia-Bellido, A., Merriam, J. R., Parameters of the wing imaginal disc development of *Drosophila melanogaster*, *Developmental Biology*, 26, 264-276, **1971**.
- [77] Yeşilada, E., Özmen, M., Studies on the toxic and genotoxic effect of olive oil mill wastewater, *Fresenius Environmental Bulletin*, 732-739, **1999**.
- [78] Yeşilada, E., The effect of Kinetin, Gibberellic acid and Indole acetic acid on EMS Induced somatic mutation and recombination in *Drosophila melanogaster*, *Turkey Journal Of Biology*, 279-284, **2000**.
- [79] Yeşilada, E., Genotoxicity Testing of some Metals in the *Drosophila* Wing Somatic Mutation and Recombination Test, *Bulletin of environmental contamination and toxicology*, 66, 464-469, **2001**.
- [80] Segal, G.A., The genetic effects ethyl methanesulfonate, *Mutation Research*, 134, 113-142, **1984**.
- [81] Ramel, C., Magnusson, J., Modulation of genotoxicity in *Drosophila*, *Mutation Research*, 267, 221-227, **1992**.
- [82] Torres, C., Ribas, G., Xamena, A., Creus, A., Marcos, R., Genotoxicity of four herbicides in the *Drosophila* wing spot test, *Mutation Research*, 280, 191-295, **1992**.
- [83] Labella, F.S., Brandes, I.J., Enhancement of tumor growth by drugs with some common molecular action, *Molecular Carcinology*, 16(2), 68-76, **1996**.
- [84] Sauter, C., Cytostatic activity of commonly used tricyclic antidepressants, *Oncology*, 46, 155-157, **1989**.
- [85] Bozkurt, G., Abay, E., Ateş, I., Karabogza, G., Ture, M., Savran, F.O., Palanduz, S., Temocin, K., Algunes, C., Clastogenicity of selective serotonin-reuptake inhibitors, *Mutation Research*, 558(1-2), 137-144, **2004**.
- [86] Davies, T. S., Kluwe, W. M., Preclinical toxicological evaluation of sertraline hydrochloride, *Drug Chemical Toxicology*, 163–179, **1998**.

- [87] Dalton, SO., Johansen, C., Poulsen, A.H., Norgaard, M., Sorensen, H.T., Mc Laughlin, J.K., Mortensen, P.B., Cancer risk among users of neurolept medication, a population-based cohort study, *Britain Journal Of Cancer*, 95, 934–93, **2006**.
- [88] Cotterchio, M., Kreiger, N., Darlington, G., Antidepressant medical use and breast cancer risk, *Journal Of Epidemiology*, 151, 951-957, **2000**.
- [89] Gürbüz, M., Oral, E., Kizilet, H., Halici, Z., Gulec, M., Genotoxic evaluation of selective serotonin-reuptake inhibitors by use of the somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*, *Cytotechnology*, 1-8, **2012**.
- [90] Ali, M.O., Sharaf El-Deen, O.A., El-Menshay, O.M., Bakery, S., Genotoxic effects of fluoxetine on the chromosome of bone marrow cell of pregnant mice, *The International Association of Forensic Toxicologists*, 39th Annual International Meeting Prague, Czech Republic, **2001**.
- [91] Brandes, L.J., Arron, R.J., Bogdanovic, R.P., Stimulation of malignant growth in rodents by antidepressant drugs at clinically relevant doses, *Cancer Research*, 52, 3796–800, **1992**.
- [92] Nulman, I., Rovet, J., Stewart, D. E., Wolpin, J., Gardner, H. A., Theis, J. G. W., Kulin, N., Koren, G., Neuro development of children exposed in utero to antidepressant drug, *The New England Journal of Medicine*, 336, 258-262, **1997**.
- [93] Abdul, M., Logothetis, C. J., Hoosein, N. M., Growth-inhibitory effects of serotonin uptake inhibitors on human prostate carcinoma cell lines, *The Journal of urology*, 154, 247-250, **1995**.
- [94] Wright, S.C., Zhong, J., Larrick, J. W., Inhibition of apoptosis as a mechanism of tumor production, *Faseb Journal*, 8, 654-660, **1994**.
- [95] Kelvin, A.S., Mitchell, I., White, D. J., General and toxicology of paroxetine, *Acta Psychiatrica Scandinavica*, c 80, 34-36, **1989**.
- [96] Wang, P. S., Walker, A. M., Tsuang, M. T., Antidepressant use and the risk of breast cancer, a non-association, *Journal Of Clinical Epidemiology*, 54, 728–34, **2001**.
- [97] Wanning, X. U., Tamim, H., Shapiro, S., Stang, M. R., Collet, J. P., Use of antidepressants and risk of colorectal cancer, a nested case-control study, *The lancet oncology*, 7, 301–08, **2006**.

- [98] Serafeim, A., Grafton, G., Chamba, A., 5-hydroxytryptamine drives apoptosis in biopsylike Burkitt lymphoma cells, reversal by selective serotonin reuptake inhibitors, *Blood*, v 99, 2545-2553, **2002**.
- [99] Tutton, P. J., Barkla, D. H., Influence of inhibitors of serotonin uptake on intestinal epithelium and colorectal carcinomas, *Britain Journal Of Cancer*, 46, 260–26, **1982**.
- [100] Valencia, R., Abrahamson, S., Lee, W. R., Von Halle, E. S., Woodruff, R. C., Würzler, F. E., Zimmering, S., Chromosome mutation test for mutagenesis in *Drosophila melanogaster*, A report of the U.S. Environmental Protection Agency Gene-Tox Program, *Mutation Research*, 134, 61–88, **1984**.
- [101] Venitt, S., PARRY, I. M., Background to mutagenicity testing, *Mutagenicity testing a practical approach*, pp. 1-24, IPRL, **1984**.
- [102] Kaya, B., Yanıkoğlu, A., Creus, A., Marcos, R., Genotoxicity testing of five herbicides in the *Drosophila* wing spot test, *Mutation Research*, 465, 77–84, **2000**.

ÖZGEÇMİŞ

Kimlik Bilgileri

Adı Soyadı : Hadi ESHRAGHI OSKOUEI
Doğum Yeri : Tabriz/İRAN
Medeni Hali : EVLİ
E-posta : hadi.eshraghi@hacettepe.edu.tr
Adresi : Altay mah. 21.sok. 61/6 Eryaman. Etimesgut/ANKARA

Eğitim

Lise : Azadegan Lisesi – Tabriz (1999-2003)
Lisans : Muhakkık-ı-Ardebili Üniversitesi, Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü (2004-2008)
Yüksek Lisans : Hacettepe Üniversitesi, Fen Fakültesi,
Biyoloji Bölümü (2011-)

Yabancı Dil ve Düzeyi

İngilizce (İleri) Farsça (İleri) Azerice (İleri) Arapça (Orta)

İş Deneyimi

Deneyim Alanları

Genetik, *Drosophila* Genetiği, *Drosophila* Gelişim Biyolojisi, Genotoksisite

Tezden Üretilmiş Projeler ve Bütçesi

Bazı Antidepresanların *Drosophila melanogaster*'de Genotoksisite Ve Gelişime Etkilerinin Araştırılması.

Hacettepe Üniversitesi Bilimsel Araştırmalar Birimi Hızlı Destek Projesi

Bütçe: 8986.67 TL

Tezden Üretilmiş Yayınlar

Tezden Üretilmiş Tebliğ ve/veya Poster Sunumu ile Katıldığı Toplantılar