

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**Mostafa NOURİZADEH TAZEHKAND**

**REMERON (MIRTAZAPIN)'UN İNSAN PERİFERAL  
LENFOSİTLERİNDE *IN VITRO* GENOTOKSİK ETKİLERİ**

**BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**ADANA, 2012**

**ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ**  
**FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**REMERON (MIRTAZAPIN)'UN İNSAN PERİFERAL  
LENFOSİTLERİNDE *IN VITRO* GENOTOKSİK ETKİLERİ**

**Mostafa NOURİZADEH TAZEKAND**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI**

**Bu tez 06/7/2012 Tarihinde Aşağıdaki Jüri Üyeleri Tarafından  
Oybirliği/Oyçokluğu İle Kabul Edilmiştir.**

.....  
Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU Doç. Dr. Hasan Basri İLA  
DANIŞMAN ÜYE ÜYE

Bu tez Enstitümüz Biyoteknoloji Anabilim Dalında hazırlanmıştır.

**Kod No:**

**Prof. Dr. M. Rifat ULUSOY**  
**Enstitü Müdürü**

**Bu Çalışma Ç.Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi Tarafından Desteklenmiştir. Proje No:  
FEF2012YL4**

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

## ÖZ

### YÜKSEK LİSANS TEZİ

#### REMERON (MIRTAZAPIN)'UN İNSAN PERİFERAL LENFOSİTLERİNDE IN VITRO GENOTOKSİK ETKİLERİ

Mostafa NOURIZADEH TAZEHKAND

ÇUKUROVA ÜNİVERSİTESİ  
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
BİYOTEKNOLOJİ ANABİLİM DALI

Danışman : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ  
Yıl: 2012, Sayfa: 80  
Jüri : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ  
Prof. Dr. Rüştü HATİPOĞLU  
Doç. Dr. Hasan Basri İLA

Bu çalışmada antidepresanlar gurubundan olan Remeron (Mirtazapin)' un genotoksik etkiye sahip olup olmadığı insan periferal kan lenfositlerinde *in vitro* kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom anormalliği (KA) ve mikronukleus (MN) testleri ile araştırılmıştır. Hücreler 24 ve 48 saat süre boyunca 10, 25, 40 ve 55µg/ml Remeron (Mirtazapin) ile muamele edilmiştir.

Remeron (Mirtazapin), insan periferal kan lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik muamele suresinde KKD'yi, KA'yı ve MN oluşumunu uyarmamıştır. Yani Remeron (Mirtazapin), yaptığımız testlerin sonucuna göre genotoksik değildir. Ayrıca kromozomlardaki yapısal kromozom aberasyonlarının hangi kromozomlarda olduğunu belirlemek amacıyla bazı metafaz plaklarında karyotip yapılmıştır. Fakat Remeron (Mirtazapin) 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde proliferasyon indeksinin (PI) konsantrasyona bağlı olarak düşmesine neden olmuştur. Ayrıca Remeron her iki muamele süresinde de MI ve NBI'nın düşmesine yol açmıştır. Bu sonuçlara göre Remeron 'un sitotoksik etkiye sahip olduğunu söyleyebiliriz.

**Anahtar Kelimeler:** Remeron (Mirtazapin), İnsan Periferal Kan Lenfosit, Kardeş Kromatid Değişimi (KKD), Kromozom Anormalliği (KA), Mikronukleus (MN)

## ABSTRACT

### MSc. THESIS

# **IN VITRO GENOTOXIC EFFECTS OF REMERON (MIRTAZAPIN) ON HUMAN PERIPHERAL LYMPHOCYTES**

**Mostafa NOURIZADEH TAZEHKAND**

**ÇUKUROVA UNIVERSITY  
INSTITUTE OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES  
DEPARTMENT OF BIOTECHNOLOGY**

Supervisor : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ  
Year: 2012, Pages: 80  
Jury : Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ  
Prof. Dr. Rüştü HATIPOĞLU  
Assoc. Prof. Dr. Hasan Basri İLA

The present research is aimed to study of genotoxic effects of antidepressant drug Remeron (Mirtazapin) on human peripheral blood lymphocytes by in vitro sister chromatid exchange (SCE), chromosomal abnormalities (CA) and micronucleus (MN) tests. The cells were treated with 10, 25, 40, and 55µg/ml Remeron for 24 and 48 hours.

Remeron did not induce the SCE, CA, and MN in human peripheral blood lymphocytes in 24-h and 48-h treatment periods, showing that Remeron (Mirtazapin) do not have any genotoxic effects on human peripheral blood lymphocytes. In addition, the karyotype analysis carried out in order to detect the chromosomes showing structural aberration. The result of the analysis showed that proliferation index of the 24 and 48 hours treated cells was decreased in a dose- dependent manner. In addition, exposing to the Remeron (Mirtazapin) for 24 and 48 hours caused to decrease MI and NDI in the cells. According to this study Remeron has cytotoxic effects on human's cells.

**Keywords:** Remeron (Mirtazapin), Human Peripheral Blood Lymphocytes, Sister Chromatid Exchange (SCE), Chromosome Aberration (CA), Micronucleus (MN)

## **TEŞEKKÜR**

Tez alıŐmamın baŐından sonuna kadar ilgi ve yardımını esirgemeyen, tecrube ve eŐsiz bilgilerinden yararlandığım sayın hocam Prof. Dr. Mehmet TOPAKTAŞ'a, laboratuvar çalışmalarında desteklerini esirgemeyen Doç. Dr. Hasan BASRİ İLA'ya, Araştırma Grevlisi Uzman Biyolog Erman SALİH İSTİFLİ'ye laboratuvarda çalıŐan arkadaşlarım, Uzman Biyolog Mehmet BÜYÜKLEYLA'ya, Biyolog Tuba CANITEZER'e, Biyolog Rima ÇELİK'e, Biyolog Taygun TİMOİN'e ve Biyolog Said SADİGH AZADI' ye teşekkür ederim.

Hayatımın her aŐamasında olduğu gibi eğitim sürecinde de yardım ve desteklerini esirgemeyen Anneme ve Babama sonsuz derecede teşekkür ederim.

Ayrıca yüksek lisans tez çalıŐmamı maddi yönden destekleyen .Ü. Bilimsel Araştırma Projeleri Birimi yöneticilerine teşekkür ederim (Proje No: FEF2012YL4).

## İÇİNDEKİLER

## SAYFA

ÖZ.....	I
ABSTRACT.....	II
TEŞEKKÜR.....	III
İÇİNDEKİLER.....	IV
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	VIII
ŞEKİLLER DİZİNİ.....	X
SİMGELER VE KISALTMALAR.....	XIV
1. GİRİŞ.....	1
2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR.....	5
2.1. Amitriptilin ile yapılan genotoksisite ve sitotoksisite çalışması.....	7
2.2. Desipramin ile yapılan genotoksisite çalışması.....	7
2.3. Duloksetin ile yapılan genotoksisite çalışması.....	8
2.4. Escitalopram ile yapılan genotoksisite ve sitotoksisite çalışması.....	8
2.5. Fenelzin ile yapılan genotoksisite çalışması.....	8
2.6. Fluoksetin ile yapılan genotoksisite, sitotoksisite ve kanserojenite çalışmaları.....	8
2.7. İmipramin ile yapılan genotoksisite, sitotoksisite ve kanserojenite çalışmaları.....	9
2.8. Klomipramin ile yapılan kanserojenite çalışması.....	11
2.9. Karbamazepin ile yapılan genotoksisite ve sitotoksisite çalışmaları.....	11
2.10. Mianserin ile yapılan genotoksisite çalışması.....	11
2.11. Methylphenidat ile yapılan genotoksisite çalışmaları.....	11
2.12. Norotilptirin ile yapılan kanserojenite çalışması.....	12
2.13. Paroksetin ile yapılan kanserojenite, sitotoksisite ve genotoksisite çalışmaları.....	12
2.14. Selejilin ile yapılan klastojenite ve sitotoksisite çalışması.....	13
2.15. Serotonin gerilim inhibitörü grubundaki antidepresanlar ile yapılmış olan kanserojenite çalışmaları.....	13
2.16. Sertalin ile yapılan klastojenite ve genotoksisite çalışmaları.....	14

2.17. Trisiklik antidepresanlar ile yapılan genotoksisite ve kanserojenite çalışmaları.....	14
2.18. Venlafaksin ile yapılan sitotoksisite çalışmaları.....	14
3. MATERYAL VE METOD.....	16
3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları.....	16
3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler.....	16
3.1.1.1. Remeron.....	16
3.1.1.2. Kromozom Medyumu.....	17
3.1.1.3. Kolşisin (Kolkisin) (Sigma).....	17
3.1.1.4. Hipotonik Eriyik.....	18
3.1.1.5. Sitokalsin D (Sigma).....	18
3.1.1.6. Fiksatif.....	19
3.1.1.7. 5'-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdUrd).....	19
3.1.1.8. Sorensen Tamponu (Sorensen Buffer).....	20
3.1.1.9. Standart Saline Citrate (SSC) Eriyiği.....	20
3.1.1.10. Giemsa.....	20
3.1.1.11. Entellan.....	21
3.1.1.12. Nitrik Asit (HNO <sub>3</sub> ).....	21
3.1.1.13. Mitomycin C (MMC) (Kyowa).....	21
3.1.2. Kullanılan Deney Ekipmanları.....	22
3.1.2.1. Hassas Terazî.....	22
3.1.2.2. Santrifüj.....	22
3.1.2.3. Mikroskop.....	22
3.1.2.4. İnkübatör.....	22
3.1.2.5. pH Metre.....	22
3.1.2.6. Su Banyosu.....	23
3.1.2.7. Flow Kabin (Steril Kabin).....	23
3.1.2.8. Karyotip mikroskoku.....	23
3.2. Lamların Temizlenmesi.....	23
3.3. Sterilizasyon.....	24
3.3.1. BrdUrd Eriğinin Sterilizasyonu.....	24

3.4. Kardeş Kromatid Değişimini (KKD) (Sister Chromatid Exchange =SCE) ve Kromozom Anormalliklerini (KA) (Chromosomal Aberration=CA) Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Test Maddesinin Kültüre İlave Edilmesi, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İncelemeler.....	24
3.4.1. Kromozom Aberasyonunu (KA) ve Kardeş Kromatid Değişimini (KKD) Saptamak İçin Hücre Kültürünün Yapılması ve Test Maddelerinin Kültüre İlave Edilmesi ve Preparatların Hazırlanması .....	24
3.4.2. Preparatların Boyanması.....	26
3.4.3. Mikroskopik İnceleme.....	26
3.4.3.1 KKD Sayısının ve Proliferasyon İndeksinin (PI) (Replikasyon İndeksi = RI) Saptanması.....	27
3.4.3.1. (1). KKD Sayısının Saptanması.....	27
3.4.3.1. (2). Proliferasyon İndeksinin (PI) (Replikasyon İndeksi = RI) Saptanması.....	27
3.4.3.2. Kromozomal Anormallikler (KA) ve Mitotik İndeksin (MI) Saptanması.....	32
3.4.3.2. (1). Kromozom Aberasyonunun (KA) Saptanması.....	32
3.4.3.2 (2). Mitotik İndeksin (MI) Saptanması.....	33
3.5. Mikronukleus (M.N) Oluşumunu Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Test Maddesinin Kültüre İlave Edilmesi, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İncelemeler.....	33
3.5.1. Mikronukleus (MN) Oluşumunu Saptamak Amacıyla Hücre kültürünün Yapılması, Test Maddesinin Kültüre İlave Edilmesi ve Preparatların Hazırlanması.....	33
3.5.2. Preparatların Boyanması.....	35
3.5.3. Mikroskopik İncelemeler.....	35
3.6. Mikroskopta Fotoğraf Çekme.....	38
3.7. İstatistik Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi.....	38

4. BULGULAR VE TARTIŞMA.....	39
4.1. Bulgular.....	39
4.1.1. Remeron (Mirtazapin) 'un Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkisi.....	42
4.1.2. Remeron (Mirtazapin) 'un, Kromozom Aberasyonu (KA)'nun Oluşumu Üzerindeki Etkisi.....	44
4.1.3. Kromozom Anormallikleri Farklı Kromozomlara Ait Olup Olmadığının Karyogram Yapılarak Araştırılması.....	50
4. 1. 4. Remeron (Mirtazapin)'un DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünmesi Üzerindeki Etkisi.....	55
4. 1. 5. Remeron (Mirtazapin)'un Mikronükleus (MN) Oluşumu ve Nükleus Bölünmesinde Etkisi.....	58
4. 2. Tartışma.....	62
4.2.1. Remeron (Mirtazapim)' un İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Kardeş Kromatid Değişimi Üzerindeki (KKD) Etkisi.....	62
4.2.2. Remeron (Mirtazapim)' un İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Kromozom Aberasyonu Oluşumu Üzerinde Etkileri.....	63
4.2.3. Remeron (Mirtazapin)' un Mikronükleus (MN) Oluşumunda Etkileri.....	64
4. 2. 4. Remeron (Mirtazapin)' un Hücre Proliferasyonu, Mitoz Bölünme ve Nükleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri.....	65
5. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	68
KAYNAKLAR.....	69
ÖZGEÇMİŞ.....	76

## ÇİZELGELER DİZİNİ

## SAYFA

Çizelge 4.1. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD (SCE) Sayısı.....	42
Çizelge 4.2. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) İle 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Kromozom Anormallik Çeşitleri, Anormal Hücre Oranı, KA/ Hücre.....	45
Çizelge 4.3. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI).....	56
Çizelge 4. 4. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 ve 48 Saat Muamele Yapılan İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Mikronukleuslu Binukler Hücre % si ve NBI.....	60



## ŞEKİLLER DİZİNİ

## SAYFA

Şekil 3.1. Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumun şematik olarak gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990).....	27
Şekil 3.2. Deoxytimidin (dT), Bromodeoxyuridin (BrdUrd) ve Deoxyuridin (dU)'in kimyasal yapıları.....	28
Şekil 3.3. BrdUrd'nin DNA yapısına girmesi ile 1., 2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin ayırt edilmesinin şematik olarak açıklanması.....	30
Şekil 3.4. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar.....	31
Şekil 3.5 İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar.....	31
Şekil 3.6. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar.....	32
Şekil 3.7. Bir nükleuslu hücre.....	36
Şekil 3.8. İki nükleuslu hücre.....	36
Şekil 3.9. Üç nükleuslu hücre.....	37
Şekil 3.10. Dört nükleuslu hücre.....	37
Şekil 4.1 A- Erkek ferde ait karyogram, B- Karyogramdaki kromozomların metafaz plağındaki durumu. X1000.....	40
Şekil 4.2. A- Dişi ferde ait karyogram, B- Karyogramdaki kromozomların metafaz plağındaki durumu.X1000.....	41
Şekil 4.3. 9 Kardeş kromatid değişiminin olduğu metafaz plağı (10µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀).X1000.....	43
Şekil 4.4. 32 kardeş kromatid değişimi bulunan metafaz plağı ( 0.15µg/ml MMC, 24 saatlik muamele, ♂). X1000.....	43
Şekil 4.5. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	46
Şekil 4.6. Kromozom kırığı (B'') bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	46
Şekil 4.7. Kromozom fragmenti (F) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.....	47

Şekil 4.8. Kromatid tipi fragment (F) (a) ve kromatid değişimi (KD) (b) bulunan metafaz plağı (20µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.....	47
Şekil 4.9. Kardeş kromatid birleşmesi bulunan (KKB= Sister Union) metafaz plağı (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	48
Şekil 4.10. Endoreduplikasyonlu kromozomlara sahip metafaz plağı (10 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.....	48
Şekil 4.11. Poliploid hücre kromozomları (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♂). X1000.....	49
Şekil 4.12. Kontraksiyonlu kromozomlara sahip metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♀). X1000.....	49
Şekil 4.13. A- 6. kromozomun birinde kromatid kırığı, B- A' daki karyogramın metafaz plağı (40µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♂). X1000.....	51
Şekil 4. 14. A- 5. kromozomun birinde kromatid kırığı (B'), B- A' daki karyogramın metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♀). X1000.....	52
Şekil 4. 15. A- 4. Kromozomun birinde kromatid kırığı (B'), B- A' daki karyogramın metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♀). X1000.....	53
Şekil 4. 16. A- Birinci kromozomun birinde kardeş kromatid birleşmesi (KKB), B- A' daki karyogramın metafaz plağı (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....	54
Şekil 4.17. Farklı konsantrasyonlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde PI'nin konsantrasyona bağlı düştüğünü gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı .....	57
Şekil 4.18. Farklı konsantrasyonlarda Remeron (Mirtazapin) ile 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde PI'nin konsantrasyona bağlı düştüğünü gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....	57

- Şekil 4.19. Farklı konsantrasyonlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde MI'nin konsantrasyona bağlı düştüğünü gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı.....58
- Şekil 4.20. Bir mikronukleus içeren iki nukleuslu hücre (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.....61
- Şekil 4. 21. İki mikronukleus içeren iki nukleuslu hücre (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.....61



## SİMGELER VE KISALTMALAR

- 5-HT : 5-hidroksitriptamin, serotonin  
AH : Anormal Hücre  
B' : Kromatid Kırığı  
B'' : Kromozom Kırığı  
BrdUrd : 5'-Bromo-2'-Deoxyuridine  
CA : Chromosome Aberration  
cAMP : Siklik Adenozin Monofosfat  
CE : Chromatid Exchange  
CRE : Camp/Ca<sup>+2</sup> responsive element  
Cyt-D : Cytochalsin-D  
DNA : Deoksiribonukleik Asit  
DS : Disentrik Kromozom  
DSM IV: Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition  
dT : Deoksitimidin  
dU : Deoxyuridine  
F : Fragment  
HNO<sub>3</sub> : Nitrik asit  
ISCN : International System for Human Cytogenetic Nomenclature (Uluslararası İnsan Sitogenetik Adlandırma Sistemi)  
KA : Kromozom Anormalliği (Kromozom Aberasyonu)  
KCl : Potasyum klorür  
KD : Kromatid Değişimi  
KKB : Kardeş Kromatid Bileşimi  
KKD : Kardeş Kromatid Değişimi  
MAO-A : Monoamin Oksidaz tip-A  
MAOI : Monoamin Oksidaz İnhibitörü  
MI : Mitotik indeks  
MMC : Mitomycin C  
MN : Mikronükleus

MNBC : Micronucleated binucleated cell (Mikronukleuslu Binuklear hücre)  
MNNE : Mikronukleuslu normokromatik eritrosit  
MNPE : Mikronukleuslu polikromatik eritrosit  
NaCl : Sodyum klorür  
NaSSA : Noradrenerjik ( $\alpha$ 2 antagonizması yoluyla) ve Serotonerjik Antidepresanlar  
  
NBI : Nukleus Bölünme İndeksi  
NDGI : Noradrenalin ve Dopamin Geri Alım İnhibitörleri  
NRI : Seçici Noradrenerjik Geri Alım İnhibitörleri  
  
P : Poliploidi  
PI : Proliferasyon İndeksi  
PK : Pozitif Kontrol  
r : Korelasyon katsayısı  
RI : Replikasyon İndeksi  
rpm : Revolution Per Minute (devir/dakika)  
SAGI : Serotonin 2A Antagonistleri/ Serotonin Geri Alım inhibitörleri  
SCD : Sister Chromatid Differentiation (Kardeş Kromatid Farklılığı)  
SCE : Sister Chromatid Exchange (Kardeş Kromatid Değişimi)  
SNRI : Serotonin ve Noradrenalin Geri Alım İnhibitörleri  
  
SSC : Standart Saline Citrate  
SSRI : Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri  
  
T : Translokasyon  
TSA : Trisiklik Antidepresan  
UV : Ultraviyole

## 1. GİRİŞ

Günümüzde psikiyatrik sorunlar dikkat çekecek ölçüde artmıştır. Bu hem bireysel hem de toplumsal boyutta, önemli bir halk sağlığı problemi haline gelmiştir. Psikiyatrik bozukluklardan en sık görüleni depresyondur. Sözlük anlamıyla çökkünlük olarak Türkçe'ye çevirebileceğimiz depresyon, anlık bir ruh hali, bir sendrom veya bir hastalık olarak karşımıza çıkabilir. Yukarıda da belirtildiği gibi depresyon, sık görülen, klinik gidişi sırasında tekrarlayan ve yaşam kalitesinde azalmaya yol açan bir bozukluktur. 11242 hastanın yer aldığı geniş çaplı izleme çalışmasında, depresyonun kişinin yaşamında yol açtığı bozulma açısından; yüksek tansiyon, şeker hastalığı, damar hastalıkları, akciğer hastalıkları, mide ve barsak sistem hastalıklarında ortaya çıkan bozulmadan daha fazla ve kalp hastalıklarıyla da aynı düzeyde olduğu bildirilmiştir (Wells ve ark. 1989).

İnsanların yaklaşık %20' sinin, hayatlarının herhangi bir döneminde depresyon geçirdiği saptanmıştır. Depresyon bozuklukları, hastalarının kendine özgü psikolojik ve somatik belirtilerinden ötürü kişiyi yaşam sevincinden uzaklaştıran, son derece mutsuz, huzursuz ve verimsiz hale getiren, sosyal yaşamı olumsuz etkileyen ruhsal bozukluklardır. Her iki bozukluğun bir arada bulunması, klinik tabloyu bir o kadar daha güçleştirmektedir (Taneli ve ark. 2001).

Çağımızın bir hastalığı olarak kabul edilebilecek depresyon hastalığının tedavisin de antidepresan denilen ilaçlar kullanılmaktadır.

Türkiye'de de bu konu ile ilgili yapılmış araştırmalar vardır. Türkiye' deki epidemiyolojik (hastalığın yaygınlığını) çalışmalarını gözden geçiren bir çalışmanın sonuçlarına göre toplum içinde klinik düzeyde depresyon sıklığı %10 dolayındadır (Kırlı ve ark. 1997).

IMS-Türkiye (International Medicine Statistics) verilerine göre Türkiye' de 2003 yılında 14 milyon 138 bin kutu antidepresan tüketilirken, bu rakam 2006 yılı verilerine göre 22 milyon 651 bine, 2007 yılında ise 26 milyon 246 bine ve 2010 yılında 35 milyon kutuya yükseldiği bildirilmiştir. Türk Eczacılar Birliği'nin rakamlarına göre 2007'de 26 milyon 246 bin kutu antidepresan tüketilirken, son üç yıldaki yüzde 33,3'lük artış uzmanları endişelendirmektedir. Ağrı kesici ve

antibiyotikten sonra Türkiye 'de en çok antidepresan kullanılmakta ve antidepresanlar reçetesiz de alınabildiği için hekimlerin dışında çevrenin önerileri sonucunda da kullanılabilir. Bu da antidepresanların kontrolsüz kullanımını artırmaktadır (<http://www.yeniaktuel.com.tr>, 2012).

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan remeron da uyku bozuklukları ve depresyon tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Yan etki olarak iştah açma, kilo alma gibi etkiler göstermektedir. Asıl etken maddesi Mirtazapin olup, tablet ve sıvı formu olarak satılmaktadır. Mirtazapin genelde uyku bozukluklarında kullanılsa da temel olarak kullanıldığı hastalık majör depresyondur (<http://tr.wikipedia.org/wiki/Remeron>, 2011).

Kromozomlarda meydana gelen mutasyonlar ve kromozomların genetik değişimi, insanlarda genetik hastalıklarına sebep olur. Somatik hücrelerin onkogen veya tümör süpressör genlerinde değişmelerin nedeni kromozomlardaki mutasyonlar ve ilgili olayların insanlarda ve deney hayvanlarında kanserin uyarılmasında rol oynadığına dair çok sayıda kanıt bulunmuştur (OECD TG 473. 1997).

Bugün kısa süreli genotoksisite testleri, bir kimyasal maddelerin insan genomunda mutasyonlara sebep olup olmadığını belirlemede önemli yer tutmaktadır. Bir kimyasal maddenin genotoksik ve sitotoksik etkisinin olup olmadığını belirlemesi, kısa süreli genotoksisite testleri ile mümkün olabilmektedir. Bu metodlar; kardeş kromatid değişimi (KKD) (Sister Chromatid Exchange=SCE) (Tucker ve ark., 1993), kromozom aberasyonu (KA) (Chromosome Aberration=CA) (Carrano ve ark., 1978) ve mikronükleus (MN) (Fenech, 2002) testleridir.

Mutajen ve kanserojenlerin genotoksik risklerini belirlemede kullanılan yöntemlerden biri, periferik kan lenfositlerindeki kromozom anormalliği (KA) frekansının değerlendirilmesidir (Carrano ve Natarajan, 1988). Kromozom anormallikleri DNA düzeyindeki hasarın bir sonucu olarak ortaya çıkmaktadır. Örneğin, kromozom kırıkları DNA'daki onarılmamış çift zincir kırıklarından ve yeni yapıya sahip kromozomların meydana gelmesi de, DNA zincirindeki kırıkların yanlış onarılmasından dolayı olabilir (Savage, 1993). KA oluşum mekanizmasının farklı dokularda benzer olmasından dolayı, lenfositlerdeki anormallik seviyesinin,

kansere eğilimli dokulardaki anormallik seviyesini gösterdiği ve böylece kanserin riskini de göstergesi olduğu düşünülmektedir (Albertini ve ark., 2000). Yüksek KA miktarı (gap hariç), KA artışını başlatan sebebe bakmaksızın yüksek kanser riski olduğunu önceden gösterebilir. Hem kromatid tipi kırığı ve hem kromozom tipi kırıklar kanser riskinin göstergesidir. Fakat kromozom tipi kırıkların kromatid tipi kırıklara göre daha iyi bir belirleyici olduğuna dair kanıtlar vardır (Norppa ve ark. 2006; Boffetta ve ark. 2006).

Antidepresanlar ile yapılan bir çok genotoksisite ve sitotoksisite çalışmaları vardır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçların bazıları şunlardır. Fu ve ark. (1978) , İmipramin ile tedavi olan hastalarda bu ilacın genotoksik ve sitotoksik olup olmadığını kromozom aberasyonu (KA) yöntemi ile araştırmışlardır. Sonuçta İmipramin 'in hücre proliferasyonunu düşürdüğü, fakat kromozom aberasyonunu arttırmadığı saptanmıştır. Parkinson hastalığı ve depresyon tedavisinde kullanılan Selejinin hidroklorit ile yapılan *in vivo* bir çalışmada sıçan kemik iliğinde MN testi ile bu ilacın klastojenite ve sitotoksisite potansiyeli Subramanya ve ark. (1993) tarafından araştırılmış ve sonuçlar bu ilacın test edilen dozlarda mikronukleus oluşumunu uyardığını ve sitotoksik olmadığını göstermiştir. Hanna ve ark. (2002), Escitalopram (Cipralext) ilacının genotoksisite ve sitotoksisitesini sıçanlarda KA ve MN yöntem ile araştırmışlardır ve Escitalopram (Cipralext)'ın genotoksik olmadığını fakat doza bağlı olarak önemli derecede sitotoksik etki gösterdiğini bulmuşlardır. Dündaröz ve ark. (1999), Fluoksetin kullanan bayan hastaların periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD) yöntemi ile genotoksik riski araştırmışlar ve uzun süre Fluoksetin kullanan bayanlarda KKD sıklığının Fluoksetin kullanmayan bayanlara nazaran anlamlı derecede arttığını saptanmışlardır. Paniagua-Pérez ve ark. (2002), Desipramin'in genotoksisitesini *in vivo* olarak fare kemik iliğinde KKD yöntemi ile araştırmışlar ve sonuçta Desipramin'in doza bağlı olarak mitotik indeksi düşürdüğü ve KKD'yi kontrole nazaran 4 kat artırdığını ve bu ilacın genotoksik olduğunu belirlemişlerdir. Çelik (2006), Karbamazepin'in genotoksisitesini *in vitro* olarak insan periferik lenfositlerinde MN testi ile araştırmıştır. Sonuç olarak genotoksik olduğunu ve doza bağlı olarak MN' yi arttırdığını ve konsantrasyonun artması ile proliferasyon indeksinin azaldığını

saptamıştır. Görüldüğü gibi antidepresanlarla yapılan genotoksisite ve sitotoksisite çalışmalarında bazılarının genotoksik olduğu, bazılarının olmadığı, bazılarının sitotoksik etki gösterdiği, bazılarının göstermediği saptanmıştır.

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan Remeron majör depresyona karşı kullanılan bir antidepresandır. Bugüne kadar da Remeron'un (Mirtazapin) genotoksik etkiye sahip olup olmadığını araştıran bir çalışmaya rastlanmamıştır. İşte bu çalışma, Remeron (Mirtazapin)'un, insan periferik lenfositlerinde genotoksik etkiye sahip olup olmadığını *in vitro* kardeş kromatid değişimi (KKD), kromozom aberasyonu (KA) ve mikronukleus (MN) testleri ile saptamak amacıyla yürütülmüştür.

## 2. ÖNCEKİ ÇALIŞMALAR

Hayatta herkes zaman zaman depresyon geçirebilir. Depresyonun çeşitli tipleri vardır. DSM IV'e (Diagnostic and Statistical Manual of Mental Disorders, Fourth Edition) göre tüm depresyonlar şu alt gruplar içerisinde değerlendirilmiştir (Mert-Savrun,1999).

1. Majör depresif bozukluk
2. Distimik bozukluk
3. Bipolar bozukluktaki depresyon
4. Genel bir tıbbi duruma bağlı depresyon
5. Depresyonlu uyum bozukluğu
6. Başka türlü adlandırılmayan depresif bozukluk.

1960 'lı yıllarda majör depresyonun tedavisinde antidepresanlar (trisiklik antidepresanlar: TSA) ilk seçenek olarak kullanılmaya başlanmıştır (Taneli ve ark. 2001). Bu durum, ilaçların sınıflandırılmasına da yansımıştır. 1970 'li yıllar boyunca ve 1980 'li yılların başlarında depresyon için bazı 'TSA' lar ile monoamin oksidaz inhibitörleri (MAOI), panik bozukluğun tedavisinde de özellikle TSA 'lardan klomipramin kullanılmaya başlandı. Bu dönemde, antidepresanlar (TSA ve MAO) ile anksiyolitikler (benzodiazepinler ve buspiron) gerek majör depresif bozukluklarda ve gerekse anksiyete bozukluklarında (aşırı endişe duyma) giderek artarak kullanılmaya başlanmıştır (Taneli ve ark., 2001).

Antidepresan ilaçlar enzim ya da reseptör inhibitörleri ve geri alım engelleyicileri olarak etkilerini gösterirler. Antidepresanlar etki tarzlarına göre 8 gruba ayrılırlar (Örsel, 2004). Bunlar:

1. **Monoamin Oksidaz İnhibitörleri (MAOI):** MAOI (Isocarboxazid, pfenelzine, selegiline) İlk olarak geliştirilen antidepresanlar olup monoamin oksidaz A ve B enzimlerini geri dönüşümsüz olarak inhibe ederler. Diyetle

alınan aminlerin kan basıncında tehlikeli yükselmelere neden olması sebebiyle kullanımı sınırlı olmuştur.

2. **Trisiklik Antidepresanlar (TSA):** Trisiklik antidepresanlar (opipramol, klomipramin, imipramin, amitriptilin, maprotilin) serotonin ve noradrenalin geri alım pompalarını, çok az olarak da dopamin geri alım pompalarını inhibe ederek etki gösterir.
3. **Seçici Serotonin Geri Alım İnhibitörleri (SSRI):** Nörondaki serotonin taşıyıcı pompayı seçici olarak inhibe ederler. Bu grupta sertralın, fluoksetin, paroksetin, fluvoksamin, sitalopram yer almaktadır (<http://en.wikipedia.org/wiki/Antidepressant>, 2011).
4. **Seçici Noradrenerjik Geri Alım İnhibitörleri (NRI):** Noradrenalinin salınımını inhibe ederler. Reboksetin bu grupta Türkiyede pazarlanan tek ilaçtır. Etkinlik açısından diğer antidepresanlarla benzerdir.
5. **Noradrenalin ve Dopamin Geri Alım İnhibitörleri (NDGI):** Noradrenalin ve Dopaminin salınımını inhibe ederler. Bupropion bu grubun tek örneğidir (<http://en.Wikipedia.org/wiki/Antidepressant,2011>).
6. **Serotonin ve Noradrenalin Geri Alım İnhibitörleri (SNRI):** İkili serotonerjik ve noradrenerjik geri alım inhibitörleri olarak adlandırılan bu sınıf, benzer klinik etki profili olan TSA'lardan farklı olarak diğer reseptör sistemlerini etkilememektedirler. Dolayısıyla yan etkileri daha azdır. Bu sınıfta venlafaksin, milnasipran yer almaktadır.
7. **Noradrenerjik ( $\alpha 2$  antagonizması yoluyla) ve Serotonerjik Antidepresanlar (NaSSA):** Diğer antidepresanlardan farkları, serotonin ve noradrenalin düzeylerini monoaminleri veya monoamin geri alım pompalarını inhibe etmeden arttırmalarıdır. Bu sınıfta olan mirtazapinin, antidepresan özelliklerine ek olarak serotonin 2c ve H1 antihistaminerjik özellikleri anksiyolitik (aşırı endişe durumu) ve sedatif-hipnotik (rahatlatıcı-uyuşturucu) etkilerini açıklayabilir. Mianserin de mirtazapin gibi  $\alpha 2$  antagonistidir.
8. **Serotonin 2A Antagonistleri/ Serotonin Geri Alım İnhibitörleri (SGAI):** Bu grup hem serotonin 2A reseptörlerini hem de serotonin gerilimini inhibe

eder. Nefazodon ve trazodon belirgin olarak bu ikili özellikleri taşımaktadır (Örsel, 2004).

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan Remeron (Mirtazapin) majör depresyon tedavisinde kullanılır ve bu sınıflandırmaya göre 7. grupta yer almaktadır.

Antidepresanlar ile bir çok genotoksisite, sitotoksisite ve kanserojenite çalışmaları yapılmıştır. Bu çalışmalardan pozitif ve negatif sonuçlar ortaya çıkmıştır. Bu çalışmalardan elde edilen sonuçlar şu şekilde özetlenebilir.

### **2.1. Amitriptilin ile yapılan genotoksisite, sitotoksisite ve kanserojenite çalışması**

Saxena ve Ahuja (1988), TSA antidepresanlar grubundan olan Amitriptilin' in sitotoksisitesi ve genotoksisitesini *in vitro* olarak insan periferik kan lenfositlerinde araştırmışlardır. Bu çalışmada 50, 250, 1,000, ve 10,000 ng/ml konsantrasyonlarındaki Amitriptilin ile hücreler 24 ve 48 saat muamele edilmiştir ve sonuçta Amitriptilin' in genotoksik olmadığı açıklanmış, fakat kromozom aberasyonu (KA) ve kardeş kromatid değişim (KKD) frekansının yüksek dozlarda arttığı belirlenmiştir. Mitotik indeks ise herhangi bir konsantrasyonda değişim göstermemiştir.

Lawlor ve ark. (2003), bir çalışmada antidepresanların meme kanseri riskini arttırıp arttırmadığını 31 ilaç firmasının veri bankasını taramışlar ve Amitriptilin'in kanser riskini arttırmadığını açıklamışlar, fakat bu verilerin yetersiz olduğunu belirtmişlerdir.

### **2.2. Desipramin ile yapılan genotoksisite çalışması**

Paniagua-Perez ve ark. (2002), TSA antidepresanlar grubundan olan Desipramin'in genotoksisitesini *in vivo* olarak fare kemik iliğinde KKD yöntemi ile araştırmışlar ve sonuçta Desipramin'in doza bağlı olarak mitotik indeksi düşürdüğü

ve KKD'yi kontrole nazaran 4 kat artırdığını ve bu ilacın genotoksik olduğunu belirlemişlerdir.

### **2.3. Duloksetin ile yapılan genotoksisite çalışması**

Pereira ve ark. (2009), Duloksetin'in genotoksik olup olmadığını beyin dokusundaki ve kandaki DNA hasarlarını comet testi ile araştırmışlardır. Sonuçta Duloksetin' nin genotoksik olmadığı ortaya konmuştur.

### **2.4. Escitalopram ile yapılan genotoksisite ve sitotoksisite çalışması**

Hanna ve ark. (2002), serotonin geri alım inhibitörü olarak majör depresif bozukluklarda kullanılan Escitalopram (cipralext) ilacının genotoksisite ve sitotoksisitesini sıçanlarda KA ve MN yöntem ile araştırmışlardır ve Escitalopram (Cipralext)'ın genotoksik olmadığını fakat doza bağılı olarak önemli derecede sitotoksik etki gösterdiğini bulmuşlardır.

### **2.5. Fenelzin ile yapılan genotoksisite çalışması**

Brambilla ve ark. (1982), 5 hidrazin antidepresanlardan Fenelzin' in genotoksisitesini *in vivo* olarak farelerde KKD ve alkalın elüsyon testleri ile araştırmışlardır. Bu deneyde Fenelzin, intraperitoneal (karın zarına) yolu ile farelere verilmiş, sonuçta farenin karaciğer ve akciğer hücre'sinde DNA kırılmasını ve farenin kemik iliğı hücrelerinde KKD oluşumunu uyardığını gözlemişlerdir.

### **2.6. Fluoksetin ile yapılan genotoksisite, sitotoksisite ve kanserojenite çalışmaları**

Tutton ve Barka (1982), serotonin geri alım inhibitörü olarak kullanılan Fluoksetin' in hücre proliferasyonu ve tümör gelişimi üzerine etkisini sıçanlarda araştırmışlar ve sonuç olarak kolon tümöründe hücre bölünmesini baskıladığı ve insan kolon tümörünün gelişimini 3'te 2 oranında yavaşlattığını saptamışlardır.

Bendele ve ark. (1992), Fluoksetin hidroklorid' in kanserojenik etkiye sahip olup olmadığını *in vivo* bir çalışmada sıçanlarda araştırmışlardır. Sonuçta Fluoksetin' in tümör ve neoplazma oluşumunda bir etkisi olmadığı belirlenmiştir.

Abdul ve ark. (1995), Fluoksetin' in prostat kanseri hücreleri üzerindeki etkilerini araştırmışlar ve sonuçta Fluoksetin konsantrasyona bağlı olarak, prostat kanser hücrelerinin proliferasyonunu engellediğini bulmuşlardır.

Dündaröz ve ark. (1999), Fluoksetin kullanan bayan hastaların periferik lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD) yöntem ile genotoksik riski araştırmışlar ve uzun süre Fluoksetin kullanan bayanlarda KKD sıklığı Fluoksetin kullanmayan bayanlara nazaran anlamlı derecede arttığını saptanmışlardır.

Belowski ve ark. (2004), Fluoksetin' in sitotoksik etkisini sıçanların makrofajlarında *in vivo* ve *in vitro* testlerle araştırmışlardır. *In vivo* yapılan çalışmada, araştırmacılar Fluoksetin' in makrofajlarda sitotoksik etki gösterdiğini saptamışlardır. Aynı zamanda Fluoksetin alındıktan dört gün sonra makrofajlarda sitotoksik etkisinin azaldığı gözlenmiştir. 56 gün sonra ise herhangi bir sitotoksik etkinin olmadığı belirlenmiştir. *In vitro* çalışmalarda makrofajlarda Fluoksetin' in sitotoksik etkisinin olmadığı gözlenmiştir. Sonuç olarak bu ilaç, muamele süresine ve doz miktarına bağlı olarak makrofajlarda sitotoksik etki göstermiştir.

Arimochi ve Morita (2006), TSA'ların sitotoksik etkisini insan HT29 kolon karsinoma hücrelerinde *in vitro* şartlarda araştırmışlar ve bu antidepresanın muamele süresine bağlı olarak hücre canlılığının düşmesine neden olduğunu gözlemişlerdir. Bu sonuçlardan dolayı araştırmacılar, TSA'nın sitotoksik olduğunu ve hücre döngüsü ilerlemesini durdurarak insan HT29 kolon karsinoma hücrelerinde oksidatif olmayan apoptik ölümü uyardığını açıklanmıştır.

## **2.7. İmipramin ile yapılan genotoksisite, sitotoksisite ve kanserojenite çalışmaları**

Fu ve ark. (1978) , TSA grubundan olan İmipramin ile tedavi olan hastalarda bu ilacın genotoksik ve sitotoksik olup olmadığını kromozom aberasyonu (KA)

yöntemi ile araştırmışlardır. Sonuçta İmipramin 'in hücre proliferasyonunu düşürdüğü, fakat kromozom aberasyonunu arttırmadığı saptanmıştır.

Sauter (1987), İmipramin'in sitotoksik olup olmadığını renal (böbrek) kanser hücrelerinde araştırmış ve sonuçta İmipramin' in renal kanser hücrelerinde bölünmeyi durdurduğunu saptamıştır.

Saxena ve Ahuja (1988), İmipramin' in insan periferik lenfositlerinde genotoksik ve sitotoksik olup olmadığını *in vitro* bir çalışmada KA ve KKD testleri ile 25, 500, ve 5,000 ng/ml dozlarında 24 ve 48 saatlik muamelelerde araştırmışlardır. Sonuçta bu ilacın mitoz bölünme üzerinde etkisiz olduğu, fakat yüksek dozlarda kromozom aberasyonu ve kardeş kromatid değişimi (KKD) frekansını arttığını saptamışlardır.

Slamon ve ark. (2001) sıçan C6 glioma hücre (sinir sistemi destek doku hücrelerinde gelişen tümör) kültüründe İmipramin' in DNA üzerinde etkisini comet testi ile araştırmışlar ve sonuçta İmipramin' in konsantrasyonunun artmasına bağlı olarak C6 hücrelerinde DNA hasarlarının arttığını belirlemişlerdir.

Paniagua-Perez ve ark. (2002), İmipramin' in genotoksik etkisini *in vivo* olarak fare kemik iliğinde KKD testi ile araştırmışlar ve bu araştırmanın sonucunda İmipramin' in ikinci dozdan itibaren (20 ve 60mg/kg) KKD'yi uyardığını bulmuşlardır.

Dündaröz ve ark. (1999), İmipramin ile tedavi olan istemsiz idrar kaçıran hastalarda İmipramin' in genotoksitesini comet yöntem ile araştırmışlardır. Bu araştırmanın sonucunda İmipramin' in DNA' da kırıklara yol açtığı saptanmıştır.

Madrigal ve ark. (2008), İmipramin'in mikronukleus oluşumunda etkisinin olup olmadığını farelerde araştırmışlar ve sonuç olarak bu antidepresan'ın mikronukleuslu polikromatik eritrosit (MNPE) ve mikronukleuslu normokromatik eritrosit (MNNE) oluşumunu arttırdığını bulmuşlardır.

Madrigal ve ark. (2010), farede İmipramin'in genotoksik etkisini kromozom aberasyon (KA) testi ile araştırmışlar ve bu ilacın genotoksik olduğu belirlenmiştir.

### 2.8. Klomipramin ile yapılan kanserojenite çalışması

Sauter (1987), trisiklik antidepresanlar gurubunda olan Klomipramin' in sitotoksitesini renal (böbrek) kanser hücrelerinde araştırmışlar ve Klomipamin'in renal kanser hücrelerin' in gelişimini inhibe ettiğini belirlemişlerdir.

### 2.9. Karbamazepin ile yapılan genotoksisite ve sitotoksisite çalışmaları

Sarıkaya ve Yüksel (2008) Karbamazepin'in etkisini *Drosophila*' da kanat nokta mutasyon testi ile araştırmışlar ve kanatlarda oluşan mutasyonların görülmesi ile Karbamazepin'in genotoksik olduğu ve *Drosophila melanogaster* larvalarında da toksik bir etki gösterdiğini belirlemişlerdir.

Çelik (2006), Karbamazepin'in genotoksitesini *in vitro* olarak insan periferel lenfositlerinde MN testi ile araştırmıştır. Sonuç olarak sadece en düşük dozda (6 µg/mL) genotoksik olmadığını ve diğer dozlarda genotoksik olduğunu ve doza bağlı olarak MN' yi arttırdığını ve konsantrasyonun artması ile proliferasyon indeksinin azaldığını saptamıştır.

### 2.10. Mianserin ile yapılan genotoksisite çalışması

Schwaninger ve ark. (1995), NaSSA grubundan olan Mianserin'in membran depolarzasyonu ile stimule edilen CRE-bağlantılı (camp/Ca<sup>2+</sup>+cevaplayıcı eleman) gen transkripsiyonu -nu engellediğini bulmuşlardır.

### 2.11. Methylphenidat ile yapılan genotoksisite çalışmaları

Suter ve ark. (2005), antidepresanlar gurubunda olan Methylphenidat' in genotoksik ve sitotoksik etkiye sahip olup olmadığını *in vivo* ve *in vitro* bir çalışmada araştırmışlardır. Bu çalışmada *in vitro* olarak Methylphenidat' in etkisi insan periferel lenfositlerinde KA testi ile araştırılmış ve sonuçta bu ilacın KA' yi arttırmadığı gözlenmiştir. Ayrıca aynı araştırmacılar Methylphenidat' in genotoksik

etkisini sıçan kemik iliğinde araştırmışlar ve sonuç olarak bu ilacın MN'yi arttırmadığını saptamışlardır.

Ponsa ve ark. (2009), hiperaktif hastalarda Methylphenidat' ın KKD, MN ve KA yöntem ile genotoksik ve sitotoksik etkisini araştırmışlardır. 12 çocuk ve 7 yetişkin hiperaktif hasta üzerinde yapılan bu araştırmada , Methylphenidat ile tedavi olmadan önce (kontrol olarak) ve tedavi sonrasındaki (üç ay boyunca) KA, KKD ve MN sayıları saptanmıştır. Sonuç olarak methylphenidat'ın KA, KKD ve MN sayısını arttırmadığı belirlenmiştir.

### **2.12. Norotilipirin ile yapılan kanserojenite çalışması**

Steingart ve Cottarechio (1995), antidepresanlar ile kanserin bağlantısı veya antidepresanların neoplastik gelişim üzerine olan etkisini insanlar ve deney hayvanları üzerinde araştırmışlar ve Nortilipirin'in meme kanseri riskini arttığını gözlemişlerdir.

### **2.13. Paroksetin ile yapılan kanserojenite, sitotoksisite ve genotoksisite çalışmaları**

Rosetti ve ark. (2006) Paroksetin 'in kanser hücreleri üzerindeki sitotoksisitesini araştırmışlardır. Bu çalışma, Paroksetin'in çeşitli kemirici ve insan kanser hücre kültürlerinin büyümesini engelleme yeteneklerini belirlemek için yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda Paroksetin'in kemirici ve insan orijinli tümör hücrelerinde sitotoksik olduğu ortaya çıkmıştır.

Spanova ve ark. (1997), sıçan glioblastoma (sinir destek hücresi kanseri) ve insan nöroblastoma (sinir kök hücre kanseri) hücrelerinde Paroksetin' in apoptozisi uyardığını saptamışlardır.

Green (2003), Paroksetin ilacı ile yaptığı çalışmada, Paroksetin' in genotoksik olup olmadığını *in vivo* olarak fare kemik iliğinde ve *in vitro* olarak da insan periferik lenfositlerinde kromozom aberasyonu yöntem ile araştırmış ve bu araştırmanın sonucunda Paroksetin'in genotoksik olmadığını tespit etmiştir.

Chou ve ark. (2008), Paroksetin'in sitotoksik etkisini insan osteosarkoma (kemik kanseri) hücrelerinde araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda Paroksetin, konsantrasyon ve zamana bağlı olarak hücrenin yaşam süresini azaltmıştır. Paroksetin'in, apoptoza neden olup olmadığı propidium iodid boyama metoduyla araştırılmış ve çalışma sonucunda Paroksetin'in apoptoza neden olduğu ve kaspaz-3 aktivitesini artırdığı gözlenmiştir.

#### **2.14. Selejilin ile yapılan klastojenite ve sitotoksisite çalışması**

MOAI grubundan olan, Parkinson hastalığı ve depresyon tedavisinde kullanılan Selejilin hidroklorit ile yapılan *in vivo* bir çalışmada sıçan kemik iliğinde MN testi ile bu ilacın klastojenite ve sitotoksisite potansiyeli Subramanya ve ark. (1993) tarafından araştırılmış ve sonuçlar bu ilacın test edilen dozlarda mikronukleus oluşumunu uyarmadığını ve sitotoksik olmadığını göstermiştir.

#### **2.15. Serotonin gerilim inhibitörü grubundaki antidepresanlar ile yapılmış olan kanserojinite çalışmaları**

Moorman ve ark. (2003), 36 aydan fazla serotonin gerilim inhibitörü grubundaki antidepresanları kullanan hastalarda, antidepresanların kullanması ile meme kanseri oluşumu arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışmanın sonucunda bu gruptaki antidepresan kullanımı ile meme kanseri oluşumu arasında bir ilişki bulunamamıştır.

Fulton-Kehoe ve ark. (2006), seçici serotonin gerilim inhibitörü grubundan olan antidepresanları kullanan hastalarda antidepresan kullanımı ile meme kanseri oluşması arasında ilişki olup olmadığını araştırmışlar ve sonuç olarak seçici serotonin gerilim inhibitörü kullanan hastalarda meme kanseri riskinin olmadığını açıklamışlardır.

### 2.16. Sertalin ile yapılan genotoksisite çalışmaları

Seçici serotonin geri alım inhibitörü grubundan olan antidepresanlardan biri Sertralin' dir. Davies ve Kluwe (1998), *in vivo* bir çalışmada Sertralin' in farelerin üremesinde bir etkiye sahip olup olmadığını araştırmışlar ve bu çalışmanın sonucunda yeni doğan yavruların sayısı ve yavruların büyüme hızlarının azaldığı ortaya çıkmıştır.

Bozkurt ve ark. (2004), Sertralin'in genotoksisitesini araştırmışlardır. Bu çalışmada majör depresyon hastaların (10 ay boyunca Sertralin kullanan hastalar) ve sağlıklı insanların (Sertralin kullanmayanlar) KKD sayısı saptanmıştır. Sonuçta bu iki grubun KKD sayıları arasında anlamlı bir farkın olduğu açıklanmıştır. Kromozom aberasyonu (KA) frekansı bakımından ise istatistiksel farklar olmadığı saptanmıştır.

### 2.17. Trisiklik antidepresanlar ile yapılan genotoksisite ve kanserojenite çalışmaları

Tamim ve ark. (2006), son yirmi yıldaki Trisiklik Antidepresan grubundan olan ilaçları kullanan bayanlarda meme kanseri riskini araştırmışlar ve bu hastalarda meme kanseri oluşumunda risk artışının olmadığını tespit etmişlerdir.

Van Schaik ve Graf (1991) beş trisiklik antidepresan (Klomipramin, İmipramin, Lofepamin, Miyanserin ve Protriptilin)' in *Drosophila melanogaster*' de rekombinasyonu ve somatik kanat mutasyonu testleri ile genotoksisitesini araştırmışlardır. Sonuç olarak Protriptilin' in genotoksik bir etkiye sahip olmadığı ama lofepramin ve miyanserin' in yüksek dozda (100 mM) genotoksik etkiye sahip olduğu belirlenmiştir.

### 2.18. Venlafaksin ile yapılan sitotoksisite çalışmaları

Rosetti ve ark. (2006), Serotonin ve Noradrenalin Geri Alım İnhibitörü olan Venflaksin' in sitotoksisitesini, çeşitli kemirici ve insan kanser hücre kültürlerini

araştırmışlar ve sonuçlar Venflaksin' in kemirici ve insan orijinli tümör hücrelerinde sitotoksik olmadığını ortaya koymuştur.



### 3. MATERYAL VE METOT

Bu çalışmada test maddesi olarak antidepresanlar grubunda olan Remeron (Mirtazapin), materyal olarak da sigara içmeyen yaşları birbirine yakın sağlıklı iki erkek (23 ve 24 yaşlarında) ve iki bayandan (23 ve 26 yaşlarında) alınan periferik kan kullanılmıştır.

#### 3.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler ve Deney Ekipmanları

##### 3.1.1. Kullanılan Kimyasal Maddeler

###### 3.1.1.1. Remeron

Mirtazapin noradrenerjik ve spesifik serotonerjik antidepresan (NaSSA) olarak bilinen yeni bir antidepresan ilaçtır. Presinaptik alfa2-otoreseptör ve alfa2-heteroreseptör antagonisti olup, hem norepinefrin hem de serotonin salınımını artırır ve aynı zamanda noradrenerjik ve serotonerjik nörotransmisyonu güçlendirir. Bunun yanı sıra, 5-HT<sub>2</sub> ve 5-HT<sub>3</sub> reseptörlerini güçlü bir şekilde bloke eder (Özbek ve Ağargün, 2001).

Bu çalışmada test maddesi olarak kullandığımız Remeron (Mirtazapin) Schering-plough firması tarafından üretilmiş olup, bir antidepresan olarak uyku bozukluğu tedavisinde kullanılır. Remeron (Mirtazapin), tablet ve sıvı olarak satılmaktadır. Deneyde sıvı olan kullanılmıştır. Remeron (Mirtazapin) 'un kimyasal özellikleri aşağıda görülmektedir.

<b>İlacın ticari adı</b>	: Remeron
<b>Kimyasal adı</b>	: 1,2,3,4,10,14b-hexahydro-2-[11C]methylpyrazino (2,1-a) pyrido (2,3-c) (2)benzazepine
<b>Kapalı Formülü</b>	: C <sub>17</sub> H <sub>19</sub> N <sub>3</sub>
<b>Molekül ağırlığı</b>	: 265.35 g/mol
<b>Yoğunluğu</b>	: 1.22 g/cm <sup>3</sup>

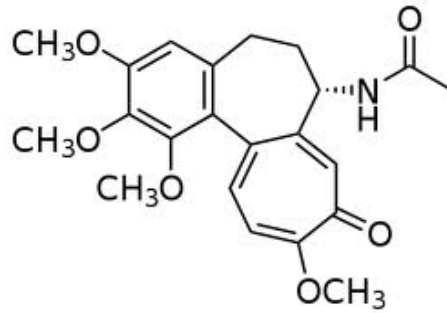


hazırlanmış ve kromozom medyumunun her ml'sinde 0.06 µg olacak şekilde (0.06 µg/ml) 2.5 ml'lik kromozom medyumuna ilave edilmiştir.

**Cas no** : 64-86-8

**Kapalı formülü** : C<sub>22</sub>H<sub>25</sub>NO<sub>6</sub>

**Açık formülü:**



#### 3.1.1.4. Hipotonik Eriyik

Hipotonik eriyik olarak %0.4'lük KCl (Merck) kullanılmıştır. Eriyik bidestile su içinde stok halinde hazırlanıp ağzı kapalı bir cam kapta buzdolabında (+4 °C) saklanmıştır. Her preparasyondan yaklaşık 2 saat önce yeteri kadar miktar alınıp 37°C'deki inkübatörde ısıtılıp kullanılmıştır.

#### 3.1.1.5. Sitokalsin D (Sigma)

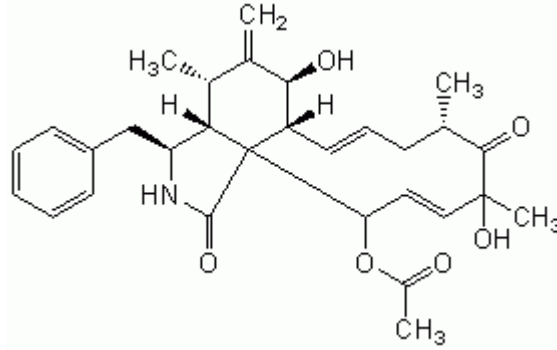
Sitokalsin D, MN testinde sitoplazma bölünmesini engellemek için (sitokinez bloklayıcı) kullanılmıştır. Sitokalsin D 6 µg/ml konsantrasyonda olacak şekilde kültürün bitimine 24 saat kala kültüre ilave edilmiştir.

<b>Kimyasal adı</b>	: Cytochalasin D
<b>Kapalı Formülü</b>	: C <sub>30</sub> H <sub>37</sub> NO <sub>6</sub>
<b>Molekül ağırlığı</b>	: 265.35 g/mol
<b>Yoğunluğu</b>	: 507.62 g mol <sup>-1</sup>

**Erime Sıcaklığı** : 255-260°C

**CAS number** : 22144-77- 0

**Açık formülü:**



### 3.1.1.6. Fiksatif

KKD ve KA için kullanılan fiksatif, 1 kısım glacial asetik asit'in 3 kısım metanol ile karıştırılması sonucu hazırlanmıştır. MN için ise iki farklı fiksatif kullanılmıştır. İlk fiksatif 1 kısım glacial asetik asit 5 kısım metanol ile karıştırıldıktan sonra 1/1 oranında % 0.9 NaCl ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır (1:5:6). Diğer fiksatifler ise NaCl ilave edilmeden kullanılmıştır.

Fiksatif kullanılmadan iki saat önce hazırlanmış ve buzdolabında saklanmıştır. Her seferinde preparat yapım işleminden iki saat önce taze olarak hazırlanıp kullanılmıştır.

### 3.1.1.7. 5'-Bromo-2'-deoxyuridine (BrdUrd)

BrdUrd KKD'yi tespit etmek için bir kromozomun kardeş kromatidlerinin farklı boyanmasını sağlamak amacıyla hücre kültürünün başlangıcında kültüre ilave edilmiştir. BrdUrd Sigma firmasından (Cat. No. B 5002) temin edilmiştir. BrdUrd eriyiği bidistile su içerisinde hazırlanmış, daha sonra por çapı 0.2 µm olan membran

filtre (Sartorius marka) ile steril edilmiştir. Bu eriyikten kültür tüpleri içerisindeki kromozom medyumuna 10 µg BrdUrd/ml olacak şekilde ilave edilmiştir.

#### 3.1.1.8. Sorensen Tamponu (Sorensen Buffer)

KKD'ni incelemek amacıyla preparat yapımı sırasında preparatlar Sorensen tamponu içerisinde UV lambası ile ışınlandırılmıştır. Ayrıca bu tampon %5'lik Giemsa boyası hazırlanmasında da kullanılmıştır.

Bu tampon eriyik, tampon A ve tampon B olmak üzere iki stok çözelti halinde hazırlanmış olup bu çözeltiler çalışmanın amacına uygun olarak birbirleriyle değişik miktarlarda karıştırılarak kullanılmıştır.

#### **Hazırlanması:**

Tampon A: 11.34 gr  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  250 ml saf su içinde eritilmiştir (pH=4.8).

Tampon B: 14.83 gr  $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$  250 ml saf su içinde eritilmiştir (pH=9.3).

#### 3.1.1.9. Standart Saline Citrate (SSC) Eriyiği

Bu eriyik, preparatların ışınlandırılmasından sonra kardeş kromatidler arasındaki kontrast farkını artırmak amacıyla kullanılmıştır. SSC eriyiğini hazırlamak için 11.05 gr trisodyum sitrat ( $\text{C}_6\text{H}_5\text{Na}_3\text{O}_7 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ) ve 21.9 gr NaCl kullanılmıştır. Bu iki madde ayrı ayrı kaplarda belirtilen miktarlarda saf su içerisinde eritilmiş, daha sonra aynı kaba aktarılarak birbirleriyle karıştırılmış ve üzerlerine 500 ml oluncaya kadar saf su ilave edilmiştir. Hazırladığımız bu stok eriyik 5xSSC'dir ve bu eriyik buzdolabında saklanmıştır. Deneyimizde, bu stoktan 20 ml alıp üzeri 100 ml'ye saf su ile tamamlanarak elde edilen 1x SSC kullanılmıştır.

**3.1.1.10. Giemsa**

Giemsa boyası Merck firmasından (Cat. No. 9204) temin edilmiş olup deneylerimizde Sorensen tamponu içinde hazırlanmış olan %5'lik boya eriyiği preparatların boyanmasında kullanılmıştır.

**3.1.1.11. Entellan**

Preparat kapatma solüsyonudur (Merck, Cat. No. 7961). Preparatlar daimi hale getirilirken lam ve lamelin birbirlerine yapıştırılmasında kullanılmıştır.

**3.1.1.12. Nitrik Asit (HNO<sub>3</sub>)**

Lamları temizlemek amacıyla 1 N çözelti olarak hazırlanmıştır. Plastik şişede saklanarak her defasında tekrar tekrar kullanılmıştır.

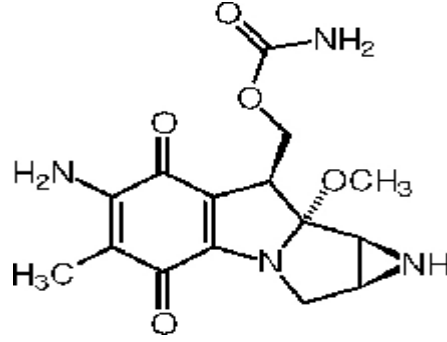
**3.1.1.13. Mitomycin C (MMC) (Kyowa)**

Bilinen bir mutajen olan Mitomycin C, bu çalışmada pozitif kontrol olarak kullanılmıştır. MMC eriyiği MMC'nin steril saf suda eritilmesiyle hazırlanmıştır. Daha sonra 0.2 µm por çapına sahip membran filtreden (Sartorius) geçirilerek eriyik bakterilerden arındırılmıştır (steril edilmiştir).

**Kimyasal adı:** 6-Amino-1,1a,2,8,8a,8b-hexahydro-8-(hydroxymethyl)-8a-methoxy-5-methyl-azirino[2',3':3,4] pyrrolo[1,2-a]indole-4,7-dione carbamate (ester)

**Kapalı formülü:** C<sub>15</sub>H<sub>18</sub>N<sub>4</sub>O<sub>5</sub>

**Açık formülü:**



**Molekül ağırlığı:** 334.33 g/mol

**Erime noktası:** >360°C

**CAS No:** 50-07-2

### 3.1.2. Kullanılan Deney Ekipmanları

#### 3.1.2.1. Hassas Terazı

Hava akımlarına karşı özel cam paravanlarla korunan ve 0,0001 gr hassasiyetindeki GEC AVERY marka terazi kimyasalların tartılmasında kullanılmıştır.

#### 3.1.2.2. Santrifüj

Rotor çapı 21 cm olan ve 4000 rpm'e kadar yükselebilen devir hızı, 99 dk.'lık zaman ayarlayıcı, açılabilir başlığa sahip ve 28 tüp kapasiteli HETTICH UNIVERSAL marka santrifüj çalışmalarda kullanılmıştır.

#### 3.1.2.3. Mikroskop

Koordinat cetveli ve immersiyon objektifi olan OLYMPUS marka binoküler ışık mikroskobu preparat incelemeleri sırasında kullanılmıştır. Fotoğraflar ise yine Olympus marka mikroskopta dijital olarak çekilmiştir.

#### **3.1.2.4. İnkübatör**

Hücrelerin 37°C’de inkübe edilmesi için Incacell marka inkübatör kullanılmıştır.

#### **3.1.2.5. pH Metre**

Kimyasalların pH değerlerini saptamak için WTW 315i (Germany) marka pH metre kullanılmıştır.

#### **3.1.2.6. Su Banyosu**

Hücre kültürü preparatları hazırlandıktan sonra, kardeş kromatidlerin farklı boyanmasında kullanılan SSC eriyiğinin 58-60°C’de sabit kalmasını sağlamak amacıyla BM 302 NÜVE marka 0-60°C ayarlanabilir su banyosu kullanılmıştır.

#### **3.1.2.7. Flow Kabin (Steril Kabin)**

Hücre kültürü tüplerine kromozom mediumu konulması, kan ekiminin yapılması, test eriyiklerinin ve kültür tüplerine ilave edilmesi sırasında steril bir ortam olarak, % 99.9 partikül tutma özellikli filtreye sahip, 1500 m<sup>3</sup>/h emiş kapasiteli, UV ve floresan ampülü olan LABORMED marka flow kabin kullanılmıştır.

#### **3.1.2.8. Karyotip mikroskopi**

Normal hücrelere ait kromozomların ve yapısal kromozom anormalliklerinin hangi kromozomlarda meydana geldiğini belirlemek amacıyla metafaz plaklarından karyogram yapılmıştır. Bunun için Olympus BX51 marka mikroskop ve Cytovision kromozom analiz sistemi kullanılmıştır. Bu işlemler üniversitemizin Biyoteknoloji Merkezi Genetik Laboratuvarında yapılmıştır.

### 3.2. Lamların Temizlenmesi

Kültür süresinin bitiminden iki gün önce etiketli olan lamlar şaleye dizilerek üzerlerini iyice örtecek şekilde 1 N nitrik asit konmuştur. Şalenin ağzı kapatılarak bu şekilde 24 saat bekletilmiştir. Süre bitiminde lamlar yarım saat akan çeşme suyunda iyice yıkanmıştır. Lamlar 3-4 defa saf suyla yıkandıktan sonra şale saf su ile doldurularak buzdolabında saklanmıştır.

### 3.3. Sterilizasyon

#### 3.3.1. BrdUrd Eriğinin Sterilizasyonu

BrdUrd eriyiği steril bir erlen içinde bulunan ve steril olan saf su içinde 5'-bromo-2'-deoxyuridine maddesinin eritilmesiyle hazırlanmıştır. Bu eriyik steril şartlarda por çapı 0.2 µm olan bakteri filtresinden (Sartorius, membran filtre) geçirilerek steril edilmiştir. Sonra vida kapaklı steril cam kültür tüplerine konulan bu eriyik, etrafı alüminyum folyo ile kapatılarak buzdolabında saklanmıştır.

#### 3.4. Kardeş Kromatid Değişimini (KKD) (Sister Chromatid Exchange=SCE) ve Kromozom Anormalliklerini (KA) (Chromosomal Aberration=CA) Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Test Maddesinin Kültüre İlave Edilmesi, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İncelemeler

Bir kimyasal maddenin insanlar için genotoksik olup olmadığı başta KKD, KA ve MN testleri ile belirlenebilmektedir. Bu tür çalışmalar planlanırken, uygulanırken ve yorumlanırken uluslararası yönergelere uygun hareket edilmesi zorunluluğu bulunmaktadır.

**3.4.1. Kromozom Aberasyonunu (KA) ve Kardeş Kromatid Değişimini****(KKD) Saptamak için Hücre Kültürünün Yapılması ve Test Maddesinin Kültüre İlave Edilmesi ve Preparatların Hazırlanması**

Bu çalışmada KKD ve KA'yı saptamak amacıyla birbirine yaşları yakın, sağlıklı ve sigara içmeyen insanlardan alınan (23 ve 26 yaşlarında 2 bayan, 23 ve 24 yaşlarında 2 erkek) 1/10 heparinize edilmiş periferik kanın 0.2 ml'si (6 damla) steril şartlarda 2.5 ml kromozom medyumuna (BP max, Gibco, cat.no.12552-013) ilave edilmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1991). Kanın ilavesinden hemen sonra son konsantrasyonu 10 µg BrdUrd/ml olacak şekilde steril 5- bromo-2-deoksiuridin (BrdUrd) eriyiği ilave edilerek periferik kan lenfositleri 37°C'deki inkübatörde 72 saat inkübe edilmiştir. Ön çalışma sonucu belirlenen konsantrasyondaki (4 konsantrasyonda) (10, 25, 40 ve 55 µg/ml) test maddesi kültür ortamına kültürün başlangıcından 24 ve 48 saat sonra ilave edilmiş ve hücrelerin test maddesiyle 24 ve 48 saat boyunca muamele edilmeleri sağlanmıştır. Ayrıca her deneyin bir kontrolü ve bir de pozitif kontrolü (0.15 µg/ml mitomycin C: MMC) olmuştur. Kültür süresinin bitiminden 2 saat önce (yani kültürün 70. saatinde) her tüpe hazırlanan kolşisin eriyiğinden ilave edilmiş (0.06 µg/ml) ve tüpler hafifçe sallanarak iyice karıştırılmıştır. Hücreler 2 saat süre ile (37°C'de) kolşisin ile ön muameleye tabi tutulmuştur. Kültür süresi olan 72. saatin bitiminde kültür tüpleri 1200 devir/dk (rpm)'da 15 dk. santrifüj edilmiş, süpernatant atılmıştır. Dipte kalan ve hücreleri ihtiva eden 0.5-0.7 ml'lik sıvı içerisinde hücreler resuspanse edildikten sonra 37°C'lik hipotonik eriyik (% 0.4' lük KCL) tüplere damla damla ilave edilmiştir. Her tüpe 5 ml hipotonik eriyik ilave edilen tüpler, ağzı kapandıktan sonra inkübatöre konularak hücrelerin 10 dk. hipotonik eriyikte 37°C' de muameleleri sağlanmıştır. Sürenin sonunda tüpler 15 dk. 1200 devir/dk' da santrifüj edilerek, tüpün üstündeki supernatant alınmış ve tüpün dibinde kalan 0.5-0.7 ml sıvı içerisinde tekrar resuspanse edilen hücreler üzerine damla damla soğuk fiksatif (1 hacim glacial asetik asit / 3 hacim metanol) ilave edilmiştir. Oda sıcaklığında 20 dk. fiksatif ile muamele edilen hücreler 1200 devir/dk 'de 15 dk. santrifüj edilmiştir. Daha sonra süpernatant uzaklaştırılarak tekrar fiksatif ilave edilmiştir. Fiksatifle muamele 3 defa

tekrarlanmıştır. Son santrifüjden sonra dipte 0.5-0.7 ml sıvı kalacak şekilde süpernatant atıldıktan sonra preparat yapma işlemine geçilmiştir. Tüpün dibinde toplanan hücrelerin pastör pipeti ile homojen hale getirilmeleri sağlanmış, bu hücre süspansiyonundan temizlenmiş ve saf su içerisinde buzdolabında saklanmış lamaların üzerine 75 cm yükseklikten damlatma işlemi yapılmıştır (her lama 3-4 damla). Böylece hücrelerin ve dolayısıyla kromozomların lam üzerinde yayılması sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar kurumak üzere 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

#### 3.4.2. Preparatların Boyanması

Bir kromozoma ait kardeş kromatidlerin farklı boyanmasını (Sister Chromatid Differentiation= SCD/) sağlamak amacıyla Speit ve Haupter (1985)'in geliştirdikleri metod (Fluoresans Plus Giemsa= FPG) kullanılmıştır. Bu amaçla bir günlük preparatlar ışınlama kabına konarak üzeri bir film gibi örtülecek şekilde Sorensen tamponu ile kapatılmıştır. Işınlama eriyiği, 5 ml tampon A, 5 ml tampon B'den alınıp bu karışımın destile su ile 100 ml'ye tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6.8).

Bu şekilde ince bir film tabakası olacak şekilde ışınlama eriyiği ile örtülen preparatlar, karanlıkta 15 cm yükseklikten 30 W'lık 254 nm dalga boyunda ışık yayabilen tek ultraviyole lambası ile 30 dk ışınlanmıştır. Işınlama bittikten sonra preparatlar 1xSSC eriyiği içerisinde 58-60 °C arasındaki sıcaklıklarda 60 dk. inkübe edilmiştir. İnkübasyon süresi bitmeden %5 'lik Giemsa boyası, 5 ml tampon A, 5 ml tampon B ve 5 ml Giemsa'nın karıştırılarak üzerleri 85 ml saf su ile tamamlanmasıyla hazırlanmıştır (pH=6.8). Sonra bu boya filtre kâğıtları ile süzülmüştür. İnkübasyon süresinin sonunda preparatlar 1xSSC eriyiğinden alınarak boya içerisine konulmuş ve yaklaşık olarak 20 dk. boya içerisinde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda preparatlar boyadan çıkartıldıktan sonra, üç ayrı kaptaki saf su içerisinden geçirilerek preparatlar üzerindeki fazla boyanın akması sağlanmıştır. Bundan sonra preparatlar kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirilmiştir. Entellan sertleştikten sonra bu daimi preparatlarda mikroskobik incelemeler yapılmıştır.

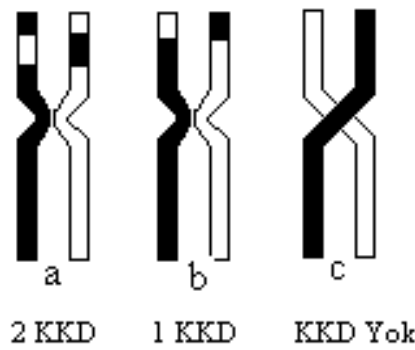
### 3.4.3. Mikroskopik İnceleme

Hazırlanmış olan daimi preparatlar Olympus marka binoküler ışık mikroskopunda immersiyon objektifi ile incelenmiştir (10x100=1000 büyütmede).

#### 3.4.3.1. KKD Sayısının ve Proliferasyon İndeksinin (PI) (Replikasyon İndeksi =RI) Saptanması

##### 3.4.3.1.(1). KKD Sayısının Saptanması

KKD sayısı, her kişinin kan kültürüne ait preparatlardan iyi dağılmış ve ikinci mitozu geçiren 25 hücrede (4 kişiden toplam 100 hücrede) saptanmıştır. KKD sayısı bir kromozomun açık boyanmış kromatidindeki koyu boyanmış parçaların veya koyu boyanmış kromatidindeki açık boyanmış parçaların sayılmasıyla belirlenmiştir (Topaktaş ve Speit, 1990). Ortadan bir parça değişimi olmuş ise bu iki KKD olarak değerlendirilmiştir (Şekil 3.1.a), uçtan parça değişimi olmuş ise bu da bir KKD olarak sayılmıştır (Şekil 3.1.b). Ancak bu incelemeler esnasında kromatidlerin primer boğum bölgelerinden dönüm yapıp yapmadıklarına dikkat etmek gerekir. Bu durumdaki kromozomlarda KKD yoktur (Şekil 3.1.c).



Şekil 3.1. Kardeş kromatid değişiminin olduğu ve olmadığı durumun şematik olarak gösterilmesi (Topaktaş ve Speit, 1990).

### 3.4.3.1.(2). Proliferasyon İndeksi (PI) (Replikasyon İndeksinin =RI) Saptanması

Remeron' un DNA replikasyonu üzerindeki etkilerini saptamak amacı ile proliferasyon indeksi (PI) bulunmuştur. Bunun için tesadüfi seçilmiş alanlarda 100 hücre incelenmiştir. Bu incelemeler sırasında gözlenen birinci, ikinci ve üçüncü metafaz devresindeki hücreler sayılmıştır. Bu verilerden PI şu şekilde hesaplanmıştır;

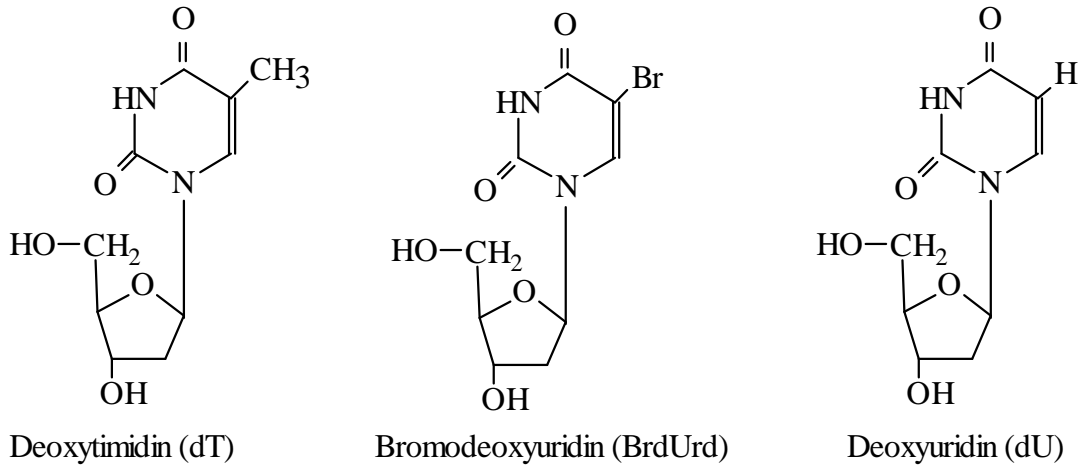
$$PI = (1 \times M1 + 2 \times M2 + 3 \times M3) / 100$$

M1: 1. Mitozdaki hücre sayısı;

M2: 2. Mitozdaki hücre sayısı

M3: 3. Mitozdaki hücre sayısı

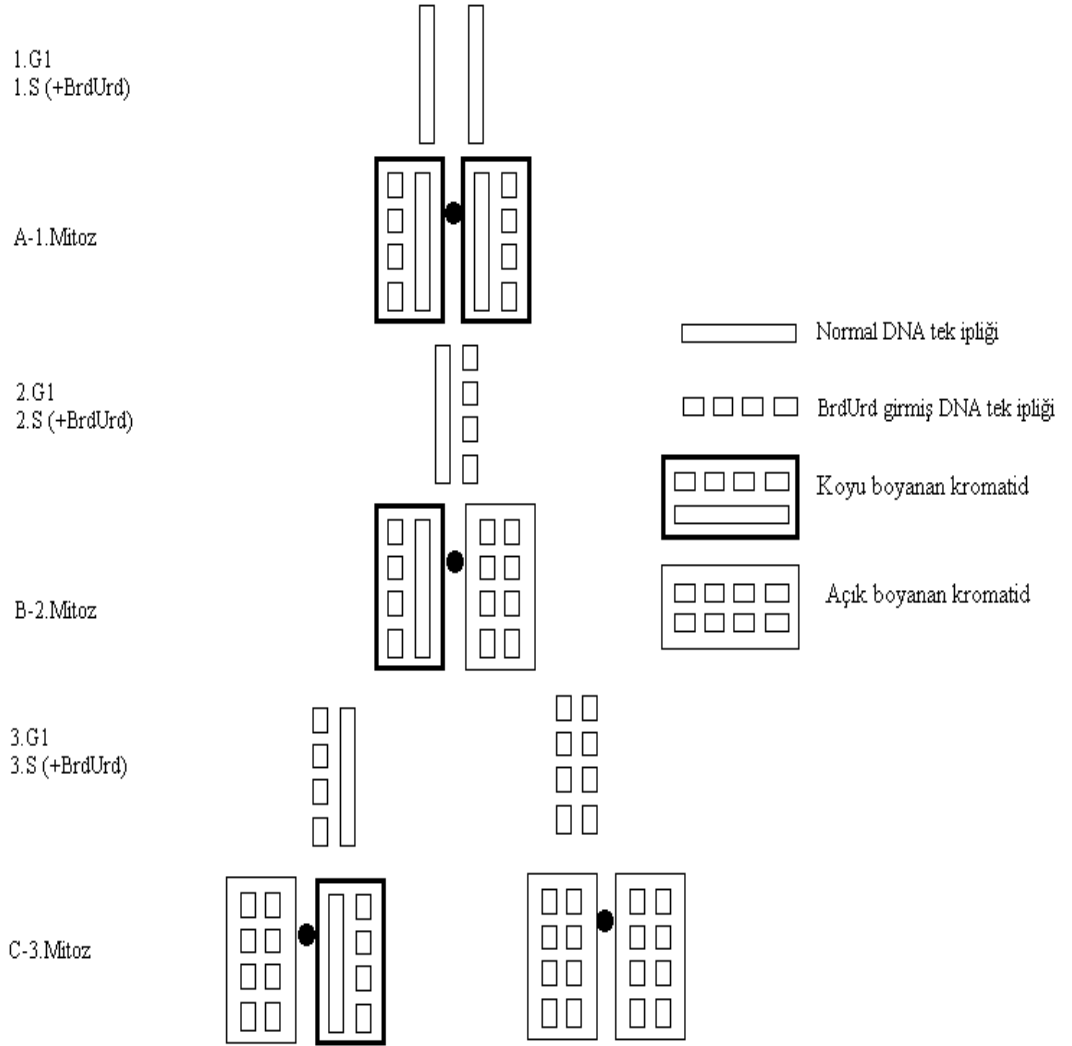
Birinci, ikinci ve üçüncü metafazlar şu şekilde ayırt edilmiştir (Topaktaş ve Speit, 1990): BrdUrd, deoxytimidin (dT) ve deoxyuridin (dU) birbirlerinin analogu olan bileşiklerdir (Şekil 3.2). BrdUrd, dT ve dU arasındaki tek fark taşıdıkları benzen halkasındaki 5.C atomuna dT'de CH<sub>3</sub>, BrdUrd'de Br ve dU'da H atomunun bağlı olmasından kaynaklanmaktadır.



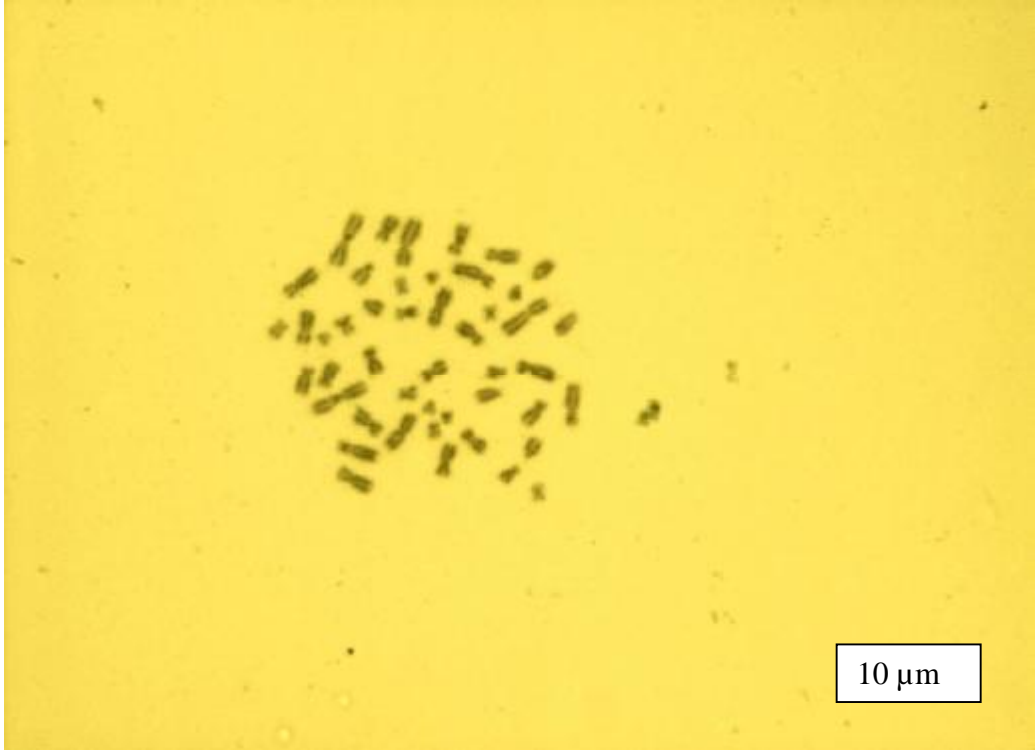
Şekil 3.2. Deoxytimidin (dT), Bromodeoxyuridin (BrdUrd) ve Deoxyuridin (dU)'in kimyasal yapıları.

BrdUrd, DNA'nın yapısında bulunan timin bazlarının analogu olduğundan dolayı kültür ortamına BrdUrd koyduğumuzda hücre DNA'sını replike ettiği sırada (1.S fazında) yeni sentezlenen polinükleotid ipliği içine timinli nükleotid yerine

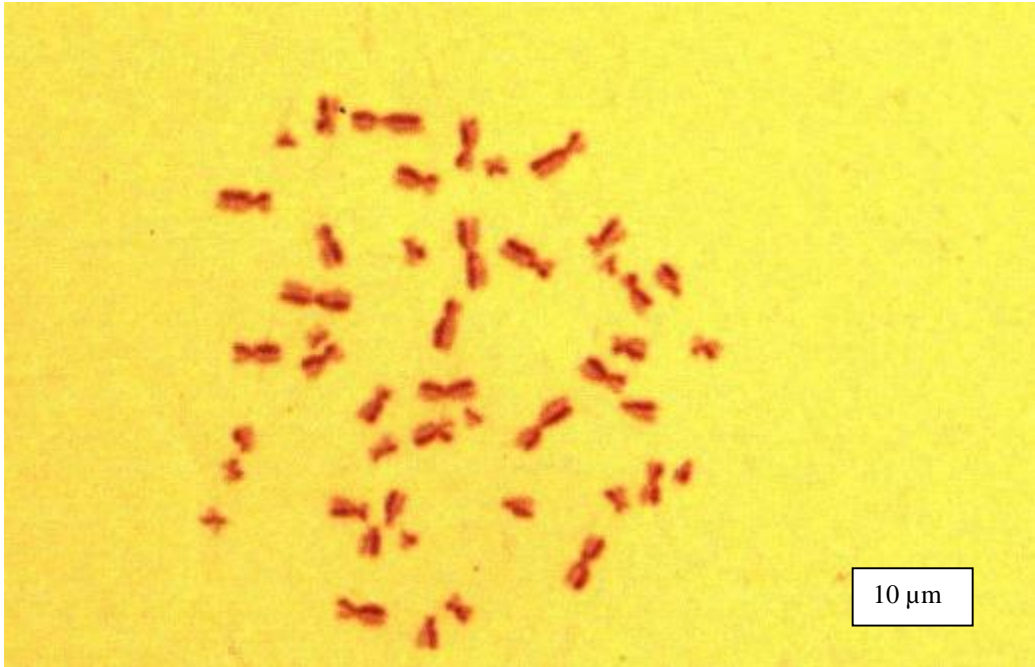
ortamda bulunan BrdUrd'li nukleotidi alacaktır. Böyle hücrelerinin kromozomları boyandığında bir kromozomun her iki kromatidi de (BrdUrd/dT:dT/BrdUrd) homojen koyu renkte boyanacaktır. Bu hücreler 1. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3 A ve Şekil 3.4). Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerden meydana gelen yavru hücreler tekrar S fazına girdiğinde (BrdUrd'lu ortamda 2.S fazı) timin ihtiva eden polinükleotid ipliğine komplementer olarak sentezlenen yeni DNA ipliğinde BrdUrd yer alacaktır. Bu iki polinükleotid ipliği bir kromozomun koyu boyanan kromatidini (BrdUrd/dT) oluşturacaktır. BrdUrd'lu ipliğe komplementer olarak sentezlenen yeni ipliğe de BrdUrd girecektir ve bir kromatidi oluşturan iki polinükleotid ipliği de BrdUrd ihtiva ettiklerinden (BrdUrd/BrdUrd) bu kromatid aynı kromozomun açık boyanan kromatidini oluşturacaktır. İşte bu hücrenin metafaz devresinde preparat yapıldığında hücrenin tüm kromozomlarının (BrdUrd/dT:BrdUrd/BrdUrd) kromatidlerinden biri koyu diğeri ise açık renkte boyanacaktır. Bunlar da ikinci mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3.B ve Şekil 3.5). Bu hücreler tekrar S fazına girdiğinde (BrdUrd'lu ortamda 3.S fazı) ikinci mitozda açık boyanan kromatidden tüm polinükleotid ipliklerine BrdUrd girmiş olan bir kromozom meydana gelecektir ve bu kromozomun her iki kromatidi de açık renkte boyanacaktır (BrdUrd/BrdUrd:BrdUrd/BrdUrd). İkinci mitozda koyu boyanan kromatidden ise, bir kromatidin her iki ipliği BrdUrd'lu ve diğerkromatidin bir ipliği BrdUrd'lu diğerkromatidin bir ipliği timinli olan bir kromozom oluşacaktır. Bu kromozom da boyandığında bir kromatidi koyu renkte, bir kromatidi de açık renkte boyanacaktır (BrdUrd /dT:BrdUrd/BrdUrd). İşte böyle hücrelerin metafaz devresinde preparat yapıldığında bazı kromozomların her iki kromatidi açık renkte, bazı kromozomların bir kromatidi açık, diğerkromatidi de koyu renkte boyanacaktır. Bu hücrelerde 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerdir (Şekil 3.3.C ve Şekil 3.6). İşte bu şekilde 1., 2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücreler ayırt edilmiş, bu hücrelerin 100 hücre içindeki sayısı saptanmış, bundan da yukarıda belirtilen formüle göre proliferasyon indeksi (PI) hesaplanmıştır.



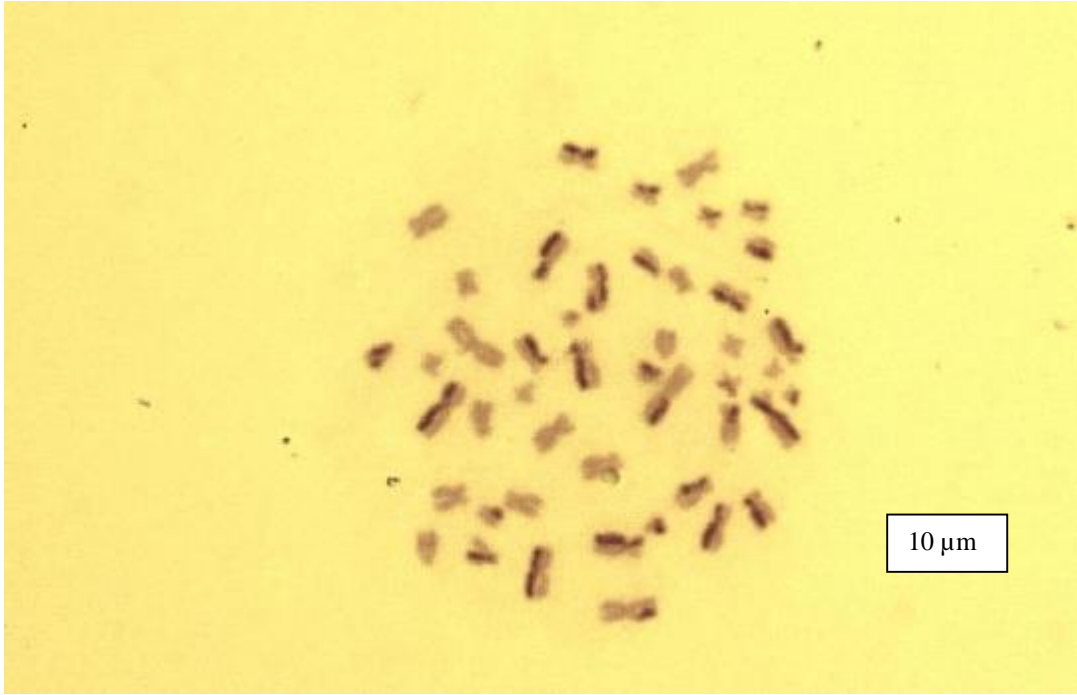
Şekil 3.3. BrdUrd'nin DNA yapısına girmesi ile 1., 2. ve 3. mitoz bölünmeyi geçiren hücrelerin ayırt edilmesinin şematik olarak açıklanması (During 1985'e göre Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010).



Şekil 3.4. Birinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar.



Şekil 3.5 İkinci mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar.



Şekil 3.6. Üçüncü mitoz bölünmeyi geçiren hücreye ait kromozomlar.

### 3. 4. 3. 2. Kromozomal Anormallikler (KA) ve Mitotik İndeksin (MI) Saptanması

#### 3. 4. 3. 2. (1). Kromozom Anormalliklerinin (KA) Saptanması

KKD'yi saptamak amacıyla yapılan preparatlar KA incelemeleri amacıyla kullanılmıştır. Her bir kişiden hazırlanan preparatlardan iyi dağılmış kromozomlara sahip toplam 100 hücre (4 kişiden toplam 400 hücre) KA'yı saptamak amacı ile incelenmiştir. Bu hücreler içinde gözlediğimiz kromozom yapı ve sayı anormallikleri Uluslararası İnsan Sitogenetik Adlandırma Sistemine (ISCN= International System for Human Cytogenetic Nomenclature) uygun olarak değerlendirilendirilp ve adlandırılmıştır (Paz-y-Mino ve ark., 2002). İncelenen bu 100 hücre içinde hücre başına düşen yapısal kromozom anormalliklerinin (yapısal KA/hücre) sayısı ile anormallik içeren hücrelerin yüzdesi saptanmıştır. Bu çalışmada gap'lar anormallik olarak değerlendirilmemiştir (Mace ve ark. 1978). Gap ile kromatid ve kromozom

tipi kırıklar arasındaki fark şu şekilde ayırt edilmiştir (Preston ve ark. 1987'e göre), Gap'da kromatidin birinde (kromatid tipi gap) veya kromatidin her ikisinde (kromozom tipi gap) görülen boyanmamış bölge bir kromatidin kalınlığından daha azdır. Kırıklarda ise daha fazladır. İşte bu ölçülere göre gap ile kromatid ve kromozom tipi kırıklar birbirinden ayırt edilmiştir. Mace ve ark. (1978) ise gap bölgesinde DNA ipliğinde kırık olmadığını elektron mikroskobu fotoğraflarında göstermişlerdir.

Bu çalışmada kromatid kırığı ve tek kol birleşmesi gibi anormallikler kromatid tipi anormallik olarak değerlendirilmiştir. Ayrıca kromozom kırığı, kardeş kromatid birleşmesi (sister union), kromatid değişimi, halka kromozom ve disentrik kromozom oluşumu gibi anormallikler de kromozom tipi anormallik olarak değerlendirilmiştir.

#### **3.4.3.2.(2). Mitotik İndeksin (MI) Saptanması**

Mitotik indeksin saptanması amacıyla her kişiye ait tesadüfi seçilmiş alanlarda toplam 3000 hücre incelenmiş ve bunların içerisinde metafaz devresindeki hücrenin sayısı belirlenmiştir. Bu verilerden de MI yüzde değer cinsinden saptanmıştır.

### **3.5. Mikronukleus (MN) Oluşumunu Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Test Maddesinin Kültüre İlave Edilmesi, Preparatların Hazırlanması, Boyanması ve Mikroskopik İncelemeler**

#### **3.5.1. Mikronukleus (MN) Oluşumunu Saptamak Amacıyla Hücre Kültürünün Yapılması, Test Maddesinin Kültüre İlave Edilmesi ve Preparatların Hazırlanması**

In vitro mikronukleus testi için Rothfuss ve ark. (2000)' nin geliştirdikleri yöntem modifiye edilerek kullanılmıştır. Bu amaçla KA ve KKD testi için kişilerden alınan 1/10 heparinize edilmiş kan kromozom medyumlarına steril şartlarda 6 damla (0.2 ml) ekilmiştir (Rencüzoğulları ve Topaktaş, 1991). Hücreler

inkübatörde  $37\pm 1^{\circ}\text{C}$ 'de 68 saat için inkübe edilmiştir. Remeron (mirtazapin)'un etkisini incelemek için, KKD ve KA testinde kullanılan konsantrasyonlardaki test maddesi kültür ortamına kültürün başlangıcından 20 ve 44 saat sonra ilave edilmiş ve hücrelerin test maddesiyle 24 ve 48 saat boyunca muamele edilmeleri sağlanmıştır. Ayrıca deneyin bir kontrolü ve bir pozitif kontrolü (MMC) olmuştur. İki nukleuslu hücre oluşumunu sağlamak için de kültürün 44. saatinde bütün tüplere 6  $\mu\text{g}/\text{ml}$  olacak şekilde sitokalsin D ilave edilmiştir. Kültürün 68. saatinde kültür tüpleri 1200 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Dipte kalan ve hücreleri ihtiva eden 0.5-0.7 ml'lik sıvı iyice karıştırıldıktan sonra tüplere,  $37^{\circ}\text{C}$ 'de tutulan hipotonik eriyik (% 0.4 'luk KCL) ilave edilmiştir. Bu eriyiğin ilavesi damla damla ve karıştırılarak yapılmıştır. Her tüpe 5 ml hipotonik eriyik ilave edildikten sonra tüpler, ağzı kapatılarak inkübatöre konulmuştur. Hücreler 5 dk. hipotonik eriyikte  $37^{\circ}\text{C}$ 'de muamele edilmiştir. Sürenin sonunda tüpler 15 dk. 1200 rpm'de santrifüj edilip, süpernatant atılmıştır. Bu sefer hipotonik eriyik ilavesi gibi yavaş yavaş ve karıştırarak her tüpe 5 ml olacak şekilde soğuk fiksatif ilave edilmiştir. İlk fiksatif 1 hacim glacial asetik asit, 5 hacim metanol karışımının 1/1 oranında %0.9 NaCl ile seyreltilmesiyle hazırlanmıştır (1/5/6 oranında). Oda sıcaklığında 20 dk. fiksatif ile muamele edilen hücreler 1200 rpm'de 15 dk. santrifüj edilmiş ve süpernatant atılmıştır. Bu işlemde sonra ilk fiksatiften farklı fiksatif kullanılmıştır (1 kısım asetik asit 5 kısım metil alkol). Bu fiksatifle muamele iki kere tekrarlanmıştır. Her fiksatif ilavesinden sonra santrifüj edilerek üstteki sıvı atılıp ve en son fiksatif muamelesinden sonra preparat yapma işlemi başlamıştır.

Tüpün dibinde toplanan hücreler pasteur pipeti ile karıştırılarak homojen hale getirilmiştir. Pasteur pipetine 4-5 damla olacak şekilde bu hücre süspansiyonundan çekilmiştir. Daha önce temizlenmiş ve saf su içerisinde buzdolabında saklanan lamaların üzerine farklı alanlara 1'er damla olmak üzere hücre süspansiyonu damlatılarak (her lama 4-5 damla) (yaklaşık 5 cm yükseklikten) hücrelerin lam üzerinde yayılması sağlanmıştır. Bu şekilde hazırlanan preparatlar kurumak üzere 24 saat oda sıcaklığında bekletilmiştir.

### 3.5.2. Preparatların Boyanması

Hazırlanan preparatlar Sorensen tamponu ile hazırlanan %5'lik Giemsa boyası ile boyanmıştır. 5 ml tampon A, 5 ml tampon B ve 5 ml Giemsa karıştırılmasıyla üzerleri 100 ml oluncaya kadar saf su ile tamamlanarak %5'lik Giemsa boyası hazırlanmıştır (pH=6.8). Sonra bu boya bir şale içine filtre kâğıtları ile süzülmüştür. Bir günlük preparatlar boya içerisine konulup ve yaklaşık olarak 15 dk. boya içerisinde bekletilmiştir. Bu sürenin sonunda preparatlar boyadan çıkartılıp ve üç ayrı kaptaki saf su içinden geçirilmiştir. Bundan sonra preparatlar dik vaziyette konularak ve kurumaya bırakılmıştır. Kuruyan preparatlar entellan ile kapatılarak daimi hale getirilmiştir. Entellan kuruduktan sonra bu daimi preparatlarda mikroskopik incelemeler yapılmıştır.

### 3.5.3. Mikroskopik İncelemeler

Hazırlanmış olan daimi preparatlar ışık mikroskopunda 40'luk objektif ile incelenmiştir (10x40=400 büyütmede). Bu incelemeler sırasında her bir kişiden hazırlanan preparatlardan 1000 iki nukleuslu (binükleer) hücre incelenmiştir. Bu iki nukleuslu hücreler içerisinden mikronukleuslu olanları ve toplam mikronukleus sayısı saptanmıştır. Bu inceleme sonucunda saptanan değerlerden mikronukleuslu binükleer hücre oranı ve mikronukleus yüzdesi hesaplanmıştır. Ayrıca aynı kişiden hazırlanan preparatlardan 1000 hücre incelenmiştir. Bu hücreler arasından bir, iki, üç ve dört nukleuslu olanların (Şekil 3.7 - Şekil 3.10) sayıları saptanmıştır. Bu sayılardan yola çıkarak Nukleus Bölünme İndeksi (NBI) (Nuclear Division Index = NDI) hesaplanmıştır (Fenech, 2002). Hesaplama aşağıdaki formüle göre yapılmıştır.

$$NBI = (1 \times N1 + 2 \times N2 + 3 \times N3 + 4 \times N4) / n$$

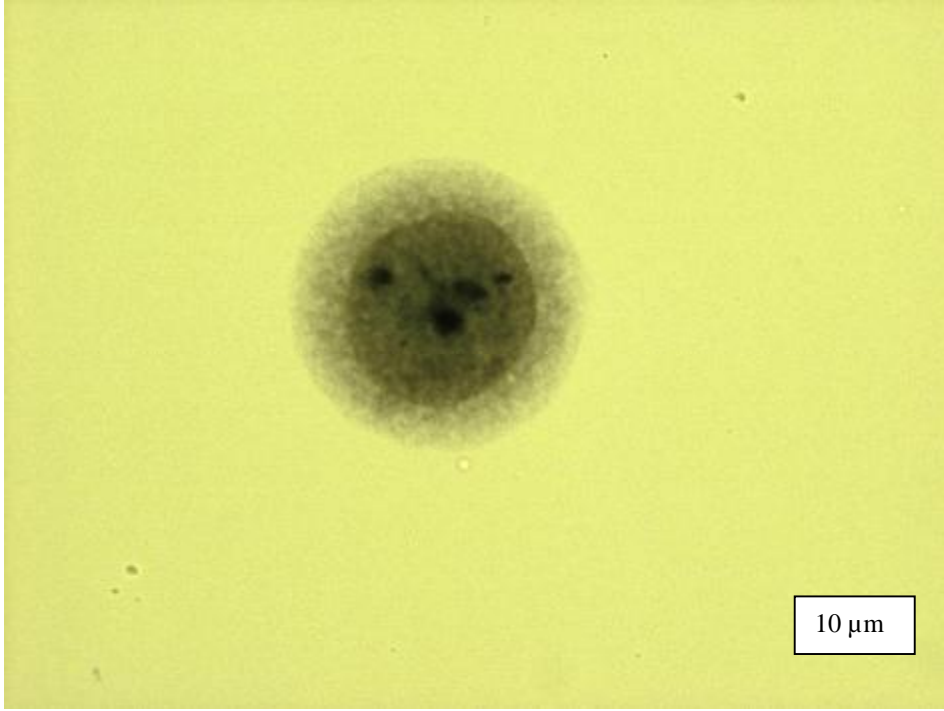
N1: 1 nukleuslu hücre sayısı

N2: 2 nukleuslu hücre sayısı

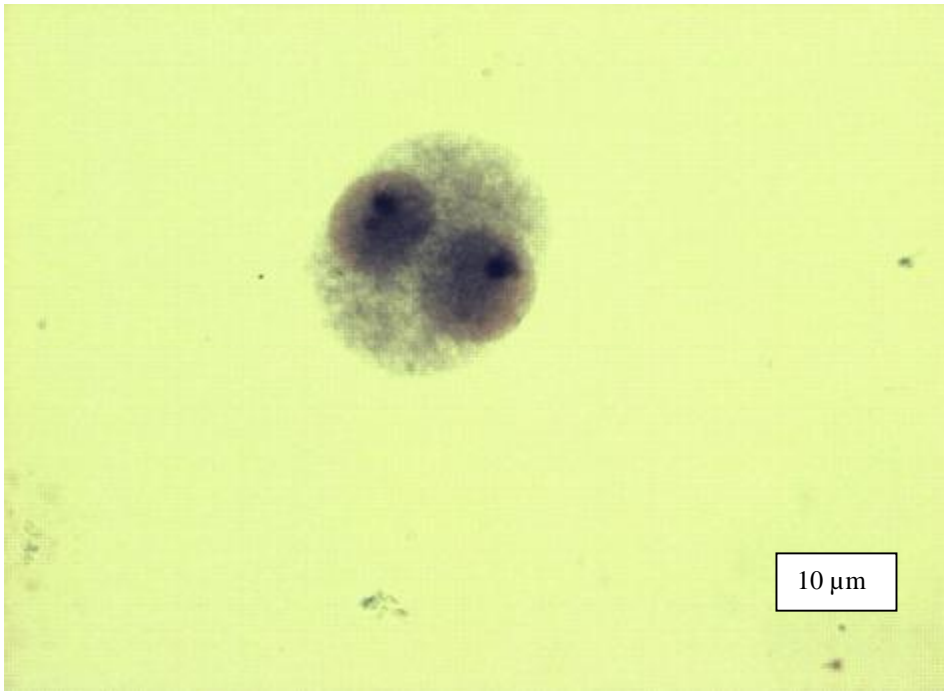
N3: 3 nukleuslu hücre sayısı

N4: 4 nukleuslu hücre sayısı

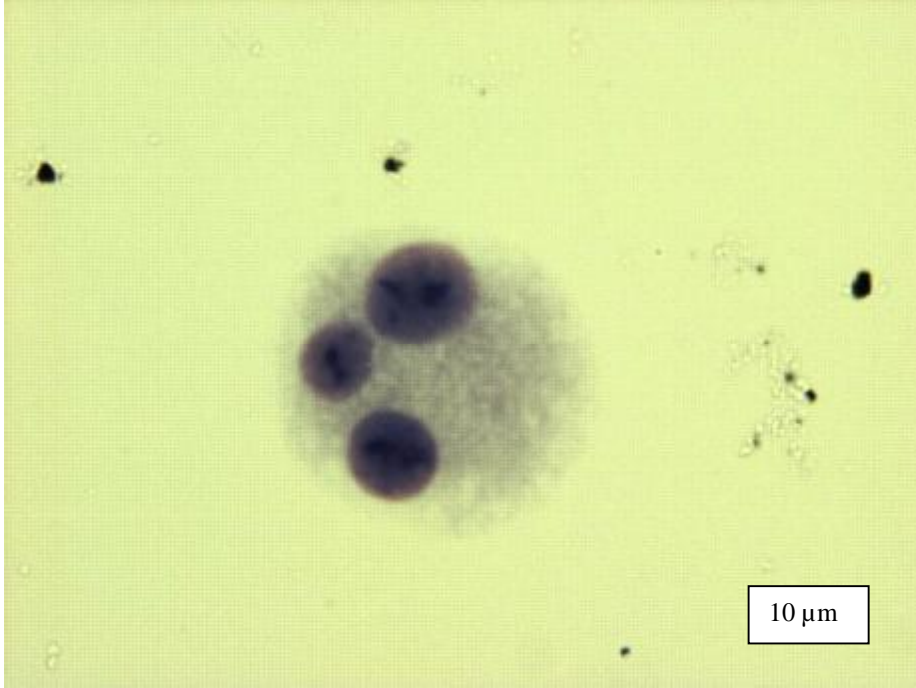
n : İncelenen toplam hücre sayısı



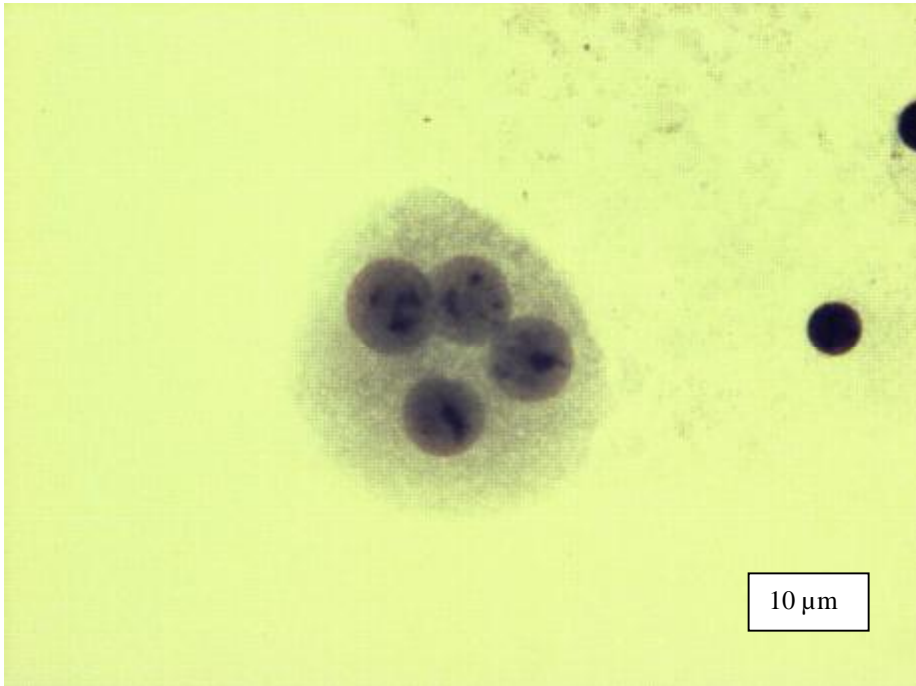
Şekil 3.7. Bir nukleuslu hücre.



Şekil 3.8. İki nukleuslu hücre.



Şekil 3.9. Üç nukleuslu hücre.



Şekil 3.10. Dört nukleuslu hücre.

### 3.6. Mikroskopta Fotoğraf Çekme

Fotoğraflar Olympus markalı trinoküler mikroskoba bağlı dijital fotoğraf makinesi ile çekilmiştir. Daha önce 1., 2., ve 3. mitozu geçiren hücrelerin kromozomlarının, bazı KA'lara ait örneklerin ( 1000 büyütmede) , iki nukleuslu hücrelerden mikronukleusa sahip olanlar ve bir, iki, üç ve dört nukleuslu hücrelerin birkaçının (400 büyütmede) fotoğrafları çekilmiştir (Olympus CX31RTSF; 7,1 Megapixel).

### 3.7. İstatistik Analiz ve Sonuçların Değerlendirilmesi

Muameleli kültürlerden elde edilen KKD / hücre, KA' lı hücre yüzdesi KA / hücre, MN' lu binukleer hücre yüzdesi, MN yüzdesi, MI, PI ve NBI değerleri ile kontrol ve pozitif kontrolde elde edilen değerlerin arasındaki farkın önemli olup olmadığı *t*-testi ile araştırılmış ve ayrıca muameleli kültürlerde konsantrasyon etki ilişkisinin olup olmadığı korelasyon kat sayısı bulunarak ve regresyon eğrisi çizilerek değerlendirilmiştir.



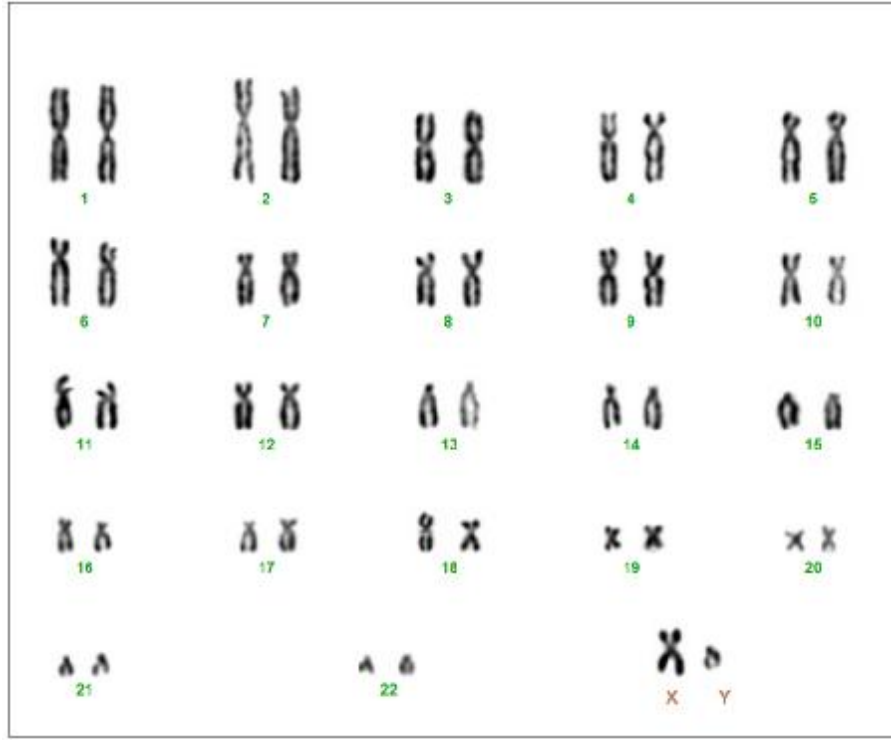
## 4. BULGULAR VE TARTIŞMA

### 4.1. Bulgular

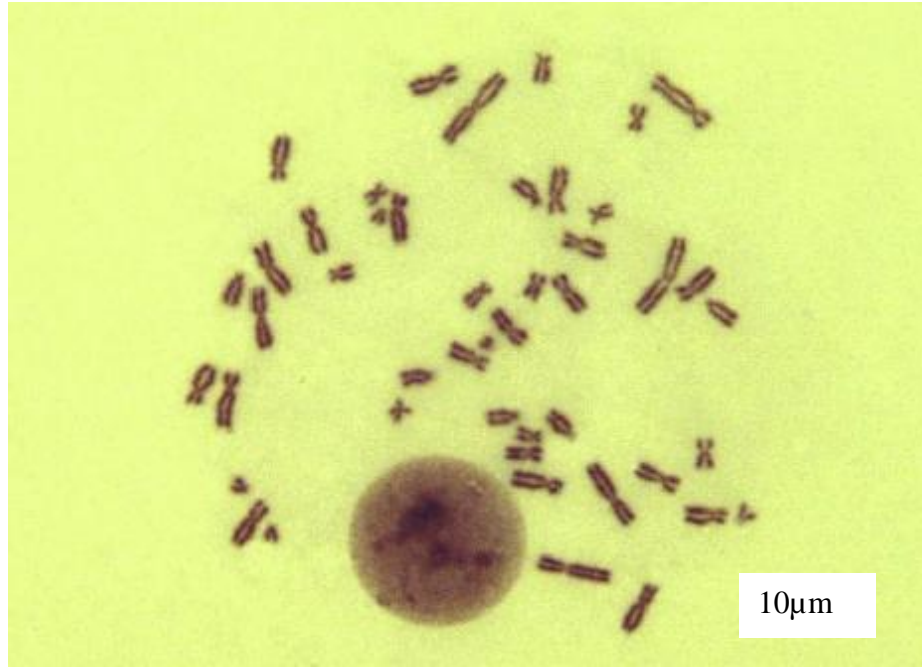
Remeron'un kardeş kromatid değişimi (KKD) ve kromozom aberasyonu oluşumu üzerindeki etkisi insan periferel lenfositlerinin kromozomları incelenerek ortaya konmuştur. İnsan genomunda 22 çift avtozom ve bir çift gonozom olmak üzere  $2n = 46$  kromozom bulunmaktadır. Erkek fertte 22 çift avtozomla birlikte XY gonozomları, dişisinde ise 22 çift avtozomla birlikte XX gonozomları bulunmaktadır. Erkek ve dişi ferde ait karyotip ve metafaz plağındaki kromozomlar Şekil 4.1 ve Şekil 4.2 'de görölmektedir.

İnsan kromozomları Denver sınıflandırılmasına (Denver Conferance, 1960) göre avtozomlar büyükten küçüğe doğru 1-22'ye kadar numaralandırılır ve 7 gruba ayrılırlar. Bu gruplar A (1-3. kromozomlar), B (4.ve5. kromozomlar), C (6.-12.kromozomlar), D (13.-15. kromozomlar) , E (16.-18. kromozomları) , F (19. ve 20. kromozomlar) , G ( 21. ve 22. kromozomlar) grubu kromozomlar olmak üzere 7 grup oluştururlar. Karyotipte, gonozomlar ise (XX ve XY) ayrı bir grubu oluşturur ve onların numarası yoktur.

Remeron'un insan periferel lenfositlerindeki genotoksik etkisi KKD, KA ve MN testleriyle araştırılmış ve bu testler için yapılan çalışmalarda aşığındaki sonuçlar alınmıştır.

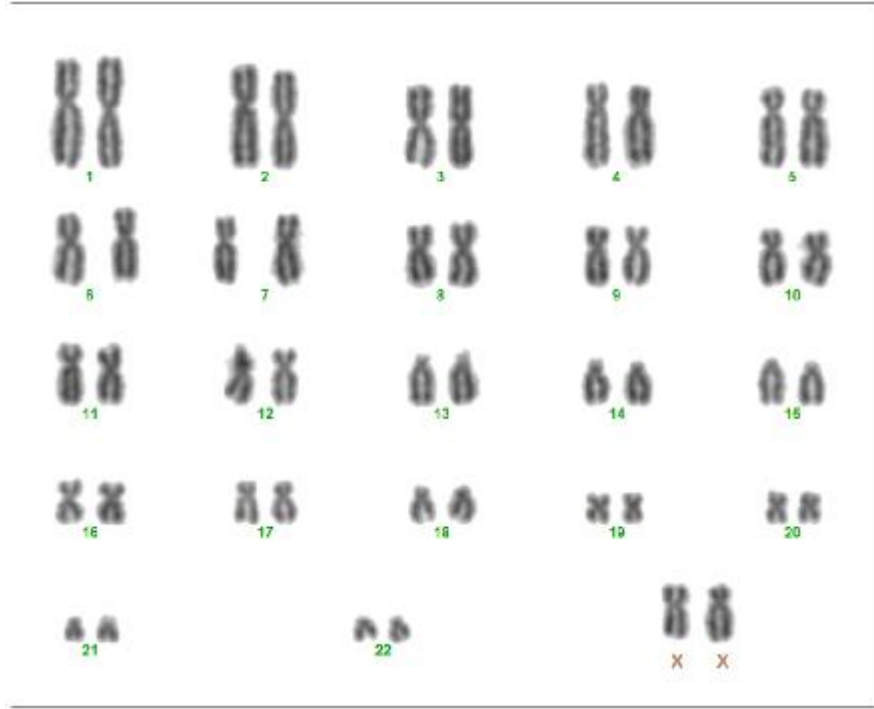


A

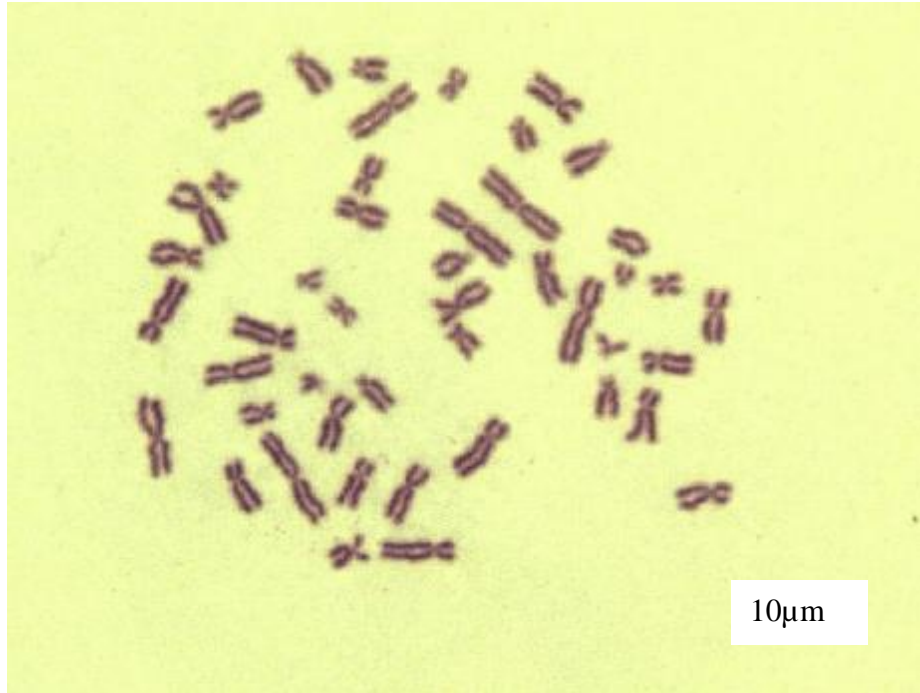


B

Şekil 4.1 A- Erkek ferde ait karyogram, B- Karyogramdaki kromozomların metafaz plağındaki durumu. X1000.



A



B

Şekil 4.2. A- Dişi ferde ait karyogram, B- Karyogramdaki kromozomların metafaz plağındaki durumu. X1000.

#### 4.1.1. Remeron (Mirtazapin) 'un Kardeş Kromatid Değişimi (KKD) Üzerindeki Etkisi

Dört farklı konsantrasyondaki Remeron (10, 25, 40 ve 55µg/ml) ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferal lenfositlerinde saptanan ortalama kardeş kromatid sayıları (KKD/Hücre) Çizelge 4.1.' de gösterilmektedir. Remeron (Mirtazapin) 'un, 24 ve 48 saat muamele sürelerinde kontrole göre KKD sayısını önemli derecede arttırmadığı gözlenmiş olup (Şekil 4.3) pozitif kontrol olarak kullandığımız MMC ise KKD' yi önemli derecede uyarmıştır(Şekil 4.4) (Çizelge 4.1).

Çizelge 4.1. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Hücre Başına Düşen Ortalama KKD (SCE) Sayısı.

Test Maddesi	Muamele Süresi (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	Min-Max KKD	KKD/Hücre±SH
<b>Kontrol</b>	--	--	0-13	5.585 ± 0.393
<b>MMC (PK) *</b>	24	0.15	5-80	44.63 ± 3.25 a <sub>3</sub>
<b>Remeron</b>	24	10	2-14	6.490 ± 0.542 b <sub>3</sub>
		25	1-14	6.140 ± 0.548 b <sub>3</sub>
		40	2-18	6.330 ± 0.410 b <sub>3</sub>
		55	1-13	6.120 ± 0.686 b <sub>3</sub>
<b>MMC (PK) **</b>	48	0.15	14-143	87.41 ± 3.89 a <sub>3</sub>
<b>Remeron</b>	48	10	2-13	5.810 ± 0.579 b <sub>3</sub>
		25	1-15	6.082 ± 0.658 b <sub>3</sub>
		40	1-15	7.050 ± 0.476 b <sub>3</sub>
		55	2-14	6.61 ± 0.417 b <sub>3</sub>

a: Kontrol ile; b: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

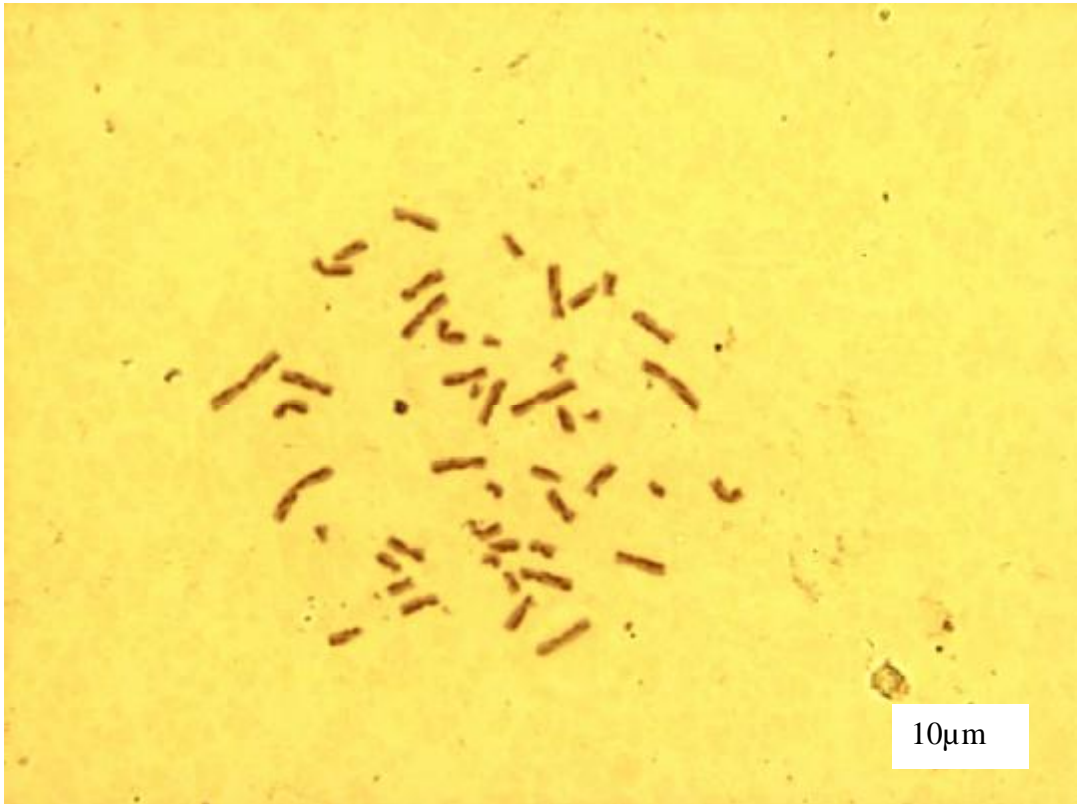
a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>: P≤0.05 a<sub>2</sub>b<sub>2</sub>: P≤0.01 a<sub>3</sub>b<sub>3</sub>: P≤0.001

\*95 hücre incelenmiştir

\*\* 75 hücre incelenmiştir



Şekil 4.3. 9 Kardeş kromatid değişiminin olduğu metafaz plağı (10µg/ml Remeron (Mirtazapin) 24 saatlik muamele, ♀). X1000.



Şekil 4.4. 32 kardeş kromatid değişimi bulunan metafaz plağı ( 0.15µg/ml MMC, 24 saatlik muamele, ♂). X1000.

#### 4.1.2. Remeron (Mirtazapin) 'un, Kromozom Aberasyonu (KA)'nun Oluşumu Üzerindeki Etkisi

Dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 40 ve 55µg/ml) Remeron (Mirtazapin) ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde ortaya çıkan kromozom anormallik çeşitleri, kromozom anormalliğine sahip olan anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen kromozom aberasyonu (KA/Hücre) Çizelge 4.2.'de gösterilmektedir.

Remeron (Mirtazapin), tüm dozlarda ve muamele sürelerinde (24 ve 48 saat) anormal hücre (AH) %' sini kontrole göre artırmamıştır (Çizelge 4.2). KA/Hücre sayısı da 24 ve 48 saatlik muamele süresinde dozların hiçbirinde kontrole nazaran istatistik olarak önemli derecede fark göstermemiştir (Çizelge 4.2.). Remeron (Mirtazapin) kromozom aberasyonunu uyardığı halde pozitif kontrol olarak kullandığımız MMC önemli derecede uyardığıdır.

Remeron (Mirtazapin) ile muamele edilen insan periferik kan lenfositlerinde kromozom anormalliklerinden, kromatid kırığı en çok görülen anormalliktir (Şekil 4.5). Ayrıca kromozom aberasyonlarından kromozom kırığı (Şekil 4.6), fragment (Şekil 4.7.) ve (Şekil 4.8.), kardeş kromatidlerin birleşmesi (sister union) (Şekil 4.9), kromatid değişimi (4.8) sık rastlanan anormallikleri oluşturmaktadır. Ayrıca endoreduplikasyon ve poliploidi (Şekil 4.10) (Şekil 4.11) gibi sayısal kromozom anormalliklerine de rastlanmıştır.

En yüksek konsantrasyondaki (55 µg/ml) Remeron (Mirtazapin) ile muamele edilen kültürlerde kromozom kontraksiyonunun önemli derecede arttığı belirlenmiştir (Şekil 4.12). Kontraksiyonlu kromozoma sahip metafazların sayılarını saptamak için 100 metafaz plağı incelenmiştir. Kontrolde hiç kromozom kontraksiyonuna rastlanmamasına karşılık, pozitif kontrolde kontraksiyonlu kromozoma sahip hücre oranı 0,0075 iken 55 µg/ml konsantrasyonunda Remeron ile muameledeki kültürlerde kontraksiyonlu kromozoma sahip metafaz plağı oranı 0.0775 olarak bulunmuştur.

Çizelge 4.2. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) İle 24 ve 48 Saat Muamele Edilmiş Olan İnsan Periferel Kan Lenfositlerinde Kromozom Anormallik Çeşitleri, Anormal Hücre Oranı, KA/ Hücre.

Test Maddesi	Muamele		Anormallik Çeşitleri										Anormal Hücre (%)'si ± SH	KA/Hücre±SH
	Süre (saa)	Kons. (µg/ml)	B'	B''	F	KD	KKB	T	ER	P				
<b>Kontrol</b>	--	--	6	1	-	-	3	-	-	-	2	3.00±0.004	0.030±0.004	
<b>MMC (PK) *</b>	24	0.15	36	13	21	1	7	-	-	-	-	20.25±0.016a <sub>2</sub>	0.22±0.014a <sub>3</sub>	
<b>Remeron</b>	24	10***	4	-	3	2	2	-	-	1	3	3.74±0.037b <sub>3</sub>	0.04±0.004b <sub>3</sub>	
			7	3	3	-	1	-	-	-	1	3.50±0.006b <sub>3</sub>	0.037±0.006b <sub>3</sub>	
			12	3	-	-	2	-	-	-	-	1	4.50±0.006b <sub>3</sub>	0.045±0.006b <sub>3</sub>
			18	-	1	-	-	-	-	-	-	1	5.31±1.010b <sub>3</sub>	0.053±0.010b <sub>3</sub>
<b>MMC (PK)**</b>	48	0.15	54	26	14	5	4	-	-	-	28.52±0.017a <sub>3</sub>	0.33±0.029a <sub>2</sub>		
<b>Remeron</b>	48	10	12	-	1	-	1	-	-	-	1	3.75±0.006b <sub>3</sub>	0.037±0.007b <sub>3</sub>	
			10	-	2	-	-	-	-	-	2	3.25±0.006b <sub>3</sub>	0.035±0.008b <sub>3</sub>	
			12	-	1	-	-	-	-	-	4	4.25±0.004b <sub>3</sub>	0.042±0.004b <sub>3</sub>	
		55	11	5	2	-	1	-	-	2	5.25±0.008b <sub>3</sub>	0.05±0.009b <sub>3</sub>		

B': Kromatid kırığı, B'': Kromozom kırığı, F': kromozom tipiFragmant, KD: Kromatid değişimi, ER: endoreduplikasyon. F': kromatid tipiFragmant, KKB: Kardeş kromatid birleşmesi (sister union), P: Poliploidi.

a: Kontrol ile ; b: Pozitif kontrol ile karşılaştırılmada fark önemlidir. a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>: P < 0.05 a<sub>2</sub>b<sub>2</sub>: P < 0.01 a<sub>3</sub>b<sub>3</sub>: P < 0.001

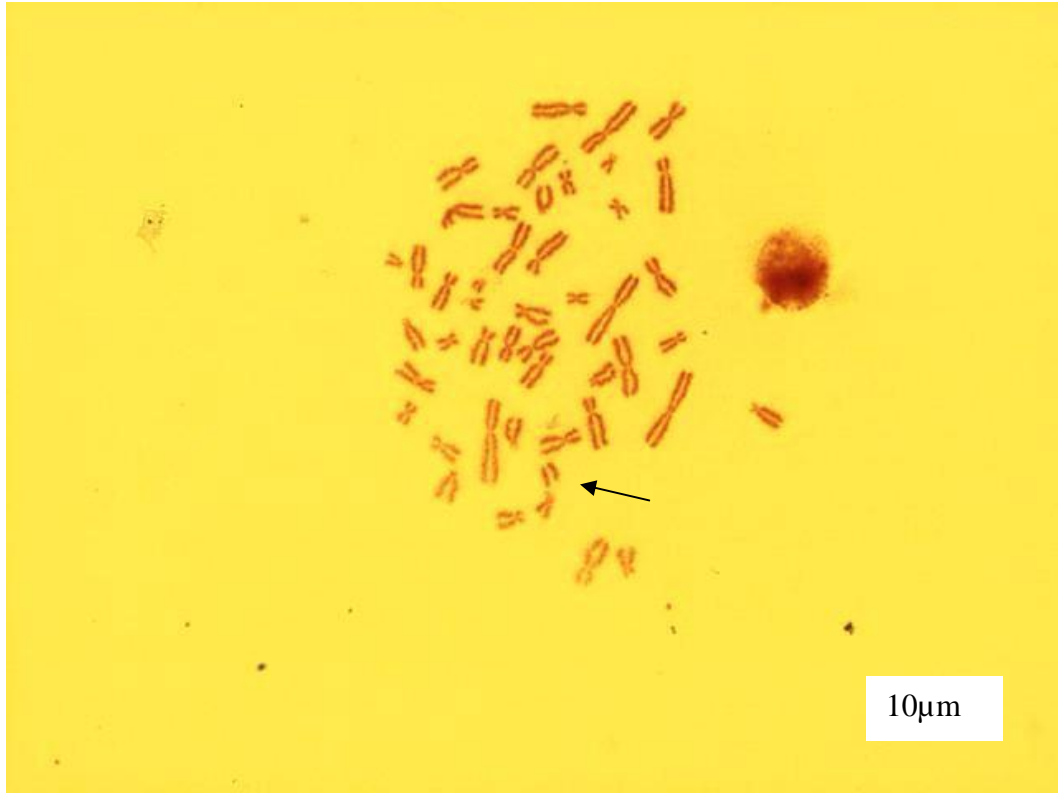
\* 354 hücre incelendi \*\* 305 hücre incelendi \*\*\* 374 hücre incelendi \*\*\*\* 376 hücre incelendi.



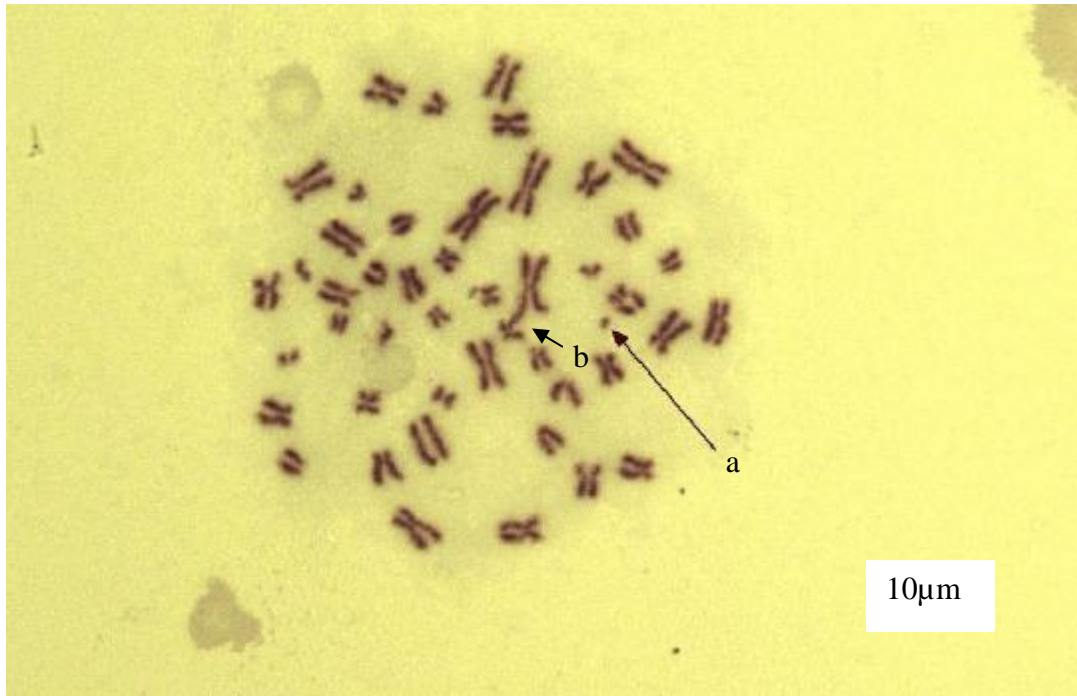
Şekil 4.5. Kromatid kırığı (B') bulunan metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.



Şekil 4.6. Kromozom kırığı (B'') bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.



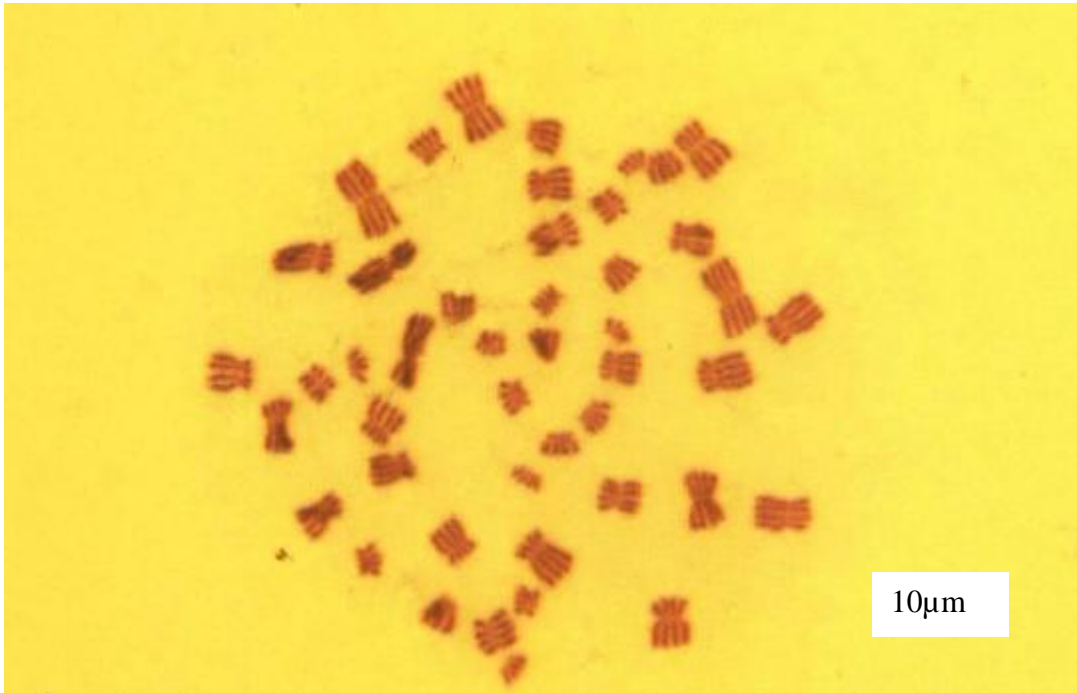
Şekil 4.7. Kromozom fragmenti (F) bulunan metafaz plağı (25 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.



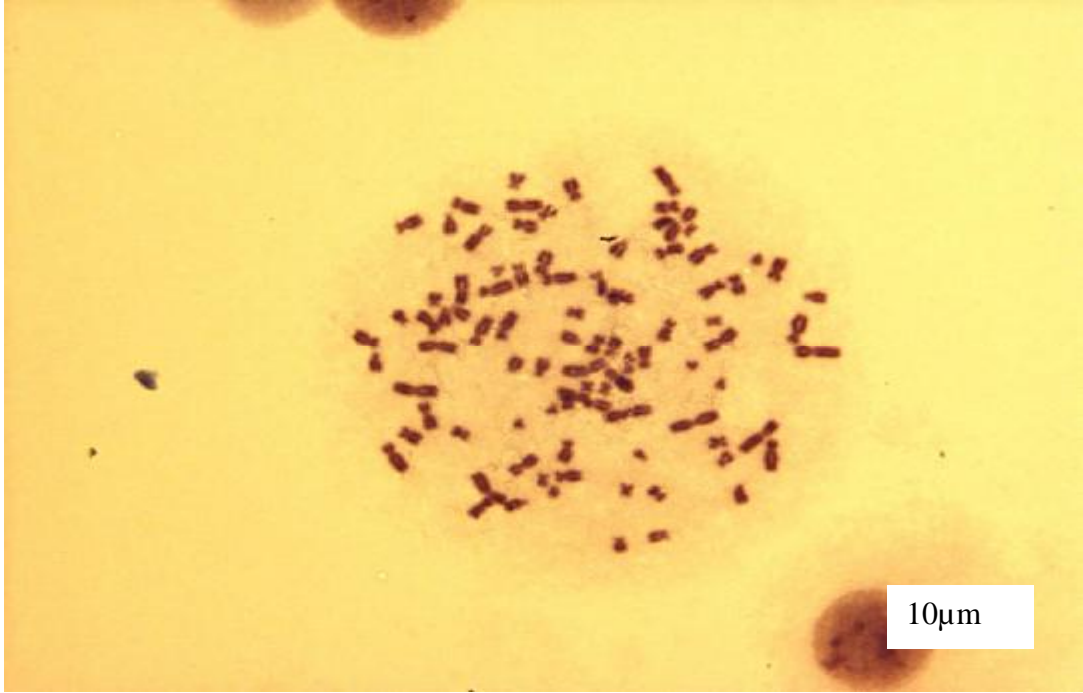
Şekil 4.8. Kromatid tipi fragment (F) (a) ve kromatid değişimi (KD) (b) bulunan metafaz plağı (20µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.



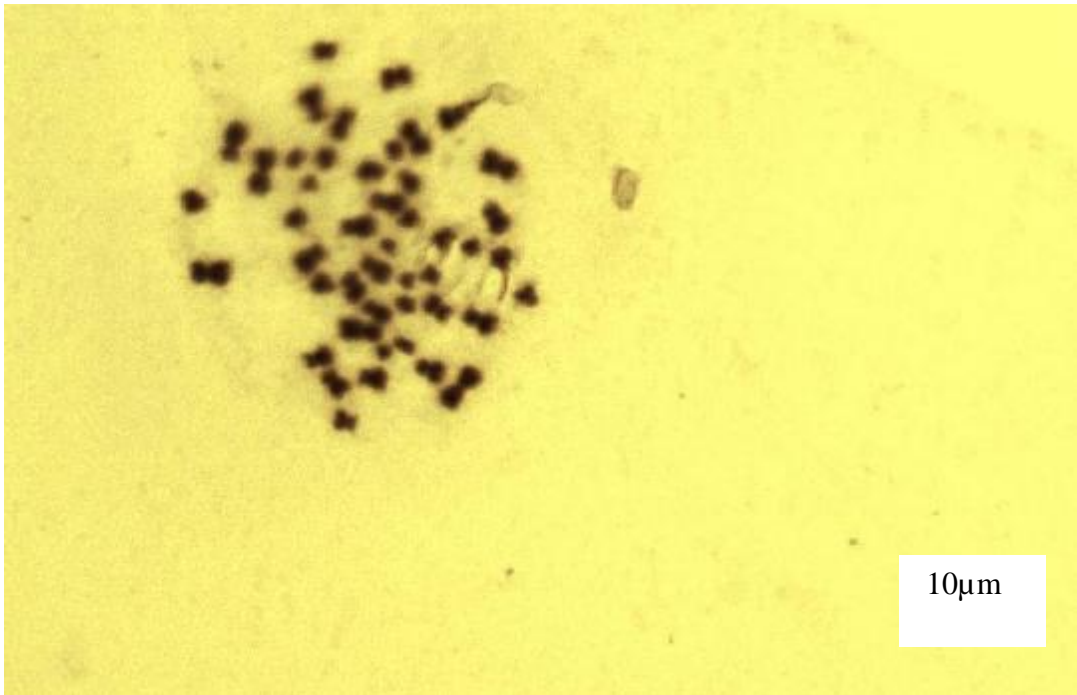
Şekil 4.9. Kardeş kromatid birleşmesi (KKB= Sister Union) bulunan metafaz plağı (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.



Şekil 4.10. Endoreduplikasyonlu kromozomlara sahip metafaz plağı (10 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.



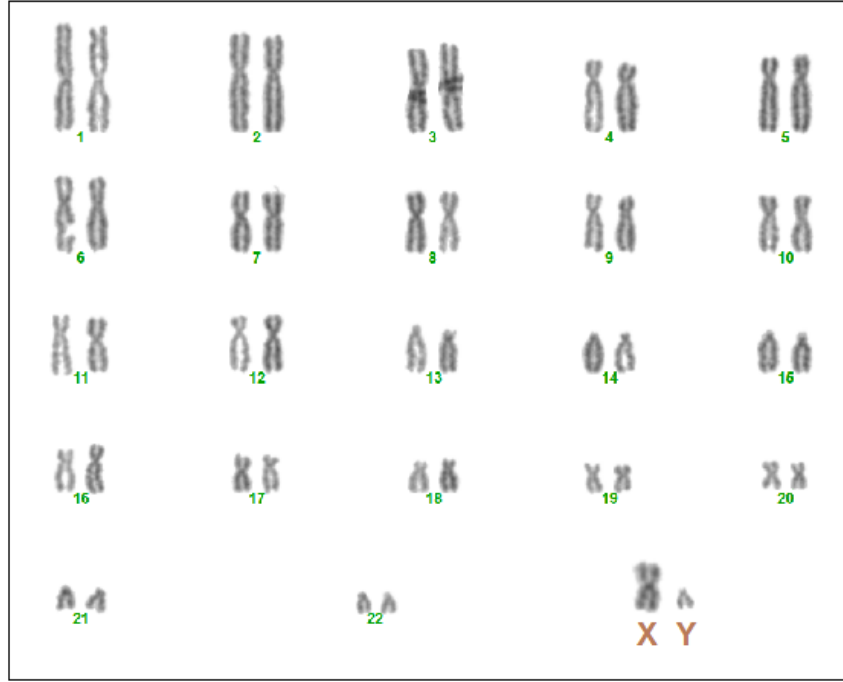
Şekil 4.11. Poliploid hücre kromozomları (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♂). X1000.



Şekil 4.12. Kontraksiyonlu kromozomlara sahip metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♀). X1000.

#### **4.1.3. Kromozom Anormallikleri Farklı Kromozomlara Ait Olup Olmadığının Karyogram Yapılarak Araştırılması**

Yaptığımız bu araştırmada kromozomlardaki yapısal anormalliklerin hangi kromozomlarda oluştuğunu araştırmak için bazı aberasyonlu metafazların karyogramı yapılmıştır. Karyogram sonucunda yapısal kromozom aberasyonlarının farklı kromozomlarda meydana geldiği saptanmıştır (Şekil 4.13), (Şekil 4.14), (Şekil 4.15) ve (Şekil 4.16).

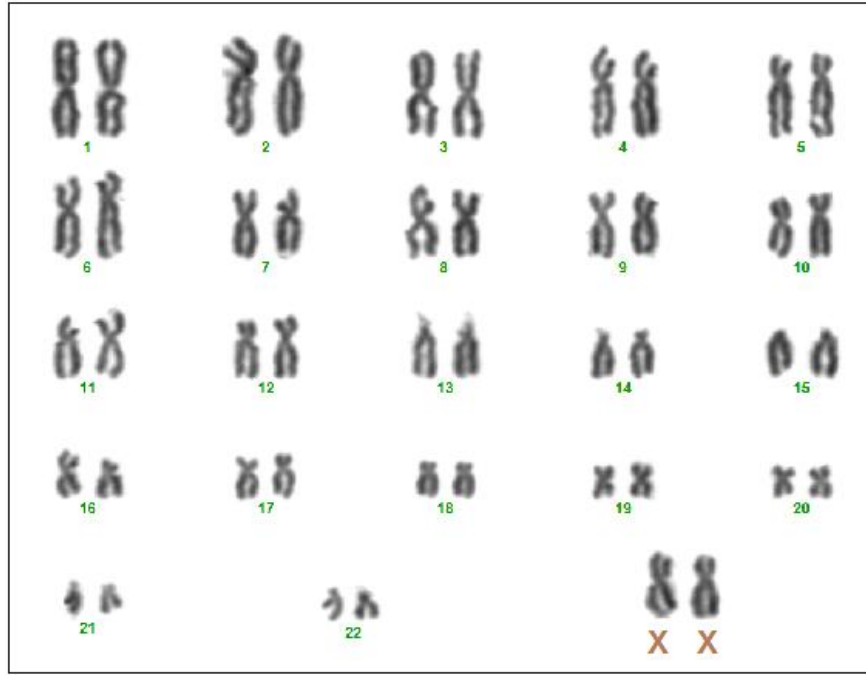


A

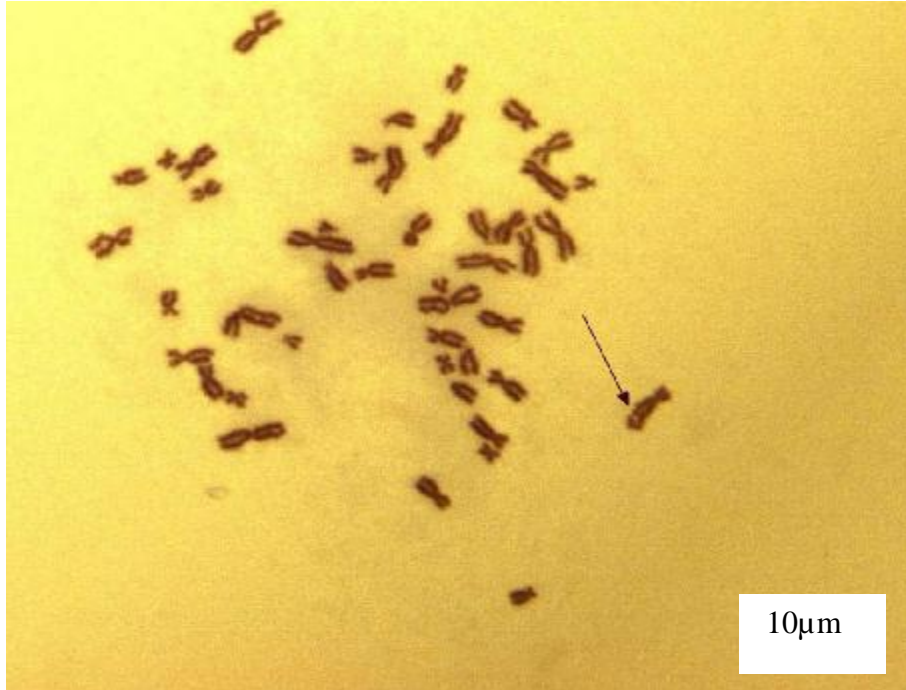


B

Şekil 4.13. A- 6. kromozomun birinde kromatid kırığı, B- A' daki karyogramın metafaz plağı (40µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♂). X1000.

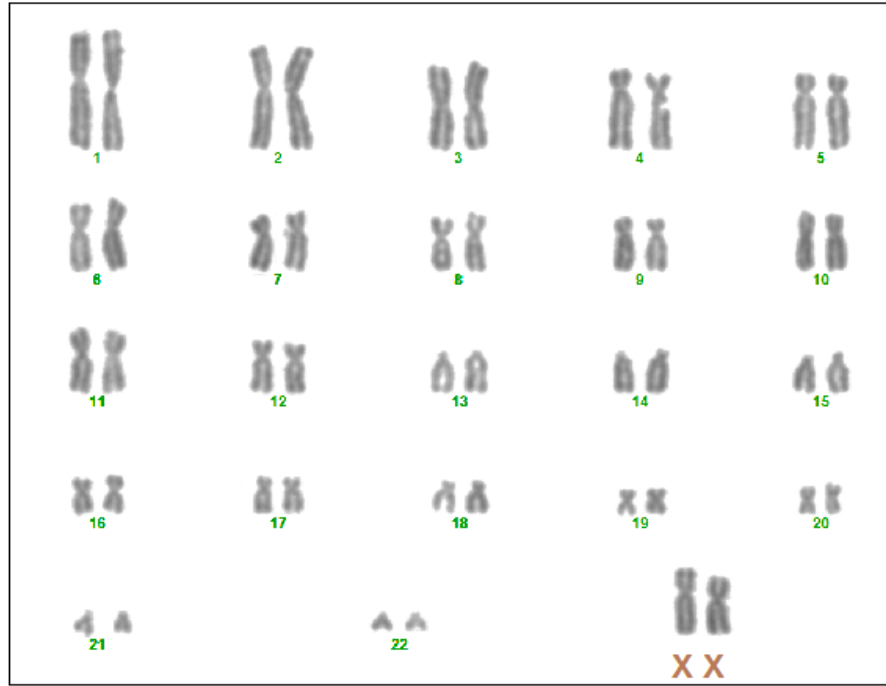


A



B

Şekil 4. 14. A- 5. kromozomun birinde kromatid kırığı (B'), B- A' daki karyogramın metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♀). X1000.

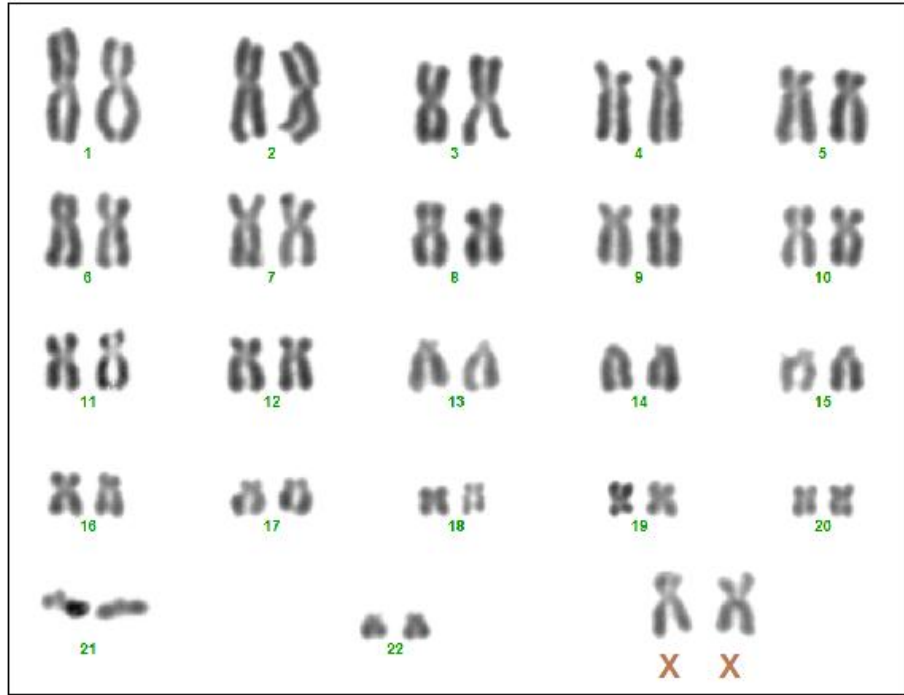


A

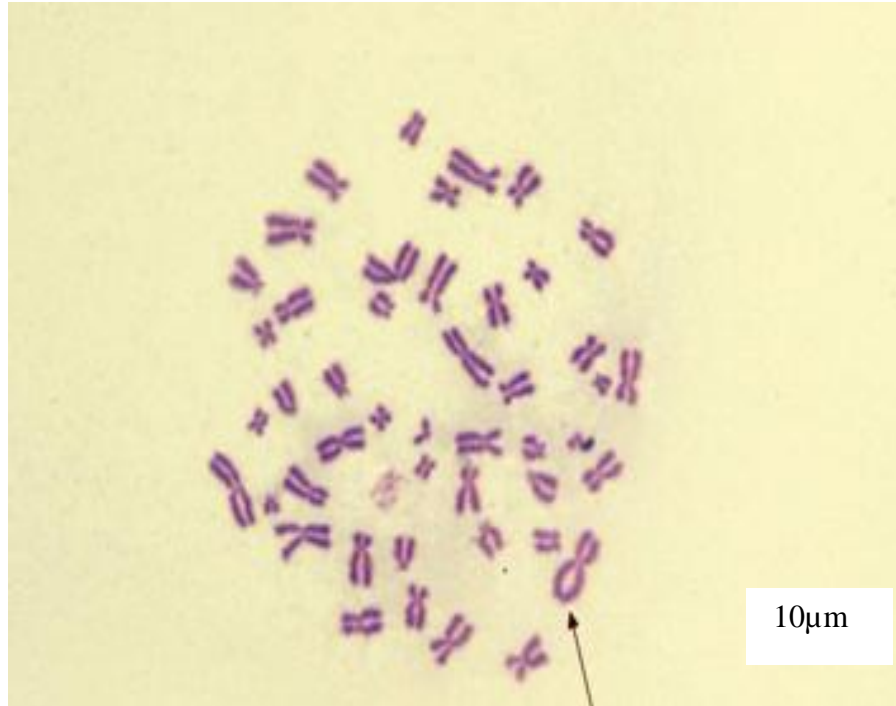


B

Şekil 4. 15. A- 4. Kromozomun birinde kromatid kırığı (B'), B- A' daki karyogramın metafaz plağı (55 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 48 saatlik muamele, ♀). X1000.



A



B

Şekil 4. 16. A- Birinci kromozomun birinde kardeş kromatid birleşmesi (KKB), B-A' daki karyogramın metafaz plağı (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.

#### 4. 1. 4. Remeron (Mirtazapin)'un DNA Replikasyonu ve Mitoz Bölünmesi Üzerindeki Etkisi

Remeron (Mirtazapin)'un, DNA replikasyonunda etkisi, proliferasyon indeksi (PI) (replikasyon indeksi=RI) 'nin, mitoz bölünme üzerindeki etkisinde mitotik indeks (MI)'in saptanmasıyla belirlenmiştir (Çizelge 4.3 ).

Dört farklı konsantrasyonda (10, 25, 40 ve 55µg/ml) Remeron ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferik lenfositlerinde PI ve MI Çizelge 4.3.'de gösterilmektedir.

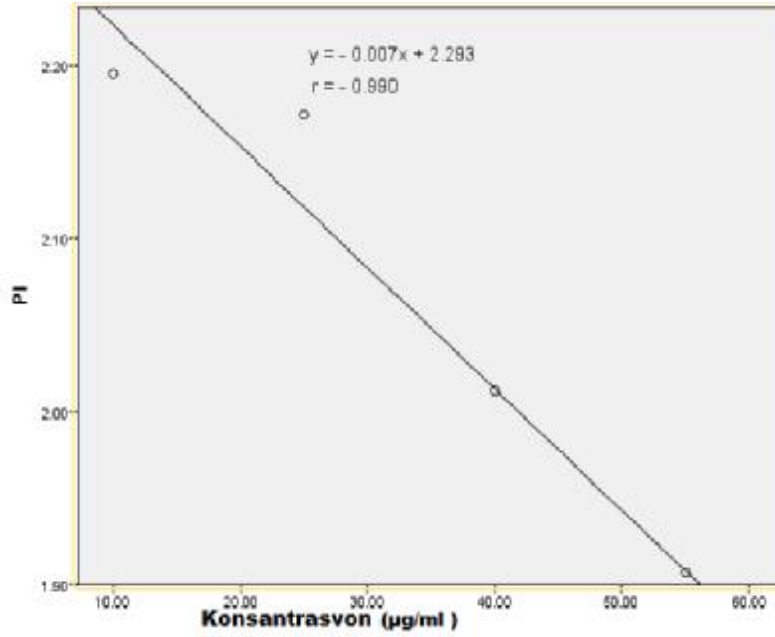
Remeron (Mirtazapin) ile 24 saat muamele edilen kültürlerde sadece 40 ve 55µg/ml konsantrasyonlarında, 48 saatlik muamelede ise tüm konsantrasyonlarda proliferasyon indeksinin önemli derecede düştüğü saptanmıştır (Çizelge 4.3). 24 ve 48 saatlik Remeron ile muamele edilen kültürlerde PI' deki düşüş konsantrasyona bağlı bir durum göstermiştir (Şekil 4.17 ve Şekil 4.18).

Ayrıca Remeron (Mirtazapin)' un mitoz bölünme üzerindeki etkisi mitotik indeksinin saptanmasıyla araştırılmıştır. Bizim araştırmamızın sonucunda 24 saatlik muamelede bir konsantrasyon hariç (25µg/ml) diğer üç konsantrasyonda ve 48 saatlik muamelelerde tüm konsantrasyonlarda MI'nın önemli derecede düştüğü saptanmıştır (Çizelge 4.3 ). Bu düşüş 24 saatlik muamelede konsantrasyona bağlı durum göstermiştir (Şekil 4.19).

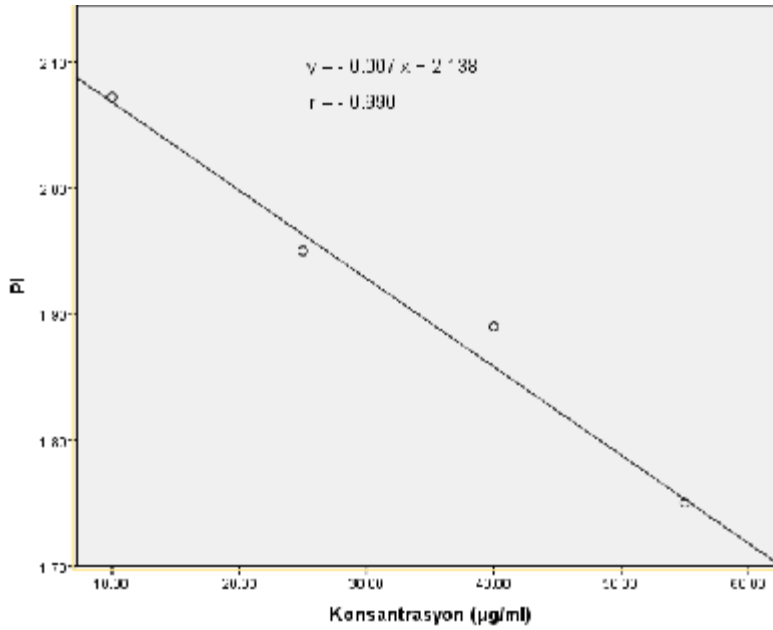
Çizelge 4.3. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 ve 48 Saat Muamele Edilen İnsan Periferal Lenfositlerinde Proliferasyon İndeksi (PI) ve Mitotik İndeks (MI).

Test Maddesi	Muamele		M1	M2	M3	PI±SH	MI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)					
<b>Kontrol</b>	--	--	76	110	214	2.345±0.138	5.957±0.495
<b>MMC (PK)</b>	24	0.15	167	180	53	1.715±0.113 a <sub>1</sub>	1.825±0.121 a <sub>3</sub>
<b>Remeron</b>	24	10	88	146	166	2.195±0.062 b <sub>2</sub>	4.905±0.257 a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>
		25	87	159	154	2.167± 0.068 b <sub>2</sub>	4.716±0.417 b <sub>2</sub>
		40	96	208	96	2.000±0.058 a <sub>1</sub>	4.300±0.424 a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>
		55	122	193	85	1.907± 0.088 a <sub>1</sub>	4.024±0.473 a <sub>1</sub> b <sub>1</sub>
<b>MMC (PK)</b>	48	0.15	306	82	12	1.265± 0.067 a <sub>3</sub>	1.249±0.130 a <sub>3</sub>
<b>Remeron</b>	48	10	115	141	144	2.047±0.053 a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	4.054±0.282 a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>
		25	129	162	109	1.95 ±0.07 a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	3.700±0.394 a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>
		40	152	139	109	1.892±0.052 a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>	4.00±0.304 a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>
		55	175	162	63	1.72±0.158 a <sub>1</sub>	3.489±0.192 a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>

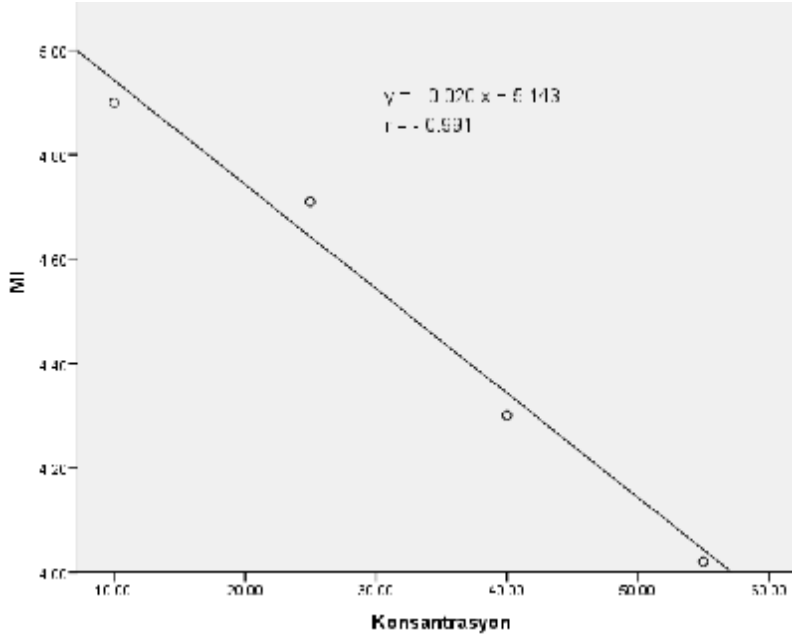
a: Kontrol ile; b: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.  
a<sub>1</sub>b<sub>1</sub> : P≤0.05 a<sub>2</sub>b<sub>2</sub> : P≤0.01 a<sub>3</sub>b<sub>3</sub> : P≤0.001



Şekil 4.17. Farklı konsantrasyonlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde PI'nin konsantrasyona bağlı düştüğünü gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı ( $P < 0.009$ ).



Şekil 4.18. Farklı konsantrasyonlarda Remeron (Mirtazapin) ile 48 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde PI'nin konsantrasyona bağlı düştüğünü gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı ( $P < 0.032$ ).



Şekil 4.19. Farklı konsantrasyonlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 saat muamele edilen insan periferel lenfositlerinde MI'nin konsantrasyona bağlı düştüğünü gösteren regresyon doğrusu ve korelasyon katsayısı ( $P < 0.009$ ).

#### 4. 1. 5. Remeron (Mirtazapin)'un Mikronukleus (MN) Oluşumu ve Nukleus Bölünmesine Etkisi

Dört farklı konsantrasyondaki Remeron (Mirtazapin) (10, 25, 40 ve 55µg/ml) ile 24 ve 48 saat muamele edilen insan periferel kan lenfositlerinde Remeron'un mikronukleus oluşumu ve nukleus bölünmesi üzerindeki etkisini açıklayan sonuçlar Çizelge 4.4.'de gösterilmektedir.

Remeron (Mirtazapin), 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde MN oluşumunu genel olarak artırmış fakat bu artış istatistik olarak önemli bulunmamıştır. Ancak 24 saatlik muamelelerin 40 µg/ml konsantrasyonunda MN'lu hücre oluşumunda istatistik bakımdan önemli bir artış vardır. Remeron (Mirtazapin) her ne kadar MN oluşumunu önemli derecede uyarırsa da Remeron (Mirtazapin) ile muamele edilen kültürlerin binükleer hücrelerinde değişik sayıda mikronukleuslara rastlanmıştır (Şekil 4.20 ve Şekil 4.21).

Remeron (Mirtazapin)'un nukleus bölünmesindeki etkisi nukleus bölünme indeksi (NBI) bulunarak saptanmıştır. Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele

süresinde en düşük konsantrasyon hariç , diğer tüm konsantrasyonlarda, 48 saatlik muamelede ise tüm konsantrasyonlarda NBI' nın önemli derecede düşmesine yol açmıştır (Çizelge 4.4.).

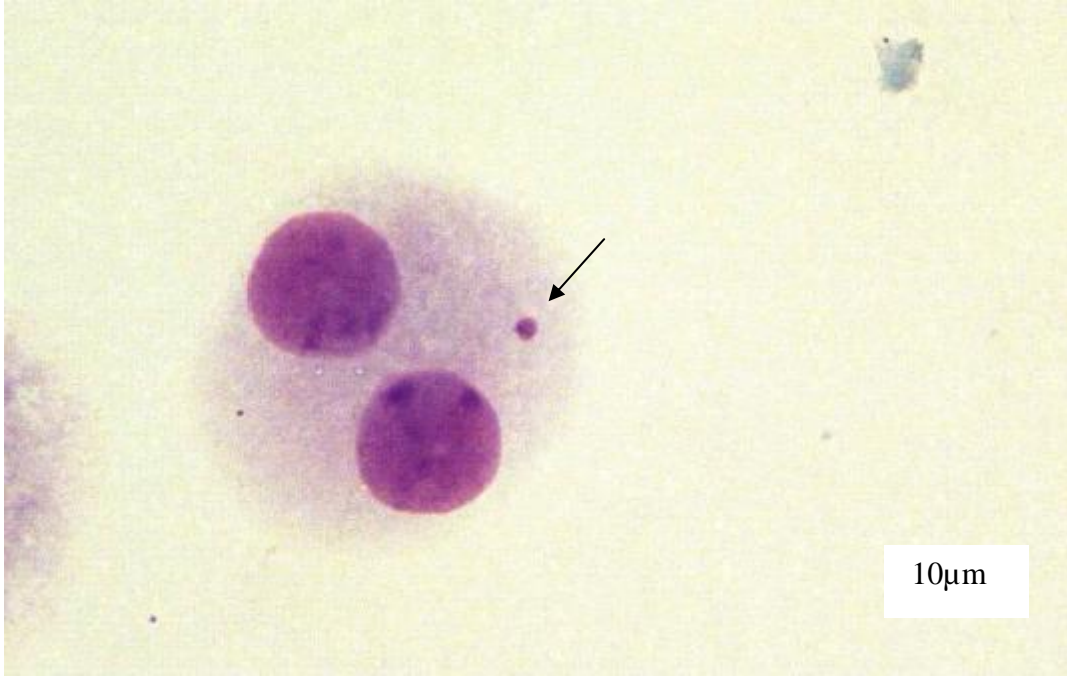
Çizelge 4. 4. Farklı Dozlarda Remeron (Mirtazapin) ile 24 ve 48 Saat Muamele Yapılan İnsan Periferel Kan Lenfositlerinde Mikronukleuslu Binukleuslu Hücre % si ve NBI .

Test Maddesi	Muamele		MN' li iki Nukleuslu Hücrelerin % si	MN oranı( %)	Nukleus Sayısına Göre Hücrelerin Dağılımı				NBI±SH
	Süre (saat)	Kons. (µg/ml)			1	2	3	4	
Kontrol	--	--	0.65±0.06	0.65±0.0006	2870	786	193	151	1.396±0.059
MMC (PK)	24	0.15	3.47±0.32 a <sub>2</sub>	3.90.0027 a <sub>3</sub>	3469	450	67	14	1.156±0.007 a <sub>3</sub>
Remeron	24	10	0.775±2.07 b <sub>3</sub>	0.975±0.002 b <sub>3</sub>	2978	755	181	86	1.343±0.041 b <sub>1</sub>
		25	0.675±0.11 b <sub>3</sub>	0.775±0.0009 b <sub>3</sub>	2917	847	159	77	1.349±0.011 a <sub>2</sub> b <sub>3</sub>
		40*	0.825±0.02 a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	0.875±0.0004 a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>	3033	786	112	57	1.296±0.019 a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>
		55	0.700±0.12 b <sub>3</sub>	0.850±0.0012 b <sub>3</sub>	3058	818	81	43	1.277±0.015 a <sub>2</sub> b <sub>2</sub>
MMC (PK)	48	0.15	6.675±1.43 a <sub>3</sub>	0.7.825±0.0053 a <sub>3</sub>	3634	346	20	0	1.096±0.002 a <sub>3</sub>
Remeron	48	10	0.700±0.10 b <sub>3</sub>	0.975±0.0025 b <sub>3</sub>	2857	846	202	95	1.383±0.008 a <sub>1</sub> b <sub>3</sub>
		25	0.775±0.19 b <sub>3</sub>	0.925±0.0025 b <sub>3</sub>	2916	886	145	53	1.333±0.008 a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>
		40	0.825±0.17 b <sub>3</sub>	0.950±0.0023 b <sub>3</sub>	3108	785	71	36	1.258±0.006 a <sub>3</sub> b <sub>3</sub>
		55	0.775±0.08 b <sub>3</sub>	0.85±0.0008 b <sub>3</sub>	3025	863	77	35	1.280±0.031 a <sub>1</sub> b <sub>2</sub>

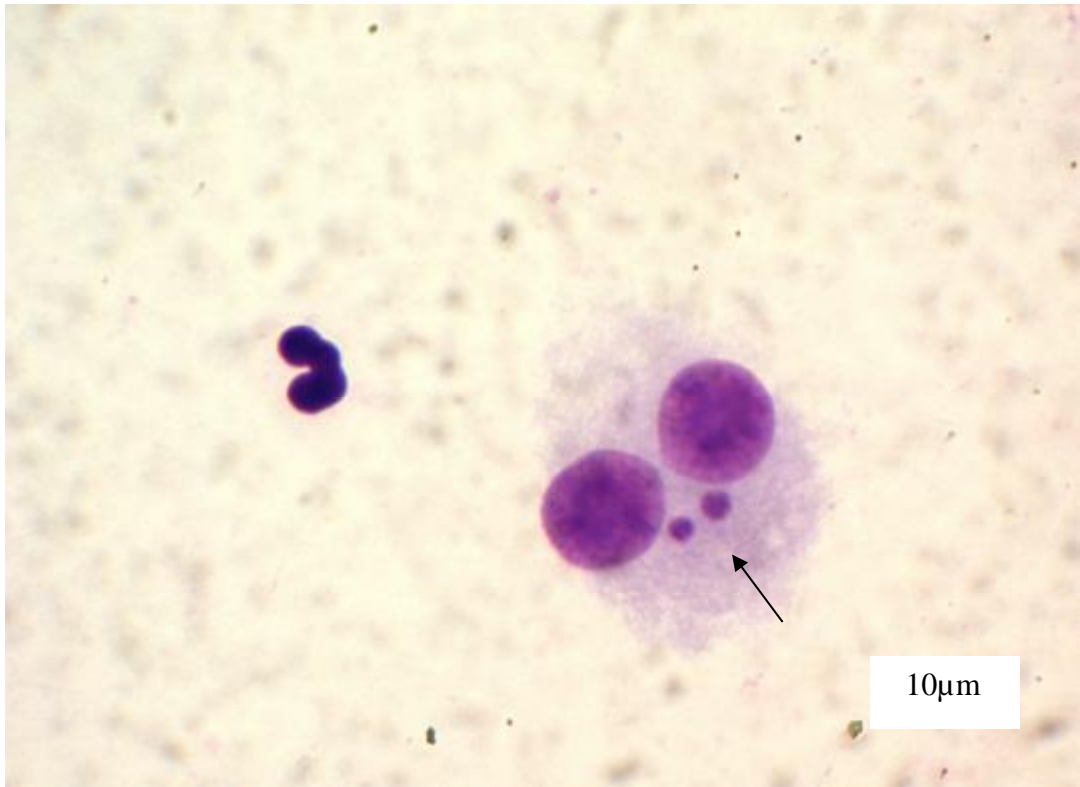
a: Kontrol ile; b: Pozitif Kontrol ile aradaki fark önemlidir.

a<sub>1</sub>b<sub>1</sub>: P≤0.05 a<sub>2</sub>b<sub>2</sub>: P≤0.01 a<sub>3</sub>b<sub>3</sub>: P≤0.001

\*3988 hücre incelenmiştir.



Şekil 4.20. Bir mikronukleus içeren iki nukleuslu hücre (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♀). X1000.



Şekil 4. 21. İki mikronukleus içeren iki nukleuslu hücre (40 µg/ml Remeron (Mirtazapin), 24 saatlik muamele, ♂). X1000.

## 4. 2. Tartışma

### 4. 2. 1. Remeron (Mirtazapin)' un İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Kardeş Kromatid Değişimi Üzerindeki (KKD) Etkisi

Bugüne kadar test maddesi olarak kullanılan Remeron (Mirtazapin) 'un genotoksik etkisini belirleme ile ilgili herhangi bir KKD çalışmasına rastlanmamıştır. Bu çalışmada, Remeron (Mirtazapin), insan periferal kan lenfositlerinde KKD' yi uyarmadığı belirlenmiştir. Brambilla ve ark. (1982)' *in vivo* bir çalışmada sıçan kemik iliği hücrelerinde Fluoksetin' in KKD' ye neden olmadığını saptamışlardır. Başka bir çalışmada Ponsa ve ark. (2009), hiperaktif hastalarda Methylphenidat' ın genotoksik olup olmadığını KKD yöntemi ile araştırmışlardır. Bu araştırmada 12 çocuk ve 7 yetişkin hiperaktif hastanın (Methylphenidat kullananların ve kullanmayanların) KKD'si arasında önemli derecede fark olmadığı belirlenmiştir. Bu araştırmacıların aldıkları sonuçlar bizim sonuçlarımız ile uygunluk göstermektedir.

Dündaröz ve ark. (1999), Fluoksetin kullanan bayan hastaların periferik kan lenfositlerinde kardeş kromatid değişimi (KKD) yöntemi ile genotoksik riski araştırmışlar ve Fluoksetin'in KKD' yi kontrol grubuna nazaran uyardığı saptanmıştır. Bu araştırmanın sonuçlarının bizim çalışmadan farklılık gösterme nedeni Fluoksetin 'in uzun süreli (6-18 ay) kullanılmasından dolayı olabilir. Farklı bir çalışmada Saxena ve Ahuja (1988), İmipramin 'in insan lenfositlerinde genotoksik olup olmadığını KKD testi ile araştırmışlardır ve sonuçta bu ilacın yüksek dozlarda kardeş kromatid değişimi (KKD) frekansını arttığını bulmuşlardır. Bu sonuçların bizim sonuçlar ile farklılık gösterme nedeni Remeron (Mirtazapin)' un İmipramin ilacına göre farklı kimyasal yapıya sahip olmasından kaynaklanabilir. Başka bir çalışmada Bozkurt ve ark. (2004), Sertralin' in KKD' yi uyarmadığını 10 ay boyunca Sertralin kullanan majör depresyon'lu hastaların periferik kan lenfositlerinde araştırmışlardır. Sonuçta ilaç kullanan hastalarda saptanan ortalama KKD sayısı ile ilaç kullanmayan kontrol grubundaki KKD sayıları arasında önemli bir farkın olduğu saptanmıştır. Bu çalışmanın sonucunun bizim

çalışmamızın sonuçlarından farklı olmasının nedeni test maddesinin farklı ve uzun süre kullanılması olabilir.

#### 4. 2. 2. Remeron (Mirtazapin)' un İnsan Periferal Kan Lenfositlerinde Kromozom Aberasyonu Oluşumu Üzerinde Etkileri

Bu güne kadar test maddesi olarak kullanılan Remeron (Mirtazapin)' un genotoksik etkisi ile ilgili olarak herhangi bir KA çalışması bulunmamıştır. Bu çalışmada, Remeron (Mirtazapin), insan periferal lenfositlerinin kromozomlarında meydana gelen anormalliklerin çoğu kromatid tipi kırık olduğu fakat bu anormalliklerin istatistiksel olarak önemli olmadığı tespit edilmiştir. Fu ve ark. (1978) , İmipramin ile tedavi olan hastalarda bu ilacın genotoksik olup olmadığını kromozom aberasyonu (KA) yöntemi ile araştırmışlardır. Sonuçta İmipramin 'in kromozom aberasyonunu arttırmadığı belirlenmiştir. Başka bir çalışmada Green (2003), Paroksetin' in genotoksik etkisi olup olmadığını *in vivo* olarak fare kemik iliğinde ve *in vitro* olarak da insan periferal lenfositlerinde kromozom aberasyonu testi ile araştırmış ve bu araştırmanın sonucunda Paroksetinin' in genotoksik etkiye sahip olmadığını açıklamıştır. Başka bir çalışmada Bozkurt ve ark. (2004), Sertralin' in genotoksik etkisini KA yöntemi ile majör depresyon hastalar (10 ay boyunca Sertralin kullanan hastalar) ve sağlıklı insanlardan (Sertralin kullanmayanlar) alınan sonuçları karşılaştırarak araştırmışlar ve bu ilacın kromozom aberasyonunu uyaradığını belirlemişlerdir. Başka bir çalışmada Suter ve ark. (2005), Methylphenidat' ın genotoksik etkiye sahip olup olmadığını insan periferal lenfositlerinde KA testi ile araştırmışlar ve sonuçta bu ilacın KA' yı arttırmadığını saptamışlardır. Ayrıca Pereira ve ark. (2009) Duloksetin' in genotoksik olup olmadığını beyin dokusundaki ve kandaki DNA hasarlarını comet testi ile araştırmışlardır. Sonuçta Duloksetin' nin genotoksik etkisi olmadığı ortaya çıkmıştır. Bu çalışmaların sonuçları ile bizim çalışmaların sonucu aynı yöndedir.

Başka bir çalışmada Dündaröz ve ark. (1999), İmipramin ile tedavi olan istemsiz idrar kaçıran hastalarda İmipramin' in genotoksitesini comet testi ile araştırmışlardır. Bu araştırmanın sonucunda İmipramin' in DNA' ya hasar verdiği

tespit edilmiştir. Bu sonucun bizim sonuçlar ile farklılık göstermesinin nedeni İmipramin'in bizim test maddesinden farklı kimyasal yapıya sahip olması ve çalışmanın *in vivo* olarak yapılması olabilir.

Brambilla ve ark. (1982) başka bir çalışmada alkalın elüsyon testi ile Fenelzin, İzokarboksazid ve Nialamid 'in fare karaciğer ve akciğer hücrelerinde DNA kırılmalarına neden olduklarını saptamışlardır. Bu çalışma ile bizim çalışmanın sonuçlarının farklılık göstermesinin nedeni kullandığımız test maddesinin farklı olmasından kaynaklanmaktadır. Halbuki aynı araştırmacılar İproniazid'in DNA hasarını uyarmadığını belirlemişlerdir.

Görüldüğü gibi farklı antidepresanlarla yapılan çalışmalarda farklı sonuçlar alınmıştır. Ancak bizim ve başka araştırmacıların sonuçlarındanda anlaşıldığı gibi antidepresanlar genel olarak kromozom aberasyonuna yol açmamaktadır. Fakat bazıları da DNA'da kırıklara neden olmaktadır. Bu durum tedavi için kullanılan ilaçların farklı genotoksisite testleri ile genotoksik olup olmadıklarının saptanması gerektiğini ortaya koymaktadır.

#### 4. 2. 3. Remeron (Mirtazapin)' un Mikronukleus (MN) Oluşumunda Etkileri

Bu çalışmada test maddesi olarak kullanılan Remeron (Mirtazapin)'un MN oluşumu üzerindeki etkilerini araştıran bir çalışmaya bugüne kadar rastlanmamıştır. Remeron (Mirtazapin) 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde insan periferallenfositlerinde genel olarak mikronukleus oluşumunu uyarmamıştır. Suter ve ark. (2005), Methylphenidat ile yapmış oldukları *in vivo* bir çalışmada Methylphenidat'ın genotoksik etkisini sıçan kemik iliğinde araştırmışlardır ve sonuç olarak bu ilacın MN' yi artırmadığı saptanmıştır. Başka bir çalışmada Ponsa ve ark. (2009), hiperaktif hastalarda Methylphenidat'ın genotoksik ve sitotoksik etkisini araştırmışlar ve araştırmacılar Methylphenidat'ın MN testinin sonuçlarına göre herhangi bir genotoksik etkiye sahip olmadığını belirlemişlerdir. Farklı bir çalışmada Parkinson hastalığı ve depresyon tedavisinde kullanılan Selejlin hidroklorid ile yapılan *in vivo* bir çalışmada sıçan kemik iliğinde mikronukleus testi ile bu ilacın klastojenik ve sitotoksik potansiyeli Subramanya ve ark. (1993) tarafından

araştırılmış ve sonuçlar bu ilacın test edilen dozlarda mikronukleus oluşumunu uyardığını göstermiştir. Bu çalışmaların sonuçları bizim çalışmanın sonuçları ile uygunluk göstermektedir.

Madrigal-Bujaidar ve ark. (2008), İmipramin' in mikronukleus oluşumunda etkisinin olup olmadığını *in vivo* olarak farelerde araştırmışlar ve sonuç olarak bu çalışmada İmipramin'in mikronukleuslu polikromatik eritrosit (MNPE) ve mikronukleuslu normokromatik eritrosit (MNNE) oluşumunu arttırdığını saptamışlardır. Bu çalışmanın sonuçları ile bizim sonuçların farklılık gösterme nedeni test maddesinin farklı olması ve *in vivo* çalışma yapılmasından kaynaklanmaktadır. Zira Dünderöz ve ark. (1999) 'da *in vivo* çalışmada aynı test maddesinin DNA'da kırık meydana getirdiğini comet testi ile belirlemişlerdir. Bu sonuçlar test maddesinin DNA'da kırık meydana getirmesi ile MN uyarması arasında da bir ilişkinin olduğunu göstermektedir.

#### **4. 2. 4. Remeron (Mirtazapin)' un Hücre Proliferasyonu, Mitoz Bölünme ve Nukleus Bölünmesi Üzerindeki Etkileri**

Bu çalışmada Remeron (Mirtazapim)' un sitotoksik etkisi insan periferel kan lenfositlerinde proliferasyon indeksi (PI), mitotik indeksi (MI) ve nukleus bölünme indeksi (NBI)'nin saptanması ile belirlenmiştir. Bu çalışmada Remeron (Mirtazapin) 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinde PI'yı konsantrasyona bağlı olarak düşürmüştür. Remeron 24 saatlik muamele süresinde MI'nin konsantrasyona bağlı olarak, 48 saatlik muamele süresinde ise tüm konsantrasyonlarda kontrole nazaran düşmesine neden olmuştur. Nukleus bölünme indeksindeki (NBI) düşüş de MI'deki düşüşe benzemektedir. Sonuç olarak Remeron insan periferel lenfositleri üzerinde sitotoksik etki göstermiştir.

Tutton ve Barka (1982), Fluoksetin' in hücre proliferasyonu ve tümör gelişimi üzerine etkisini araştırmışlar ve kolon tümöründe hücre bölünmesini baskıladığı ve insan kolon tümörünün gelişimini 3'te 2 oranında yavaşlattığını saptamışlardır. Farklı bir çalışmada Fu ve ark. (1978), İmipramin ile tedavi olan hastalarda bu ilacın etkisini araştırmışlardır. Sonuçta İmipramin 'in hücre

proliferasyonunu düşürdüğü saptanmıştır. Başka bir çalışmada Abdul ve ark. (1995), Fluoksetin'in etkisini prostat kanseri hücrelerinde araştırmışlar ve sonuçta Fluoksetin konsantrasyona bağlı olarak prostat kanser hücrelerinin proliferasyonunu engellediğini belirlemişlerdir. Farklı bir çalışmada Spanova ve ark. (1997), Paroksetin' in sıçan glioblastoma ve insan nöroblastoma hücrelerinde etkisini çalışmışlar ve bu çalışmanın sonunda Paroksetin' in apoptozisi uyardığı ortaya çıkmıştır. Farklı bir çalışmada Moorman ve ark. (2003), antidepressanların kullanması ile göğüs kanseri arasındaki ilişkiyi araştırmışlardır. Bu çalışma seçici serotonin geri alım inhibitörü kullanan hastalarda yapılmış olup bu gruptaki antidepressan kullanımı ile göğüs kanseri riski arasında bir ilişkinin olmadığı saptanmıştır. Başka bir çalışmada Hanna ve ark. (2004), Escitalopram (cipralext) ' in sitotoksitesini sıçanlarda araştırmışlardır ve Escitalopram (cipralext) ' in doza bağlı olarak önemli derecede sitotoksik etkisinin olduğunu saptamışlardır. Başka bir çalışmada Rosetti ve ark. (2006) Paroksetin' in kanser hücreleri üzerindeki sitotoksitesini araştırmışlardır. Bu çalışma Paroksetin' in çeşitli kemirici ve insan kanser hücre kültürlerinin büyümesini engelleme yeteneklerini belirlemek için yapılmıştır. Bu çalışmanın sonucunda Paroksetin'in kemirici ve insan orijinli tümör hücrelerinde sitotoksik olduğu ortaya çıkmıştır. Chou ve ark. (2008), farklı bir çalışmada Paroksetin' in etkisini insan osteosarkoma hücrelerinde araştırmışlardır. Çalışmanın sonucunda Paroksetin, konsantrasyon ve zamana bağlı olarak hücrenin yaşam süresini azaltmıştır. Bu araştırmacıların aldıkları sonuçlar bizim sonuçları desteklemektedir.

Saxena ve Ahuja (1988), İmipramin'in insan lenfosit hücrelerinde sitotoksik olup olmadığını araştırmışlardır. Sonuçta bu ilacın mitotik indeksi düşürmediğini belirlemişlerdir. Bu çalışmanın sonuçları bizim çalışmanın sonuçlarından farklılık göstermektedir. Bu farkın nedeni bu araştırmacıların düşük konsantrasyonlarda (50, 250, 1,000, and 10,000 ng/ml) yaptıkları deneyden dolayıdır. Yine aynı araştırmacılar, Amitriptilin' in sitotoksitesini *in vitro* olarak insan periferik kan lenfositlerinde çalışmışlardır. Araştırmacılar mitotik indeksin herhangi bir konsantrasyonda değişim göstermediğini bulmuşlardır. Bu çalışmanın sonucunun bizim çalışmanın sonucu ile fark göstermesinin nedeni, bu deneyin de düşük dozlarda (50, 250, 1,000, and 10,000

ng/ml) yapılmasından kaynaklanmaktadır.

Bu çalışma ve başka çalışmalardan alınan sonuçlar toplu olarak değerlendirilecek olursa çoğu antidepresanlar sitotoksik etki gösterirken bazıları ise böyle bir etkiye sahip değildir.

Bu araştırmanın sonuçlarına göre de Remeron (Mirtazapin)'un nükleotid sentezini veya DNA replikasyonunda rol oynayan enzimlerin aktivitelerini olumsuz yönde etkileyerek sitotoksik etki gösterdiğini söyleyebiliriz.



## 5.SONUÇ VE ÖNERİLER

Bizim yaptığımız çalışmada antidepresanlar gurubundan olan, Remeron (Mirtazapin)' un 24 ve 48 saatlik muamelelerde KKD'yi ve KA'yı uyarmadığı ve MN oluşumunu önemli derecede arttırmadığı saptanmıştır. Remeron (Mirtazapin)' un önemli derecede genotoksik risk taşımadığını açıklayabiliriz ama kesin bir sonuca ulaşabilmemiz için, bu ilacın başka genotoksisite testleri ile de genotoksik olup olmadığının araştırılması gerekir.

Bu çalışmada Remeron (Mirtazapin)' un sitotoksik etkisini insan periferel kan lenfositlerinde proliferasyon indeksi (PI), mitotik indeks (MI) ve nukleus bölünme indeksi (NBI)'nin saptanması ile belirlenmiştir. PI, MI ve NBI sonuçlarına göre Remeron (Mirtazapin) sitotoksiktir.

Başka araştırmacıların sonuçlarına göre de birçok antidepresanlar sitototoksik etkiye sahiptirler. Tüm sonuçlar göz önünde bulundurulacak olursa antidepresan kullanımında dikkatli olunması gerekir. Zira uzun süreli antidepresan kullanımı anemiye ve bağışıklık sisteminin de kısmen baskılanmasına yol açabilir.

Remeron (Mirtazapin) en yüksek dozda 48 saatlik muamele süresinde kromozom kontraksiyonuna neden olmuştur. Bu sonuçta Remeron'un C-mitotik etkisinin olabileceğinin işaretidir. Zira Kolşisin de kromozomlarda kontraksiyona neden olmaktadır.



## KAYNAKLAR

- ABDUL, M. LOGTHETIS, C. J. and HOOSEIN N. M., 1995. Growth-Inhibitory Effect of Serotonin Uptake Inhibitors on Human Prostate Carcinoma Cell Lines. *J Urol.*, 154 (1) : 247-250.
- ALBERTINI, R. J., ANDERSON, D., DOUGLAS, G. R., HAGMAR, L., HEMMINKI, K., MERLO, F., NATARAJAN, A. T., NORPPA, H., SHUKER, D. E. G., TICE, R., WATERS, M. D. and AITIO, A., 2000. IPCS Guidelines for The Monitoring of Genotoxic Effects of Carcinogens in Humans. *Mutation. Res.*, 463:111-172.
- ARIMOCHI, H. and MORITA, K., 2006. Characterization of cytotoxic actions of tricyclic antidepressants on human HT29 colon carcinoma cells. *European Journal of Pharmacology*, 541(1-2):17-23.
- BELOWSKI, D., KOWALSKI, J., MADEJ, A. and HERMAN, Z.S., 2004. Influence of antidepressant drugs on macrophage cytotoxic activity in rats. *Pol. J Pharmacol*, 56:837-842.
- BENDELE, R.A., ADAMS, E.R., HOFFMAN, W.P., GRIES, C.L. and MORTON, D.M., 1992. Carcinogenicity Studies of Fluoxetine Hydrochloride in Rats and Mice. *Cancer Res.*, 52, 6931-6935.
- BOFFETTA, P., VAN DER HEL, O., NORPPA, H., FABIONOVA, E., FUCIC, A., GUNDY, S., LAZUTKA, J., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., PUSKAILEROVA, D., ZNAOR, A., KELECSENYI, Z., JUOZAS, K., RACHTAN, J., FORNI, A., VERMEULAN, R. and BONASSI, S., 2006. Chromosomal Aberrations and Cancer Risk: Result of a Cohort Study from Central Europe. *American Journal of Epidemiology*, Johns Hopkins Bloomberg School of Public Health, U. S. A., DOI: 10.1093/aje/kwj367. p 1-10.
- BOZKURT, G., ABAY, E., ATEŞ, İ., KARABOĞAZ, G., TURE, M., OĞUZ-SAVRAN, F., PALANDÜZ, Ş., TEMOCIN, K. and ALGÜNEŞ, Ç., 2004. Clastogenicity of selective serotonin-reuptake inhibitors. *Mutation. Res.*, 558, 137-144.

- BRAMBILLA, G., CAVANNA, M., FAGGIN, P., PINO, A., ROBBIANO, L., BENNICELLI, C., ZANACCHI, P., CAMOIRANO, A. and DE FLORA, S., 1982. Genotoxic activity of five antidepressant hydrazines in a battery of in vivo and in vitro short-term tests. *J Toxicol. Environ. Health.*, 9(2):287-303.
- CARRANO, A.V., NATARAJAN A. T., 1988. Consideration for Population Monitoring Using Cytogenetic Techniques. *Mutation. Res.*, 204:379-406.
- CARRANO, A.V., THOMPSON, L.H., LINDI, P.A. and MINKLER, J.L., 1978. Sister Chromatid Exchanges As An Indicator Of Mutagenesis. *Nature.* 271, 551-553.
- CHOU, C.T., CHEN, W.C., HUANG, C.C., HUANG, C.J., CHIEN, J.M., LIN, K.L., LU, Y.C., CHEN, I.S., LIU, S.I., HSU, S.S., CHANG, H.T. and JAN, C.R., 2008. Mechanism of paroxetine-induced cell death in renal tubular cells. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 103(5): 407-413.
- ÇELİK A., 2006. The Assessment of Genotoxicity of Carbamazepine Using Cytokinesis-Block (CB) Micronucleus Assay in Cultured Human Blood Lymphocytes . *Drug and Chemical Toxicology.*, 29(2):227 – 236.
- DAVIES, T.S. and KLUWE, W.M., 1998. Preclinical toxicological evaluation of sertraline hydrochloride. *Drug Chem. Toxicol.*, 21(4):521-537.
- DENVER CONFERENCE, 1960. The identification of individual chromosomes especially in man. *American Journal of Human Genetics*, 12: 384–389.
- DÜNDARÖZ, R., ÇALIŞKANER, A.Z., TÜRKBAŞ, T., GÖK, F., DILBAZ, N. and BALTAÇI, V., 1999. Sister-Chromatid Exchange Analysis in Women Treated With Fluoxetine for Depression. *SDÜ Tıp Fakültesi Dergisi*, 6(4): 15-19.
- FENECH, M., 2002. Biomarkers of Genetic Damage for Cancer Epidemiology. *Toxicology*, 181: 411-416.

- FU, T., JARVIK, L.F., YEN, F., MATSUYAMA S.S., GLASSMAN, A. H., PEREL, J.M. and MALTIZ, S., 1978. Effects of Imipramine on Chromosomes in Psychiatric Patients. *Neuropsychobiology*, 4:113-120.
- FULTON-KEHOE, D., ROSSING, M.A., RUTTER, C., MANDELSON, M.T. and WEISS, N.S., 2006. Use of antidepressant medications in relation to the incidence of breast cancer. *British Journal of Cancer*, 94(7):1071-1078.,
- GREEN, B., 2003. Focus on Paroxetine. *Curr. Med. Res. Opin.*, 19(1):13-21
- HANNAA ,M., THANAA, M., SHOMAN, T., 2002. Cytogenetic and Developmental Effects of Antidepressant Drug (Cipralext) on Female Mice and Embryos. *The Egyptian Journal of Hospital Medicine Vol.*, 17 : 63 – 69.
- HEDDLE, J. A., CIMINO, M. C., HAYASHI, M., ROMAGNA, F., SHELBY, M. D., TUCKER, J. D., VANPARYS, Ph. and MacGREGOR, J. T., 1991. Micronuclei as an Index of Cytogenetic Damage: Past, Present, and Future. *Environ. and Mol. Mutagen.*, 18:277-291.
- KIRLI, S., GÜLEÇ, C ., KÜEY, L., BEKAROĞLU, M., EVLİCE, Y ., ÜNAL, S . Antidepressant Tedaviye Cevabın Yaş, Epizod Sayısı, Epizodun Süresi ve Ailede Psikiyatrik Rahatsızlık Öyküsü ile ilişkisi. 1997: 10 (2): 4-11
- LAWLOR, D.A., JÜNI, P., EBRAHIM, S. and EGGER, M., 2003. Systematic review of the epidemiologic and trial evidence of an association between antidepressant use and breast cancer. *J Clin. Epidemiol.*, 56:155–163.
- MACE, M.L.J., DASKAL, Y. and WRAY, W., 1978. Scanning electron microscopy of chromosome aberrations. *Mutat. Res.* 52, 199–206.
- MADRIGAL-BUJAJIDAR, E., MADRIGAL-SANTILLÁN, E.O., ALVAREZ-GONZALEZ, I., BAEZ, R. and MARQUEZ, P., 2008. Micronuclei induced by imipramine and desipramine in mice: a subchronic study. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.*, 103(6):569-573.
- MADRIGAL-BUJAJIDAR, E., CÁRDENAS GARCÍA, Y. and ALVAREZ-GONZÁLEZ, I., 2010. Chromosomal aberrations induced by imipramine and desipramine in mouse. *Hum. Exp. Toxicol.*, 29(4):297-302.

- MERT-SAVRUN, B. 1999. Depresyon, Somatizasyon ve Psikiyatrik Aciller Sempozyumu. s:11-17.
- MOORMAN, P.G., GRUBBER, J.M., MILLIKAN, R.C. and NEWMAN, B., 2003. Antidepressant Medications and Their Association with Invasive Breast Cancer and Carcinoma in situ of the Breast. *Epidemiology*, 14:307-314.
- NORPPA, H., BONASSI, S., HANSTEEN, I.L., HAGMAR, L., STRÖMBERG, U., RÖSSNER, P., BOFFETTA, P., LINDHOLM, C., GUNDY, S., LAZUTKA, J., CEBULSKA-WASILEWSKA, A., FABIÁNOVÁ, E., ŠRÁM, R.J., KUNUDSEN, L.E., BARALE, R. and FUCIC, A., 2006. Chromosomal Aberrations and SCE as Biomarkers of Cancer Risk. *Mutat. Res.*, 600 (1-2): 37-45.
- OECD, In Vitro Mammalian Chromosome Aberration Test. Guideline for Testing of Chemicals. 1997. No. 473
- ÖRSEL, S., 2004. Depresyonda Tedavi: Genel İlkeler ve Kullanılan Antidepresan İlaçlar. *Klinik Psikiyatri*; EK 4:17-24.
- ÖZBEK, A., AĞARGÜN, A. 2001. Yeni Nesil Antidepresan İlaçlar ve Uyku Üzerine Etkileri *Klinik Psikofarmakoloji Bülteni*, 11:272-275.
- PANIAGUA-PÉREZ, R., MADRIGAL-BUJADAR, E., REYES, C.S., PÉREZ, G.J., VELASCO, M.O. and MOLINA, D., 2002. Sister chromatid exchanges produced by imipramine and desipramine in mouse bone marrow cells treated in vivo. *Toxicol. Lett.*, 132(2):123-129.
- PAZ-Y-MINO, C., BUSTAMANTE, G., SANCHEZ, M.E. and LEONE, P.E. 2002. Cytogenetic Monitoring in a Population Occupationally Exposed to Pesticides in Ecuador. *Environ. Health Perspective*. 110: 1077-1080.
- PEREIRA, P., GIANESINI, J., DA SILVA BARBOSA, C., CASSOL, G.F., VON BOROWSKI, R.G., KAHL, V.F., CAPPELARI, S.E. and PICADA, J.N., 2009. Neurobehavioral and genotoxic parameters of duloxetine in mice using the inhibitory avoidance task and comet assay as experimental models. *Pharmacol Res.*, 59(1):57-61.

- PONSA, I., RAMOS, Q.A., RIBASÉS, M., BOSCH, R., BIELSA, A., ORDEIG, M., MORELL M., MIRÓ, R., ESTIVILL, X., CASAS, M., BAYÉS, M., CORMAND, B., HERVÁS, A. 2009. Absence of cytogenetic effects in children and adults with attention-deficit/hyperactivity disorder treated with methylphenidate. *Mutation Res*: 666 44–49.
- PRESTON, R.J., DEAN, B.S., GALLOWAY, S., HOLDEN, H., MCFEE, A. F.,SHELBY, M. 1987. Mammalian *in vivo* cytogenetic assays : analysis of chromosome aberrations in bone marrow cells. *Mutation Research*, 189: 157-165.
- RENCÜZOGULLARI, E. and TOPAKTAS, M. 1991. The relationship between quantities of bromodeoxyuridine and human peripheral blood with determination of the best differential staining of sister chromatids using chromosome medium-B. *Fen ve Mühendislik Bilimleri Dergisi*, 5(3): 19-24.
- ROTHFUSS, A., SCHUTZ, P., BOCHUM, S., VOLM, T., ELBERHARD, E., KREINBERG, R., VOGEL, V. and SPEIT, G., 2000. Induced micronucleus frequencies in peripheral lymphocytes as a screening test for carries of a BRCA1 mutation in Breast cancer families. *Cancer Res.*, 60:390-394.
- ROSETTI, M., FRASNELLI, M., TESEI, A., ZOLI, W. and CONTI, M., 2006. Cytotoxicity of different selective serotonin reuptake inhibitors (SSRIs) against cancer cells. *J Exp. Ther. Oncol.*, 6(1):23-29.
- SARIKAYA , R. and YÜKSEL, M., 2008. Genotoxic assessment of oxcarbazepine and carbamazepine in *Drosophila* wing spot test. *Food Chem. Toxicol.*, 46(9):3159-3162.
- SAUTER, C., 1987. Cytostatic activity of commonly used tricyclic antidepressants. *Oncology* 46:155-157.
- SAVAGE, J. R. K., 1993. Update on Target Theory as Applied to Chromosomal Aberrations. *Env. and Mol. Mutagen.*, 22:198-207.

- SAXENA, R. and AHUJA, Y.R., 1988. Genotoxicity evaluation of the tricyclic antidepressants amitriptyline and imipramine using human lymphocyte cultures. *Environ. and Mol. Mutagen.*, 12(4):421-430.
- SCHWANINGER, M., SCHÖFL, C., BLUM, R., RÖSSING, L. AND KNEPEL, W. 1995. Inhibition by antidepressant drug of cyclic AMP response element-binding protein/cyclic AMP response element-directed gene transcription. *Mol. Pharmacol.*, 47(6):1112-1118
- SLAMON, N.D., WARD, T.H., BUTLER, J. and PENTREATH, V.W., 2001. Assessment of DNA damage in C6 glioma cells after antidepressant treatment using an alkaline comet assay. *Arch. Toxicol.*, 75(4):243-250.
- SPANOVÁ, A., KOVÁRŮ, H., LISÁ, V., LUKÁSOVÁ, E. and RITTICH, B., 1997. Estimation of apoptosis in C6 glioma cells treated with antidepressants. *Physiol. Res.*, 46(2):161-164.
- SPEIT, G. AND HAUPTER, S. 1985. On the Mechanism of Differential Giemsa Staining of Bromodeoxyuridine Substituted Chromosomes. II. Differences. Between the Demonstration of Sister Chromatid Differentiation and Replication Patterns. *Human Gen.*, 70: 126-129.
- STEINGART, A. B. and COTTERCHIO, M., 1995. Do antidepressants cause, promote, or inhibit Cancer. *J. Clin. Epidemiol.*, 48 (11): 1407-1412.
- SUBRAMANYA, K.S., MOTIMAYA, A.M., CURRY, P.T. and KITCHIN, R.M., 1993. Assessment of genotoxicity of anti-parkinsonian drugs (selegiline hydrochloride) in vivo in mouse bone marrow cells. *Toxicol. Lett.*, 66(3):221-230.
- SUTER, W., MARTUS, H. J., ELHAJOUJI, A, 2005. Methylphenidate is not clastogenic in cultured human lymphocytes and in the mouse bone-marrow micronucleus test. *Mutation*: 2881.2.35
- TAMIM, H., BOIVIN, J.F., HANLEY, J., STANG, M. and COLLET, J.P., 2006. Risk of breast cancer in association with exposure to two different groups of tricyclic antidepressants. *Pharmacoepidemiol Drug Saf.*, 15(10):689-697.

- TANELİ, B., TANELİ, Y., TANELİ, T. 2001. Depresyon ve Anksiyete Bozukluklarının Birlikte Bulunmaları ve Psikofarmakolojik Tedavi Yaklaşımı. *Psikiyatri dünyası* ; 5:115-129
- TOPAKTAŞ, M. ve RENCÜZOĞULLARI, E. (2010). Sitogenetik, Nobel Yayınevi, 2.baskı. 176 sayfa.
- TOPAKTAŞ, M. ve SPEIT, G., 1990. Sister Chromatid Exchange (SCE) Testinin Mutajenite ve Kanserojenitenin Belirlenmesinde Kullanılması. *Ç. Ü. Sağlık Bil. Der.*, 5(1, 2, 3):73-84.
- TUCKER, J. D., AULETTA, A., CIMINO, M. C., DEARFIELD, K. L., JACOBSON-KRAM, D., TICE, R. R. and CARRANO, A. V., 1993. Sister-Chromatid Exchange: Second Report of the Gene-Tox Program. *Mutation. Res.*, 297:101-180.
- TUTTON, P. J. and BARKA, D. M. (1982). Influence of inhibitors epithelium and colorectal carcinomas. *Brit. J Cancer.*, 46:260.
- VAN SCHAIK, N. and GRAF, U., 1991. Genotoxicity evaluation of five tricyclic antidepressant in the wing somatic mutation and recombination test in *Drosophila melanogaster*. *Mutation Res*: 260(1):99-104.
- WELLS, K.B., HAYS, R.D., BURNAM, M. A, 1989. Detection of depressive disorder for patients receiving prepaid or free-foservice care. *J Am Med Assoc*, 282: 3298-3302.
- <http://en.wikipedia.org/wiki/Antidepressant>, 2011.
- [http://tr.wikipedia.org/wiki/ Remeron](http://tr.wikipedia.org/wiki/Remeron), 2011.
- <http://www.yeniaktuel.com.tr>, 2012.

## **ÖZGEÇMİŞ**

09/8/1987 tarihinde İran, Miyandoab'da doğdu. İlk okul, orta okul ve lise öğrenimini Miyandoab'da tamamladı. Sonra 2006 yılında Tonekabon Azad Üniversitesi, Moleküler Hücre Biyoloji Bölümünde okumaya başladı ve 2010 yılında lisans eğitimini bitirip aynı yılda Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoteknoloji Anabilim Dalında yüksek lisans öğrenimine başladı.