

**ANTİHİPERTANSİF İLAÇ ETKEN MADDELERİ AMLODİPİNE VE
RAMİPRİL'İN GENOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ**

Öznur GÜNAYDIN

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2023

ETİK BEYAN

Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Tez Yazım Kurallarına uygun olarak hazırladığım bu tez çalışmada;

- Tez içinde sunduğum verileri, bilgileri ve dokümanları akademik ve etik kurallar çerçevesinde elde ettiğimi,
 - Tüm bilgi, belge, değerlendirme ve sonuçları bilimsel etik ve ahlak kurallarına uygun olarak sunduğumu,
 - Tez çalışmada yararlandığım eserlerin tümüne uygun atıfta bulunarak kaynak gösterdiğimi,
 - Kullanılan verilerde herhangi bir değişiklik yapmadığımı,
 - Bu tezde sunduğum çalışmanın özgün olduğunu,
- bildirir, aksi bir durumda aleyhime doğabilecek tüm hak kayıplarını kabullendiğimi beyan ederim.

Öznur GÜNAYDIN

08.06.2023

ANTİHIPERTANSİF İLAÇ ETKEN MADDELERİ AMLODİPİNE VE RAMİPRİL'İN GENOTOKSİK ETKİLERİNİN İNCELENMESİ

(Yüksek Lisans Tezi)

Öznur GÜNAYDIN

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ

Haziran 2023

ÖZET

Antihipertansif ilaçlar, yüksek kan basıncını belirli bir aralıkta ve dengede tutmak amacı ile kullanılmaktadır. Antihipertansiflerin tedavi amaçlı uzun süreli, hatta ömür boyu kullanılması gerekebilmektedir. Antihipertansif ilaç etken maddesi olan Amlodipine kalsiyum kanal blokörü olarak, Ramipril ise anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörü olarak etki etmektedir. Bu çalışmada Amlodipine ve Ramipril'in *in vitro* genotoksik etkileri insan periferik kan lenfositlerinde kromozom anormallikleri (KA) ve mikronukleus testi (MN) kullanılarak belirlenmiştir. Ayrıca bu ilaç etken maddelerinin mitotik indeks (MI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI) üzerindeki etkileri de incelenmiştir. Amlodipine için 0,36; 0,78; 1,56; 3,13; 6,25 µg/mL'lik, Ramipril için 19,53; 39,6; 78,3; 156,2; 312,5 µg/mL'lik konsantrasyonlar kullanılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda Amlodipine'nin 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinin her ikisinin de kontrol ve çözücü kontrole kıyasla kromozomal anormallik frekansında anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığı görülmektedir. Bir diğer antihipertansif ilaç etken maddesi Ramipril'in kromozomal anormallik testi sonucuna göre 24 saatlik uygulamasında anormal hücre yüzdesi kontrol ve çözücü kontrole göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Ancak 48 saatlik uygulamada ise anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik sayısında, en yüksek üç konsantrasyonda (78,13; 156,25 ve 312,5 µg/mL) artış gözlemlenmiştir. Amlodipine'nin mitotik indeks değerlerinde, her iki muamele süresinde de kontrole ve çözücü kontrole göre en yüksek iki konsantrasyonda (3,13 ve 6,25 µg/mL) anlamlı düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Ramipril'in mitotik indeks değerlerinde 39,6; 78,3; 156,2 ve 312,5; µg/mL'lik konsantrasyonlarında kontrole göre anlamlı bir düşüş ve 78,3; 156,2 ve 312,5; µg/mL'lik konsantrasyonlarında ise çözücü kontrole göre anlamlı bir düşüş görülmektedir. Amlodipine mikronukleus ve nükleer bölünme indeksine değerlerinde kontrol ve çözücü kontrole göre anlamlı bir farklılığa neden olmamıştır. Diğer yandan Ramipril uygulamasının mikronukleus frekansında kontrol ve çözücü kontrole göre artışa sebep olduğu gözlenmiştir. Bu artış kontrole göre en düşük konsantrasyon hariç tüm konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı iken çözücü kontrole göre ise en yüksek üç konsantrasyonda (78,53; 156,25 ve 312,5 µg/ml) anlamlıdır. Yapılan çalışma sonucunda Ramipril'in de nükleer bölünme indeksi üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir. Sonuçta Amlodipine ve Ramipril'in *in vitro* insan lenfositlerinde yüksek konsantrasyonlarda önemli bir sitotoksik etkiye sahip olabileceği, buna karşın Amlodipine'nin genotoksik etkiye neden olmayabileceği, Ramipril'in ise özellikle yüksek konsantrasyonlarda genotoksik olabileceği sonucuna varılmıştır.

Sayfa Adedi :76

Anahtar Kelimeler :Amlodipine, Ramipril, Hipertansiyon, Antihipertansifler, Genotoksisite

Danışman : Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ

INVESTIGATION OF THE GENOTOXIC EFFECTS OF ANTIHYPERTENSIVE DRUG
ACTUAL INGREDIENTS AMLODIPINE AND RAMIPRIL

(M. Sc. Thesis)

Öznur GÜNAYDIN

AMASYA UNIVERSITY

GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES

June 2023

ABSTRACT

Antihypertensive drugs are used to keep high blood pressure within a certain range and in balance. Long-term or even lifetime use of antihypertensives may be required for therapeutic purposes. Amlodipine, which is the active ingredient of antihypertensive drugs, acts as a calcium channel blocker, and Ramipril acts as an angiotensin converting enzyme (ACE) inhibitor. In this study, *in vitro* genotoxic effects of Amlodipine and Ramipril were determined in human peripheral blood lymphocytes using chromosomal abnormalities (CA) and micronucleus test (MN). In addition, the effects of these drug active ingredients on the mitotic index (MI) and nuclear division index (NDI) were also investigated. 0.36 for Amlodipine; 0.78; 1.56; 3.13; 6.25 µg/mL, 19.53 for Ramipril; 39.6; 78.3; 156.2; Concentrations of 312.5 µg/mL were used. As a result of the examinations, it is seen that both the 24 and 48 hour treatment periods of Amlodipine did not cause a significant change in the frequency of chromosomal abnormalities compared to the control and solvent control. According to the results of the chromosomal abnormality test of Ramipril, another antihypertensive drug active ingredient, the percentage of abnormal cells in the 24-hour application did not show a significant change compared to the control and solvent control. However, in the 48-hour application, an increase was observed in the percentage of abnormal cells and the number of abnormalities per cell at the three highest concentrations (78.13; 156.25 and 312.5 µg/mL). It was determined that Amlodipine caused a significant decrease in the mitotic index values at the two highest concentrations (3.13 and 6.25 µg/mL) compared to the control and solvent control in both treatment periods. The mitotic index values of ramipril were 39.6; 78.3; 156.2 and 312.5; A significant decrease in µg/mL concentrations compared to the control and 78.3; 156.2 and 312.5; At µg/mL concentrations, a significant decrease is observed compared to the solvent control. Amlodipine did not cause a significant difference in micronucleus and nuclear division index values compared to control and solvent control. On the other hand, it was observed that Ramipril application caused an increase in micronucleus frequency compared to control and solvent control. While this increase was statistically significant at all concentrations except the lowest concentration compared to the control, it was significant at the three highest concentrations (78.53; 156.25 and 312.5 µg/ml) compared to the solvent control. As a result of the study, it was determined that Ramipril did not have any effect on the nuclear division index. As a result, it was concluded that Amlodipine and Ramipril may have a significant cytotoxic effect at high concentrations in human lymphocytes *in vitro*, whereas Amlodipine may not cause a genotoxic effect, while Rampril may be genotoxic especially at high concentrations.

PageNumber :76

Keywords : Amlodipine, Ramipril, Hypertension, Antihypertensives, Genotoxicity

Supervisor : Asst Prof. Dr. Ece AVULOĞLU YILMAZ

ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu tez çalışmasının konusunun belirlenmesinde beni yönlendirip cesaretlendiren, tüm samimiyeti ve tecrübesiyle derslerde farkındalık yaratmaya çalışan, çalışmalarım boyunca destekleyen ve ilham veren, lisans eğitimimde de hocam olan tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ'a, bütün çalışmalarım da desteğini esirgemeyen eşim Mustafa GÜNAYDIN'a, yüksek lisans ders ve tez döneminde yardımını esirgemeyen arkadaşlarım Ebru EKER KARTAL, Pınar ALTUNKAYNAK ve Adem KOÇYİĞİT'e sonsuz teşekkürlerimi sunarım.



İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET.....	iv
ABSTRACT.....	v
ÖN SÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	xiii
ŞEKİLLER DİZİNİ DİZİNİ.....	xiii
RESİMLER DİZİNİ.....	xiii
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xiii
1.GİRİŞ.....	1
2. TEMEL KAVRAMLAR.....	2
2.1. Hipertansiyon Tanımı.....	3
2.2. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi.....	3
2.3. Hipertansiyon Risk Faktörleri.....	5
2.3.1. Genetik faktörler.....	5
2.3.2. Beslenme.....	5
2.3.3. Yaşam tarzı.....	5
2.3.4. Hastalık bilgisi.....	6
2.3.5. Obezite.....	6
2.3.6. Alışkanlıklar.....	6
2.3.7. Psikolojik durum.....	7
2.3.8. Peryodik sağlık muayenesi.....	7
2.4. İlaç Dışı Tedavi Yöntemleri.....	7

	Sayfa
2.5. Hipertansiyon Tedavisinde Antihipertansifler.....	7
2.5.1. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri.....	8
2.5.2. Anjiyotensin reseptör blokerleri.....	9
2.5.3. Diüretikler.....	10
2.5.4. Kalsiyum kanal blokerleri.....	10
2.5.5. Beta blokerler.....	11
2.5.6. Diğer antihipertansif ilaçlar.....	11
2.6. Genotoksisite.....	11
2.7. Genetik Toksisite Testleri.....	13
2.7.1. Ames testi.....	14
2.7.2. Comet testi.....	14
2.7.3. Kromozom anormallikleri (KA) testi.....	15
2.7.4. Kardeş kromatit değişimi testi.....	15
2.7.5. Mikronükleus (MN).....	16
2.8. Antihipertansif İlaçlarla Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları.....	16
3. MATERYAL METOT.....	23
3.1. Materyal.....	23
3.1.1. Test materyalleri.....	23
3.2. Metot.....	25
3.2.1 Çalışmada Kullanılacak Konsantrasyonların Belirlenmesi.....	25
3.2.2. Kromozomal anormallik (KA) testi.....	25
3.2.3. Kromozom anormalliklerinin ve mitotik indeksin saptanması.....	26
3.2.4. Mikronükleus testi.....	27

	Sayfa
3.2.4.1. Mikronukleus ve nükleer bölünme indeksi (NBİ)'nin	27
3.2.5. İstatistikî analizler	28
4.BULGULAR.....	29
4.1. Amlodipine Uygulaması.....	29
4.1.1. Kromozom anormallik (KA) testi bulguları	29
4.1.2. Mikronukleus (MN) testi bulguları.....	32
4.2. Ramipril Uygulaması.....	33
4.2.1. Kromozom anormallik (KA) testi bulguları	33
4.2.2. Mikronukleus (MN) testi bulguları.....	37
5. TARTIŞMA	40
6. SONUÇ	55
KAYNAKLAR.....	57
ÖZGEÇMİŞ.....	76

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 4.1. Amlodipine'in periferel insan kan lenfositlerinde meydana gelen..... kromozom anormallikleri ve frekans değerleri.....	29
Çizelge 4.2. Amlodipine uygulamasının insan periferel insan kan lenfositlerinde mitotik indeks frekansı üzerinde etkisi.....	31
Çizelge 4.3. Amlodipine uygulamasının insan periferel insan kan lenfositlerinde..... mikronukleus ve nükleer bölünme indeks frekansı üzerinde etkisi.....	32
Çizelge 4.4. Ramipril uygulamasının insan kan lenfositlerinde meydana gelen..... kromozom anormallikleri ve frekans değerleri.....	34
Çizelge 4.5. Ramipril uygulamasının insan periferel insan kan lenfositlerinde mitotik..... indeks frekansı üzerinde etkisi.....	36
Çizelge 4.6. Ramiplin uygulamasının insan periferel insan kan lenfositlerinde mikronukleus ve nükleer bölünme indeks frekansı üzerinde etkisi.....	38

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 2.1. ACE'nin bazı etki mekanizmaları.....	9
Şekil 2.2. Kalsiyum kanal blokerlarının bazı etkimekanizmaları.....	11
Şekil 3.1. Amlodipinein kimyasal yapısı	24
Şekil 3.2. Ramiprilin kimyasal yapısı.	24
Şekil 4.1. Amlodipine uygulamasının periferel insan kan lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi.....	30
Şekil 4.2. Amlodipine uygulamasının periferel insan kan lenfositlerindeki hücre başına düşen anormallik frekansı üzerinde etkisi.....	30
Şekil 4.3. Amlodipine uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mitotik indeks bulguları	32
Şekil 4.4.Amplodipin uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mikronukleus ve nükleer indeks bulguları	33
Şekil 4.5. Ramipril uygulamasının periferel insan kan lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi	35
Şekil 4.6. Ramipril uygulamasının periferel insan kan lenfositlerindeki hücre başına..... düşen anormallik frekansı üzerinde etkisi.....	35
Şekil 4.7. Ramipril uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mitotik indeks..... bulguları	37
Şekil 4.8.Amplodipin uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mikronukleus ve nükleer indeks bulguları	38

RESİMLER DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Yapılan çalışmada görüntülenen bazı kromozom anormallikleri	39
Resim 4.2. Yapılan çalışmada görüntülenen bazı Mikronukleuslu hücreler	39



SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

Bu çalışmada kullanılmış bazı simgeler ve kısaltmalar, yanda açıklamaları verilmek üzere aşağıda listelenmiştir.

Simgeler	Açıklama
BrdU	Bromodeoksiüridin
mg	Miligram
mm	Milimetre
Kg	Kilogram
µg/ml	Mikrogram/Mililitre
mg/kg	Miligram/Kilogram
mg/ml	Miligram/Mililitre
mmHg	Milimetre Cıva
M	Molarite
%	Yüzde
°C	Santigrat derece
KCL	Potasyum klorür
rpm	Devir sayısı

Kısaltmalar	Açıklama
DNA	Deoksiribo nükleik asit
ACE	Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri
ARB	Anjiyotensin II reseptör blokerleri
KKB	Kalsiyum kanal blokerleri
GLP	İyi laboratuvar uygulamaları

KA	Kromozom anormallikleri
MN	Mikronükleus
KKD	Kardeş kromatit değişimi
FISH	floresan in situ hibridizasyon tekniği
ALT	Alanin aminotransferaz testi
AST	Aspartat aminotransferaz testi
HT	Hipertansiyon
DSÖ	Dünya sağlık örgütü
TEMD	Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği
MI	Miyokard İnfaktüsü
KVH	Kardiyo vasküler hastalıklar
CBMN	Sitokinez blok nukleus testi
NBI	Nükleer bölünme indeksi
EHT	Esansiye hipertansiyon

1. GİRİŞ

Dünyada ekonomik düzeyin yükselmesi bulaşıcı olmayan hastalıklardan ölümlerin azalmasına ve ekonomik düzeyi düşük olan ülkelerde bebek/çocuk ölüm oranının düşmesine vesile olmuştur. Ayrıca sağlık hizmetlerinde gelişmeler, enfeksiyonel hastalıkların kontrolü ve tıp alanında ilerlemeler insan yaşam süresini uzatmıştır. Ancak sağlıklı geçirilen gün sayısı giderek azalmaya başlamıştır (Bayrak, 2020; Demirci ve Kaya 2022). Yaşam standartlarının yükselmesi hareketsiz yaşamı artırırken kimyasallara maruz kalma süresinide uzatmıştır. Kimyasalların kullanım alanları arttıkça doğal kaynakların kirlenmesine neden olduğu gibi insan sağlığına olumsuz etkileri de gün geçtikçe artmaktadır (Çoşkun ve Demiral, 2021). Kimyasallara uzun süre maruz kalınmasının ise kronik hastalıkların artmasına neden olduğu ispatlanmıştır (Erkoç ve Yardım, 2011:18; Kathpalia, Bhardwaj, Biswas, ve Verma, 2022). İnsanların dış kaynaklı kimyasal karsinogenlere maruz kalmasının, dünyada oluşan malignitenin %40'ını oluşturduğu ispatlanmıştır (Madia, Worth, Whelan ve Corvi, 2019). Sık görülen kronik hastalıkların başında tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de hipertansiyon gelmektedir (Albayrak ve Şengezer, 2022; Karakovan ve Eti Aslan, 2014:49; Tekin, 2016; Demirci ve Kaya 2022). Hipertansiyon, sistemik arteriyel kan basıncının artması ile karakterize kronik kardiyak bir rahatsızlıktır. Yüksek kan basıncı, dünyadaki hastalık yüküne önemli katkısı olan koroner kalp hastalıkları ve felcin (inme) patogenezinde (hastalık oluşumu) merkezi bir rol oynamaktadır. Yapılan araştırmalara göre hastalarda sistolik kan basıncının 160 mm/Hg'yi geçmesi mortalite (ölüm oranı) ve morbidite (hastalık oranı) riskinin artmasına neden olmaktadır (Chen ve diğerleri, 2011; Balti ve diğerleri, 2015; Deniz, 2022 Liu, Quan, Chen, Qian ve Khan, 2014; Zhao ve diğerleri, 2012).

Kontrolsüz hipertansiyon felç, kalp krizi (miyokard infarktüsü), renal (böbrek) yetmezlik riskini artıran hatta ölümlere neden olabilen sağlık sorunu olarak görülmektedir (Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği [TEMED], 2018:7; İkde, 2022). Ancak uygun ilaç tedavisi ve yaşam değişikliği ile tedavi edilebilmektedir. Dünya da Hipertansiyona bakıldığında milyarlarca kişiyi etkilediği görülmekte, Avrupa ülkelerinde prevalansın yaklaşık %44 olduğu, bazı ülkelerde ise bu oranın %55'e ulaştığı tahmin edilmektedir (Telez ve diğerleri, 2001; Oliveira-Paula, Pereira, TanusSantos ve Lacchini, 2019; Rysz, Franczyk, Rysz-Górczyńska ve Gluba-Brzócka, 2020).

Bir ilacın geliştirme çalışmalarında aday bileşimin toksik etkileri ile faydası arasında denge olması gerekmektedir. Bu amaçla yapılan akut ve kronik toksikoloji testlerinin yanında genotoksitesinin de incelenmesi gerekmektedir. Genotoksite ya da genetik toksisite kısaca kimyasal, fiziksel veya biyolojik ajanların çekirdekte, kromozomda ya da DNA'nın yapısında oluşturabileceği hasarları inceleyen toksikoloji biliminin bir alt dalıdır. Yapılan çalışmalar göstermektedir ki ilaçların kendileri direk karsinogenik, mutajenik olabildiği gibi ilaçların metabolitleri de bu etkilere neden olabilmektedir. Günümüzde özellikle kanser gibi kronik hastalıkların artması genotoksite testlerinin zorunlu hale getirilmesi gerektiğini göstermektedir (Brambilla, Mattioli ve Martelli, 2009; El-Zein ve diğerleri, 2005; Choudhuri, Kaur, Jain, Sharma and Asthana 2021; Çoşkun ve Demiral, 2021; Hassanane, Hafiz, Radwan ve El-Ghor, 2012; Madrigal-Bujaidar, Garcia ve Alvarez-Gonzales, 2010; McPherson, 2003; Steingart, Cotterchio, Kreiger, ve Slona, 2003).

Bu çalışmada amaçlanan, antihipertansifler olarak kullanılan ilaçlar hakkındaki bilgilerimizi güncellemek ve hipertansiyon tedavisinde yaygın olarak kullanılan, antihipertansif ilaç etken maddelerinden Amlodipine ve Ramiprilin genotoksik etkilerini, insan periferik lenfosit kültürleri kullanarak (*in vitro*) kromozomal anormallik (KA) ve mikronükleus testi (MN) ile araştırmaktır.

2. TEMEL KAVRAMLAR

2.1. Hipertansiyon Tanımı

Kan basınç ölçümünün ilk defa İngiliz ilahiyat öğrencisi Stephan Hales tarafından 1733’de femoral arterin içine yerleştirilen cam kapsül ile yapıldığı, 1863 yılında Scipione Riva Rocci tarafından ise bu günkü modern ölçümlerin temeli atıldığı bildirilmiştir (Deniz, 2022; Elias, Goodell ve Dore, 2012). Daha sonra sadece sistolik kan basıncı ölçülmeye başlanmış, 1905’te Nikolai Sergeyevich Korotkoff tarafından geliştirilerek günümüzde kullanılan son halini almıştır. Nikolai Sergeyevich Korotkoff kolda bulunan brakial artere stetoskopu yerleştirilmiş, manşonun şişirilerek indirildiğinde ilk duyulan sesi sistolik kan basıncı, duyulan ikinci sesi ise diastolik kan basıncı olarak tanımlamıştır (Deniz, 2022; Paskalev, Kircheva ve Krivoshiev, 2005). Kan basıncı milimetre civa (mmHg) olarak ifade edilmektedir (Choudhury ve Lip, 2005; Deniz, 2022).

Kalbin kanı pompalamasıyla kan damarlarda hareket etmektedir. Bu hareket kardiyak debi (kanın pompalandığı kan hacmi) ve periferel direnç (damarlarda oluşan direnç) bileşenlerini oluşturmaktadır. Bu olaya tansiyon denilmektedir. Hipertansiyon, uzun süre kan basıncının belirli oranların (140mmHg/ 90mm/Hg) üzerinde olması olarak kabul edilmektedir (Aydoğdu, 2019; Cebeci, 2021). 2019 yılında Dünya Sağlık Örgütü (DSÖ)’nün yayınladığı rapora göre dünyada kronik hastalıklar nedeniyle ölüm oranlarının artmasına neden olan böbrek yetmezlikleri ve serebrovasküler hastalıkların etiyolojilerinde kardiyovasküler hastalıkların yer aldığı bildirilmiştir (Şahin ve İlgin, 2022).

2.2. Hipertansiyonun Epidemiyolojisi

Hipertansiyon, kardiyovasküler hastalıklar arasında dünyada ölüme sebebiyet veren kronik hastalıklar sıralamasında ilk sıralarda yer almaktadır. Erken dönemde tedavi edilmediği takdirde prognozu daha büyük sorunlara yol açarken morbidite ve mortaliteye neden olabilmektedir (Albayrak ve Şengezer, 2022; Üstü ve Uğurlu, 2018). Hipertansiyon önlenmesi ve kontrol altına alınabilmesine rağmen dünyada ki erişkin nüfusunun % 20-50’sini olumsuz etkilemektedir (Boratas ve Kilic, 2018; Gün ve Korkmaz, 2014; İkde, 2022).

DSÖ'ye göre farmakolojik tedavide sürekli ilerleme kayıt edilse de yüksek tansiyonlu hasta sayısı her geçen gün artmakta, hatta dünya da 1.13 milyar kişiyi etkileyen, erken yaşta ölümlere sebebiyet veren hastalıklar arasında ilk sıralarda yer almaktadır (Gavrilova, Bandera, Logviss, Smits ve Urtane, 2021; Valenzuela ve diğerleri, 2021).

Son yapılan çalışmalarda ise hipertansiyonun dünyadaki ölüm oranlarının yaklaşık %12.8'ine sebebiyet verdiği (yaklaşık 7.5 milyon) ve bu oranın 2025'e kadar hipertansiyon hasta sayısının %15-20 kadar daha artarak 1.5 milyar civarında olacağını ön görmektedir (Nawata, Sugano ve Kimura, 2019; Williams ve diğerleri, 2018).

Türk Erişkinlerindeki Kalp Hastalığı ve Risk Faktörleri (TEKHARF) tarafından Türkiye'de yapılan en büyük ölçekli hipertansiyon prevelansı araştırması sonucuna göre, ülkemizdeki her üç kişiden birisinin hipertansiyon hastası olduğu ve bu oranın %33,7 olduğu sonucuna ulaşılmıştır (Onat ve diğerleri, 2017). Türk Hipertansiyon Prevalans Çalışması Patent2 (Sengul ve diğerleri, 2016) grubu tarafından yapılan başka bir çalışmada ülkemizde yaşlara göre hipertansiyon görülme sıklığı, 18-29 yaş aralığında %5, 30-39 yaş aralığında %11,5, 40-49 yaş aralığında %29,7, 50-59 yaş aralığında %53.6, 60-69 yaş aralığında %67.9, 70-79 yaş aralığında %85.2, 80 yaş ve üzerinde ise %76.3 olarak saptanmıştır (Sengul ve diğerleri, 2016). TEK HARF tarafından 2017 yılında tekrarlanan hipertansiyon prevelansı çalışması sonucu, antihipertansif ilaç kullanmalarına rağmen kan basınç oranı $>140/90$ mmHg olanların prevelansı; kadınlarda %53 iken erkeklerde %38 olarak bulunmuştur (Onat ve diğerleri, 2017; İkde, 2022).

Ülkemizde yaklaşık on yıl süren Hipertansiyon Prevalans Çalışması'nda (Patent2), Hipertansiyon prevelansının yaklaşık yüzde 1,5 azaldığı ve bunda en büyük etkenin kan basınç kontrollerinin düzenli yapılması, farkındalık oluşturulması ve düzenli ilaç kullanımı olduğu saptanmıştır. Sağlıklı yaşam için gerekli olan düzenli egzersiz, alkol kullanımının kısıtlanması, sigardan uzak durulması, kilonun normal sınırlar aralığında olması, tuz alımının kısıtlanması, diyetle yeterli potasyum alınması ve dengeli beslenme gibi önermeler, hipertansiyonun önlenmesi, kontrol altına alınması ve tedavi edilmesinde de önemli bir yere sahiptir. Bu değişikliklerin yapılmasına rağmen kontrol alınamayan hipertansiyon hastalarına ilaç tedavisi başlanmaktadır. Hipertansiyon tedavisinde tek bir antihipertansif kullanılabildiği gibi semptomların şiddetli olması durumunda birkaç hipertansiyon ilacı

kombin şeklinde kullanılabilir (Biçer, Ünsal, Taşçı, Demir ve Ceyhan, 2021; Zhao ve diğerleri, 2012).

2.3. Hipertansiyon Risk Faktörleri

2.3.1. Genetik faktörler

Hipertansiyonun genetik mekanizması incelendiğinde ailevi yatkınlığı olan bireylerin çevresel faktörlerin de etkisi ile bu hastalığa yakalanma oranı artmaktadır. Aile öyküsünde hipertansiyon hastası olan bireyler de kalıtsallığın oranının % 35 ile % 50 arasında değiştiği düşünülmektedir (Aşkın, Tanrıverdi, Türkmen ve Aktürk, 2018; Yıldırım, 2021).

2.3.2. Beslenme

Yaşam tarzı ve beslenme alışkanlığı düzenlenmesi hipertansiyon tedavisinde önemli bir yere sahiptir (Şahin ve Akay, 2017; Aydın ve Öztürk, 2014; Üstü ve Uğurlu, 2018). Rafine tuz ve şekerden, işlenmiş gıda ve aşırı yağlı yemeklerden kaçınılması hastalığın oluşmasını önlemede önemli bir yere sahiptir. Beslenmenin düzenlenmesinde sebze kaynaklı proteinler, tam tahıllı ürünler, sebze ve meyve ağırlıklı beslenmeye özellikle haftada iki defa balık tüketilmeye özen gösterilmelidir (Aydın ve Öztürk, 2014; Aydoğdu ve diğerleri, 2019; Tekin, 2016; Üstü ve Uğurlu, 2018; Yıldırım, 2021).

Hipertansiyonun oluşmasında en önemli faktör olan kan basıncının dengesizleşmesi ile fazla tuz kullanımı arasındaki nedensel bağlantı ispatlanmıştır. Günlük tuz kullanımının bir çay kaşığına geçmemesi gerektiği ve yaş ilerlemesine orantılı olarak sistolik kan basıncını yükselttiği gösterilmiştir (Aşkın ve diğerleri, 2018; Aydın ve Öztürk, 2014; Üstü ve Uğurlu, 2018; Yıldırım, 2021).

2.3.3. Yaşam tarzı

Yaşam tarzını sağlıklı hale getirmek için kişiler kendi hayat standartlarını iyi bilmeli, sağlığına zarar veren aktiviteleri kontrol altına alarak uygun davranışlarla değiştirmelidir (Şahin ve Biçer, 2015; Köse, Doğan ve Ekerbiçer, 2018). Sağlıklı yaşam alışkanlıklarının

bazıları günlük fiziksel aktivenin artırılması, tuz kullanımının azaltılması, kilo kontrolünün sağlanması, alkol ve sigara kullanımının bırakılması ve dengeli beslenmeye özen gösterilmesi olarak örneklendirilebilir (Aydın ve Öztürk, 2014; Çeçen ve Bulur, 2015; Mutluay, 2017; Üstü ve Uğurlu, 2018; Yıldırım, 2021).

2.3.4. Hastalık bilgisi

Hipertansiyon dünya genelinde yaygın olmasına rağmen farkındalığı düşük bir kardiyovasküler hastalıktır (Sözmen, Ergör ve Ünal, 2015; Yavuz ve diğerleri, 2017; Tör ve Tosun, 2020). Toplumlarda sık görülmesi ve bir çok komplikasyonu nedeniyle ülkeler için önemli bir halk sağlığı sorunu oluşturmaktadır (Albayrak ve Şengezer, 2022; Şahin ve Biçer, 2015). Yapılan bir çok çalışma göstermiştir ki sistolik ve diyastolik kan basıncının yüksekliği kardiyovasküler hastalıklar arasında en çok morbidite ve mortaliteye neden olmaktadır (Aydın ve Öztürk, 2014). İnsanların hipertansiyondan korunma ve kontrol altına alma yönündeki tutum ve davranış değişikliğinde isteksiz ve yetersiz olduğu belirlenmiştir (Arslantaş, Sevinç, Çetinkaya, Günay ve Aykut, 2019; Tör ve Tosun, 2020; Yıldırım, 2021).

2.3.5. Obezite

Önemli halk sağlığı sorunlarında birisi de obezitedir. Vücuda alınan enerji, harcanan enerjiden fazla olduğu durumlarda, vücut artan enerji yağ kitlesi olarak depo etmektedir (Boğaz, Kutlu ve Cihan, 2019). Aşırı kilo oluşumu ile birlikte kan volumünde ve vasküler dirençte artmaya neden olmakta bu da hipertansiyon oluşumunu tetiklemektedir (Uğur, 2018; Yıldırım, 2021).

2.3.6. Alışkanlıklar

Bağımlılık yapan ilaçlar ve kimyasal maddeler (sigara, alkol ve uyuşturucu maddeler gibi) uzun süre kullanılması sonucu bir çok organda olumsuzluklara neden olduğu gibi kardiyovasküler sistemde de ciddi sorunlara neden olabilmektedir. Bunların başında hipotansiyon, hipertansiyon, taşikardi, miyokard infarktüsü, kalp yetmezliği gibi kronik hastalıklar gelmektedir. (Sarımehmetoğlu ve Helvacı, 2014; Tör ve Tosun, 2020). Sigara tek başına kardiyovasküler hastalıklar için önemli bir risk oluşturmaktadır (Uysal, Yaşar ve Sönmez, 2016; Yıldırım, 2021).

2.3.7. Psikolojik durum

Stres, insanların günlük hayatını idame ettirirken, kendisine tehdit olarak düşündüğü olaylara vermiş olduğu psikolojik ve fizyolojik tepkilerdir. Bu tepkilerle baş edemediği durumlarda anksiyete ve depresyon gibi psikolojik rahatsızlıklar ortaya çıkabilmektedir. Bu durum bir çok hastalığın gidişatını olumsuz etkilediği gibi kardiyovasküler hastalıklarda da mortalite ve morbidite riskini ciddi artırmaktadır (Yalçın, 2017; Yıldırım, 2021).

2.3.8. Peryodik sağlık muayenesi

Geçmişte dünyada ölümcül hastalıklar sıralamasında ilk sırada bulaşıcı hastalıklar varken, günümüzde bunun yerini bulaşıcı olmayan kronik hastalıklar almıştır (Ersoy ve Saatçi, 2017). Kronik hastalıkların büyük bir çoğunluğu sağlıklı yaşam tarzından kaynaklanmakta, peryodik sağlık muayeneleri ile kronik hastalıkların önlenmesi ve/veya sağlıklı sürdürülebilir yaşam standartlarının oluşturulmasında büyük fayda sağlanmaktadır (Kut, Sözen ve Aydemir, 2015; Yıldırım, 2021).

2.4. Hipertansiyon Tedavisinde İlaç Dışı Yöntemler

Hipertansiyonun tedavi edilmesi, hastalığın komplikasyonlarının engellemesi veya hafifletilebilmesi için ilaç kullanımı ve/veya ilaç kullanımı haricinde alınacak önlemler hayati önem taşımaktadır. Bunların başında yaşam tarzı değişikliği gelmektedir. Yaşam tarzı değişikliği özellikle sigara kullanılmaması, tuz alımının azaltılması, alkol alımının kısıtlanması, ideal kilo değerlerine ulaşılması, dengeli beslenme, fiziksel aktivitenin artırılması ve stresten uzak durulması en önemlileridir (Aker, Doğaner ve Aydoğan, 2020; Demir, 2021; Güler, Ateş, Yılmaz ve Akgül, 2020; Ilgaz ve Özer, 2017; Sürme, 2019;).

2.5. Hipertansiyon Tedavisinde Antihipertansifler

Tansiyonun uzun süre yüksek olması ve önerilen beslenme ve yaşam değişikliği ile kontrol altına alınamaması durumunda uzman doktorlar tarafından ilaç tedavisine geçilmektedir. İlaç tedavisinde başlanılmasındaki amaç kan basıncını kontrol altına alarak hastalığın kronikleşmesini ve ikincil hastalıkların oluşumunun önlenmesini sağlamaktır (Demir; 2021;

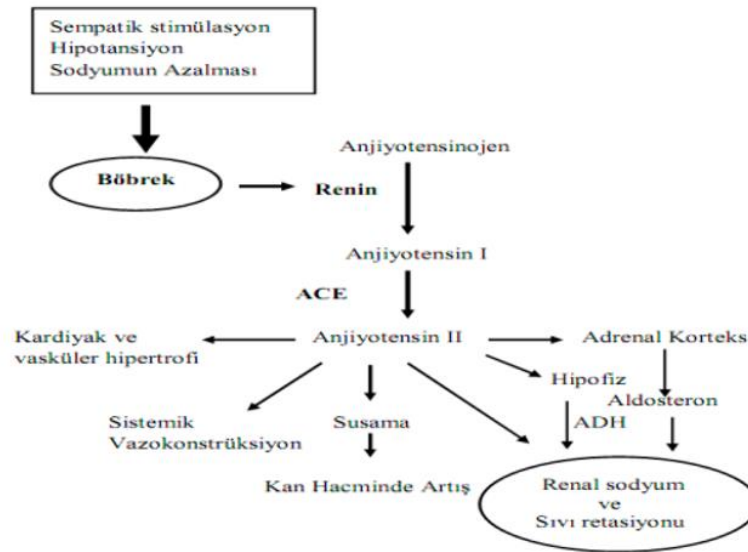
Fukunaga ve diğerkleri, 2008; Kılıç ve Üstü, 2012; Tör ve Tosun, 2020). Burada amaç hipertansiyon hastalarında, hastanın yaşam kalitesinin artırmak, kardiyovasküler hastalık riskini azaltmak, doku ve organ hasarını engellemek, morbitite ve mortalite riskini düşürmek ve yaşamı tehdit eden yan etkileri önlemektir (Dağ ve Kahraman, 2019; Tör ve Tosun, 2020).

Hipertansiyon hastalarının tümüne yaşam tarzı değişikliği önerilmelidir ve bununla birlikte risk arttıkça farmakolojik tedaviye başlanmalıdır. Yaşam tarzı tedavileri etkili olmayan durumlarda en az 140/90 mmHg kan basıncı olan hastalara ilaç tedavisi başlanmalıdır (Gao, Xu ve Cai, 2021). Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlar aşağıda açıklanmaya çalışılmıştır.

2.5.1. Anjiyotensin dönüştürücü enzim inhibitörleri

Böbreklerdeki jukstaglomerül (böbrekte renin salgılayan hücreler) hücreler tarafından salınan renin (anjiotensinojenaz) enzimi karaciğerde, anjiyotensinojeni anjiyotensin-1'e dönüştürür. Anjiyotensin-1 anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) ile anjiyotensin-II'ye dönüştürülür (Maggioni, 2006). Anjiyotensin-II RAAS (renin-anjiyotensin sistemi) yolağındaki en önemli vazoaktif peptittir (sindirim sisteminde etkili olan polipeptit bir hormandır). RAAS sistemi vücudumuzda tansiyonun dengelenmesi ve sıvı-elektrolit dengesini ayarlanmasını sağlayan hormonal bir sistemdir. Anjiyotensin-II etkisini AT-I ve AT-II reseptörleri aracılığıyla gösterir. Anjiyotensin-II nin AT-I reseptörlerini aktive etmesi, böbreklerin proksimal tübülünden artmış sodyum ve su absorpsiyonuna, artmış vasküler dirence, düz kas kasılmasına, artmış sempatik aktiviteye, kan basıncının yükselmesine neden olur (Cernes, Mashavi, and Zimlichman, 2011). Proksimal tübülden artan sodyum tutulumu dolaylı olarak Aldosteron salgılamasına neden olur. Kronik artmış anjiyotensin-II düzeyi düz kas ve kalp kası hipertrofisine, endotel disfonksiyonuna, platelet agregasyonuna neden olur. Anjiyotensin-II nin AT-II reseptörlerini aktive etmesi nitroz oksit, bradikinin salgılamasını artırdığından vazodilatasyona neden olur (Maggioni, and Latini, 2002). Ayrıca AT-II reseptörlerinin kardiyoprotektif, antiproliferatif, renal sodyum atılımına neden olan etkileri de mevcuttur (Cernes, Mashavi, and Zimlichman, 2011). RAAS sistemi blokajı çeşitli basamaklarda meydana gelebilir. Doğrudan renin inhibitörleri ile renin salgılaması kesilebilir, Anjiyotensin dönüştürücü enzim (ACE) inhibitörleri anjiyotensin-I in anjiyotensin-II ye dönüşümünü bloklanabilir, Anjiyotensin-II reseptör blokerleri ile anjiyotensin-II nin AT-I e bağlanmasını bloklar ve aldosteron antagonistleri aldosteronun etkilerini bloke edebilir

(Weber, 2002). Bu grupta yer alan ilaçlar akciğerlerdeki anjiyotensin dönüştürücü enzimi (dipeptidilkarboksipeptidaz enzimi) bloke ederler (Alp, Karahan, ve Kalçık, 2018). Kısaca bu enzimin plazmada konsantrasyonunun azalması anjiyotensin I'in, vazokonstriktör etki gösteren anjiyotensin II'ye dönüşmesini engellerken yine vazodilatör etki gösteren bradikinin yıkımını da engellemektedir. Ayrıca anjiyotensin II'nin plazmada azalması adrenal korteksten (böbrek üstü bezinin kabuk katmanı) aldosteron (böbreklerde tuz ve su seviyesini dengeleyen, steroid hormon) salgılamasını uyarır. ACE'nin inhibe olması, anjiyotensin II'nin ve aldosteron salgılamasının azalmasına, böylelikle vazopresör aktiviteye neden olmaktadır. ACE'ler renin-anjiyotensin sistemi bloke eden anjiyotensin-1'in anjiyotensin-2'ye dönüşümünü engelleyerek, bradikinin (damarla ilgili olmayan düz kasların kasılmasını sağlayan madde) parçalanmasını engeller ve nitrit oksit salgılamasını artırarak vazodilatasyon sağlar. Bunun sonucunda kan basıncını düşürücü etki yapar (Demir, 2021; Onat ve diğerleri, 2017; Thomopoulos, Parati ve Zanchetti, 2017; Weber ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.1. ACE'nin bazı etki mekanizmaları (Topal, 2010)

2.5.2. Anjiyotensin reseptör blokerleri

Anjiyotensin reseptör blokerler (ARB)'ler ACE'ler gibi anjiyotensin-2'nin anjiyotensin-2 tip 1 (AT1) reseptörüne bağlanmasını bloke ederek damar genişletici etki göstermektedir

(Demir, 2021; Onat ve diğerkleri, 2017; Thomopoulos, Parati ve Zanchetti, 2017; Weber ve diğerkleri, 2014).

2.5.3. Diüretikler

Hipertansiyon tedavisinde diüretikler sodyumun tübüler geri emilimini bloke ederek vücuttan su atılımını artırır. Böylelikle plazmadaki yoğunluk azalmakta ve kan basıncı düşmektedir (Demir, 2021; Weber ve diğerkleri, 2014; Williams ve diğerkleri, 2018).

2.5.4. Kalsiyum kanal blokerleri

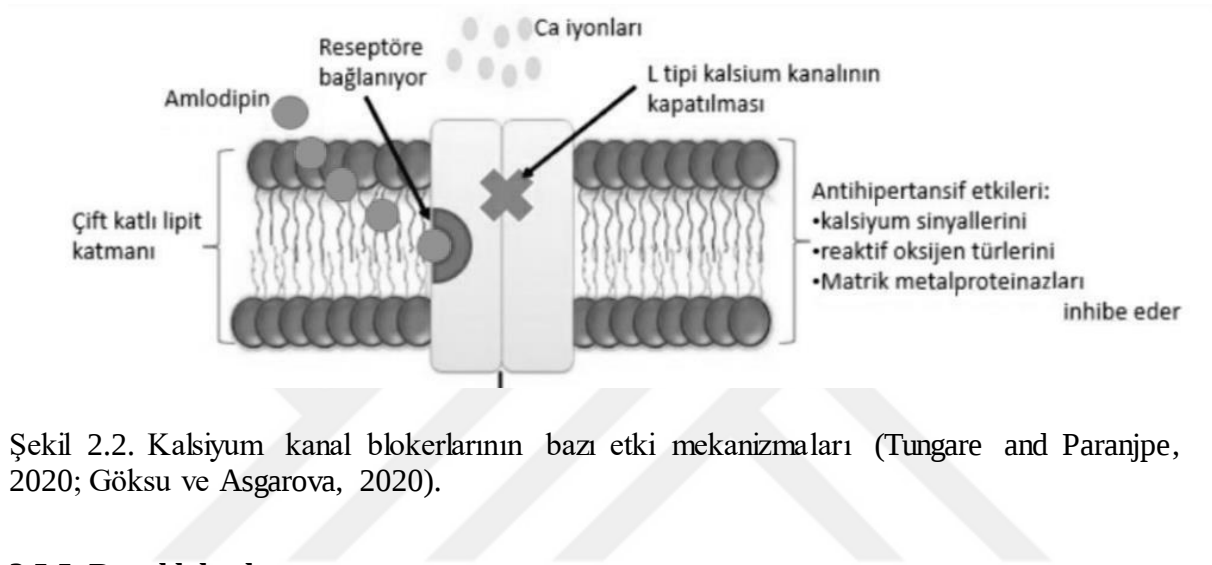
Bu grupta bulunan ilaçlar, miyokard hücre membranları ve damar düz kaslarında adrenerjik (alfa-1 ve beta-1) ve angiotensin II tip 1 reseptörlerin uyarılması ile çalışan, voltaja bağımlı (yüksek voltaj ile aktive olan) L-tipi yavaş kalsiyum kanallarını inhibe ederler. Miyokard ve damar düz kası hücrelerine Ca^{2+} iyonlarının girişini azaltarak , hücre içerisinde Ca^{2+} iyon seviyesini düşürürler. İyon düzeyinin düşmesi eksitasyon- ontraksiyon ilişkisini bozarak vasodilatasyon oluşumuna neden olur. Bu ilaçların düz kas hücreleri üzerindeki etkisi, arteriyel duvarda, venöz yatağa göre çok daha fazladır. Kalsiyum kanal blokerlerinin antihipertansif etki mekanizması, meydana gelen arteriyel dilatasyon sonucu periferik direnci azalmasıdır (Alp, Karahan ve Kaçık, 2018; Olowofela ve Isah, 2017).

Kalsiyum kanal blokerleri (KKB), damar düz kasları üzerinde gevşetici etki gösteren dihidropiridin (DHP) grubu (amlodipine, felodipin, nitrendipin vb.) ve kardiyak etkisi (kasılma ve kalp hızı) ön plana çıkan nondihidropiridin grubu (gallopamil, diltizem, verapamil vb.) ilaçlardan oluşmaktadır (Ettehad ve diğerkleri, 2016; Law, Morris ve Wald, 2009; Weber ve diğerkleri, 2014).

Verapamil ve diltazem gibi non-dihidropiridin grubunda bulunan ilaçların kalsiyum kanal tipi seçiciliği düşüktür. Bu özelliklerinden dolayı, arterioler düz kaslarında etkili olduğu gibi aynı zamanda kalp kası üzerinde de etkilidirler. Bu grup ilaçların vazodilatator etkileri daha zayıf olmasına rağmen iletiyi deprese edici etkileri ve kardiyak kontraktiliteleri daha belirgindir. Nifedipin, felodipin ve amlodipin gibi Dihidropiridin grubundaki ilaçların, vasküler kalsiyum kanallarına affiniteleri kardiyak kalsiyum kanallarından çok daha

fazladır. Bu nedenle vazodilatasyon etkileri daha çok ön plana çıkmaktadır (Alp, Karahan ve Kalçık, 2018; Olowofela ve Isah, 2017).

Yapılan farklı çalışmalarda, amlodipine ve nifedipin gibi dihidropiridinlerin, inme ve kardiyovasküler hastalıklar üzerinde olumlu etkileri olduğu gösterilmiştir (Alkan ve Anlaş, 2015; Demir, 2021; Ettehad ve diğerleri, 2016; Weber ve diğerleri, 2014).



Şekil 2.2. Kalsiyum kanal blokerlerinin bazı etki mekanizmaları (Tungare and Paranjpe, 2020; Göksu ve Asgarova, 2020).

2.5.5. Beta blokerler

Beta blokerler böbrekten renin salımını azaltarak, kan basıncını ve sıvı dengesini düzenleyerek etki etmektedir (Corrao ve diğerleri, 2008; Demir, 2021; Weber ve diğerleri, 2014).

2.5.6. Diğer antihipertansif ilaçlar

Bu grup içerisinde yer alan antihipertansif ilaçlar özellikle santral sinir sistemine etki ederek, sempatikolitik etki yapan ilaçları içermektedir. Alfa reseptörü bloke ederek santral sinir sistemini etki ettiği ve tolerabitesi az olduğu için daha az kullanılmaktadır (Chapman ve diğerleri, 2008; Demir, 2021; Weber ve diğerleri, 2014; Williams ve diğerleri, 2018).

2.6. Genotoksisite

İlaçlar klinikte kullanılmayan başlanmadan önce yan etkilerinin belirlenebilmesi için toksisite testleri yapılmaktadır. Bunun yapılmasında amaç ilacın akut ve kronik toksik

etkilerini belirlemektir. Ayrıca genotoksik etkilerini belirlemek için genotoksisite testleride yapılmaktadır. Genotoksik potansiyeli yüksek çıkan ilaçlar daha ilaç geliştirme aşamasındayken sentezin durdurulmasına neden olmaktadır (Dorn ve ark., 2007; Benigni ve ark., 2020). Ancak literatürde birçok ilaç etken maddesinin farklı hücre gruplarında genotoksik olup olmadığına dair bilgi yetersizliği bulunmaktadır. Veri açığının çok fazla olduğu bu konu da bilim insanları çeşitli ilaçların mutajenik, kanserojenik ve genotoksik etkilerini araştırmak için *in vivo* ve *in vitro* birçok test yöntemi kullanmaktadırlar (Avuloğlu -Yılmaz vd., 2017; Novak vd., 2017; Gajski vd. diğerleri, 2018; Sosedova ve diğerleri, 2020; El-Alfy, Alqosaibi, Mahmoud ve Abdullah, 2021).

Çeşitli kimyasalların mutajenik özelliklerini belirlemek için genotoksisite çalışmaları tercih edilmektedir. DNA hasarının genetik değişime yol açtığı, bunun sonucu olarak da kanseri başlatan bir mekanizma olduğu kabul edilmektedir. Genotoksisite testleri ile DNA hasarının belirlenmesi ve kanser riskinin erken tanısında yardımcı olabilmektedir (Doak, Liu, ve Chen, 2012; Evazalipour, Moayedi, Safarzadeh-Kozani, Pou, Safarzadeh- Kozani, Poo. Ve Zamani, 2021; Siccska, Mokra, Wozniak, Michałowicz ve Bukowska, 2021).

Kimyasal ve/veya fiziksel mutajenlerin neden olduğu genetik değişiklikleri ortaya çıkarmak için bakteri, bitki veya memeli hücreleri *in vivo* ve *in vitro* testlerde sıklıkla kullanılmaktadır. Bunlardan en sık olarak kullanılanların başında insan periferik lenfosit kültürleri gelmektedir. Lenfosit kullanmanın birçok avantajı vardır. Kolay ve tekrarlanabilir şekilde elde edilebilmeleri ve çok az miktarda periferik kanda çok fazla lenfosit bulunması bunlardan bazılarıdır. Ayrıca, kan hücreleri potansiyel olarak kimyasal ajanların etkilerine diğer dokulardan daha duyarlıdır. Özellikle insan lenfositleri, kimyasalların mutajenik ve genotoksik potansiyelinin ortaya çıkarılmasında çok büyük avantajlar sağlamaktadır (Lerda ve diğerleri, 2005; Unal ve diğerleri, 2021). Mikronükleus, kardeş kromatid değişimi, kromozomal aberasyon ve comet analizleri, insan lenfositlerinde yaygın olarak kullanılan mutajenite analizleridir (Doak ve diğerleri, 2012; Cayir ve diğerleri, 2020; Rezende ve diğerleri, 2020; Ünal ve diğerleri, 2021; Zoric ve diğerleri, 2021).

Toksikoloji bilimin bir alt dalı olan genetik toksikoloji, toksik maddelerin kalıtsal materyalde meydana getirdiği hasarları inceleyen bir bilim alanıdır. Ayrıca fiziksel ve kimyasal hasara neden olan bu toksik maddelerin etki mekanizması ile hücrelerin bu maddelere verdiği cevabı da incelemektedir (Unal, Korkmaz, Suludere, Erol ve

Yuzbasioglu, 2021; Yüzbaşıoğlu, Enguzel-Alperen ve Ünal, 2018). Genotoksisite testleriyle kromozomda meydana gelen anojenik (sayısal) ve klastojenik (yapısal) hasarlar, DNA'da meydana gelen eklentiler ve zincir kırıkları, hücre siklusunda ve DNA onarım mekanizmasında görev yapan enzimlerdeki bozulmalar hakkında da bilgi alınabilmektedir (Alkan ve Anlaş, 2015; Ünal, Taner, Yüzbaşıoğlu ve Yılmaz, 2013; Yüzbaşıoğlu, Zengin ve Ünal, 2014). Bu hasarların genetik materyalde birikmesi sonucu dokularda harabiyet oluşmakta bunun sonucu olarak yaşlanma, nörolojik ve kardiyovasküler hastalıklar gibi kronik hastalıklar ve hatta ölümler bile gerçekleşebilmektedir (Ataseven, Yüzbaşıoğlu, Keskin ve Ünal, 2016; Timoroğlu ve diğerleri, 2014; Unal ve diğerleri, 2021).

In vivo ve *in vitro* ortamlarda yapılabilen genotoksisite testleri sonucunda kimyasal, biyolojik ve fiziksel bir ajanın kromozom hasarı ve/veya mutasyona oluşturma potansiyeli olup olmadığı belirlenebilmektedir. Yapılan testler sonucu elde edilen verilerle insanlar, bitkiler ve hayvanlar için genotoksisite risk değerlendirilmesi yapılabilmektedir. Ayrıca kullanılan ve geliştirilmekte olan bir ilacın veya kimyasalın kansere neden olma potansiyeli belirlenebileceği gibi, oluşturabileceği olası genetik hasar da ortaya konabilmektedir (Alkan ve Anlaş, 2015; Baldrick, 2021; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2018).

Genotoksisite testleri *in vitro* ortamlarda izole edilmiş hücreler üzerinde çalışmaya uygun olması ve çalışmaların hücresel düzeyde yapılabilmesine olanak sağlaması nedeniyle mutajenite değerlendirilmesine çok önemli bir avantaj sağlamaktadır. Ayrıca kimyasalların etkiledikleri hücreleri spesifik olarak tespit edebilmek için fikir verebildiği gibi ksenobiyotik mekanizmayı ve mekanistik çalışmaları, *in vitro* koşullarda daha iyi göstermeye yardımcı olmaktadır (Ünal & Yüzbaşıoğlu, 2022:10; Singh, Khanna ve Pant, 2018:19).

2.7. Genetik Toksisite Testleri

Günümüz yaşam koşullarının kimyasallara maruziyetin ciddi oranda artmasına neden olduğu, buna bağlı olarak da genetik anormallikler ve kanserleşme oranının tüm dünyada endişe verici ölçüde artış gösterdiği görülmektedir. Bu durum özellikle gelişmiş ülkelerde genotoksisite testlerinin önemine olan farkındalığın artarak kimyasallar ve diğer bütün materyallere bu testlerin uygulanmasını zorunluluk haline getirmiştir. Çevre Koruma Ajansı (EPA), Gıda ve İlaç Dairesi (FDA) gibi düzenleyici kuruluşlar yayınladıkları raporlarda, kimyasalların piyasaya sürülmeden önce *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda mutajenite

potansiyellerinin belirlenmesi gerektiğini vurgulamışlardır (Proudlock, 2016: 1-3; Sundar, Jain ve Vallani, 2018: 191- 228).

1970’li yıllardan beri kullanılan ve her geçen gün gelişmekte olan birçok genotoksisite testi bulunmaktadır. *In vitro* ve *in vivo* ortamda kolaylıkla uygulanabildiği için en çok kullanılan genotoksisite testleri: Ames testi, Kromozom anormallikleri (KA) testi, Comet testi, Mikronükleus (MN) testi ve Kardeş kromatit değişimi (KKD) testleridir (Rezende ve diğerleri, 2020; Ünal ve diğerleri, 2021; Zorić ve diğerleri, 2021).

2.7.1. Ames testi (Salmonella/Mikrozoim mutajenite testi)

AMES testi biyokimya uzmanı Bruce Ames tarafından 1970’li yıllarda bulunan ve günümüzde de hala geçerliliği olan bir testtir. Bu testin tercih edilmesindeki en önemli nedenleri kullanılan bakterinin (*Salmonella typhimurium* ve *E.coli*) tüm mutasyonlarının bilinmesi, uygulamasının kolay olması, geçerliliğinin günümüzde devam etmesi ve hassasiyetinin yüksek olması sayılabilir (Albertini, 2000; Doak, Manshian, Jenkins ve Singh, 2012; Gönay ve Halisdemir, 2022). Bu testin en büyük özelliklerinden bir tanesi antimutajenik ve anti kanseronejik maddelerin tayininde de kullanılabilmesi olduğu gibi memeli canlılarda; tümör baskılayıcı genlerde oluşan nokta mutasyonların belirlenmesinde kullanılmasıdır (Akyl, 2018; McCann, Yamasaki ve Ames, 1975; Aşçı ve Toğay, 2022).

2.7.2. Comet testi

Comet yöntemi, alkali pH’da farklı molekül ağırlıklarına ve farklı elektrik yüke sahip DNA moleküllerinin elektriksel alanda farklı göç etmeleri esasına dayanmaktadır. Göçme süreleri dikkate alınarak yapılan bu testte, DNA’da hasar oranıyla göç etme hızı doğru orantılıdır (Doak ve diğerleri, 2012). Comet testi ile fiziksel ve kimyasal mutajenlerin neden olduğu DNA kırıklarının tayini, hastalarda artmış DNA hasarının belirlenmesi, kanser hastalarında DNA hasarının derecesi ve onarımının tespiti ve bazı kalıtsal hastalıkların doğum öncesi tanısının belirlenmesi için kullanılmaktadır (Aşçı ve Toğay, 2022; Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2020; Dikilitaş ve Koçyiğit, 2010). Bu yöntemi diğer genotoksisite testlerinden ayıran özellikler, genotoksik maddelerin hücrede ilk etkilediği bölgeyi tespit etmesi, çok küçük hasarları bile kolaylıkla tespit edebilmesi, birçok ökaryotik hücrede çalışma imkânı sağlamasıdır. Ayrıca az miktarda numuneye ihtiyaç duyulması, yöntemin maliyetinin düşük

olması ve hızlı sonuç elde edilebilmesi sayılabilmektedir (Atlı-Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2020; Dinçer ve Kankaya, 2010).

2.7.3. Kromozom anormallikleri (KA) testi

Kromozom anormallikleri testi, kansorejen maddelerin neden olduğu genomik kararsızlığın erken safhada ortaya çıkarılmasında kullanılan önemli bir testtir (Knudsen ve Hansen, 2007). Bu genomik kararsızlık tek nükleotit mutasyonlarına neden olabildiği gibi sayısal (triploidi, tetraploidi, trizomi, monozomi gibi) ve yapısal (halka ve disentrik, asentrik kromozom ve kromotit kırığı gibi) anormallikleri içine alan geniş bir genomik hasara neden olabilmektedir (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu, Özçelik, Ersan ve Ünal, 2017; (Mišák ve diğerleri, 2022; Russo ve diğerleri, 2015).

Ayrıca hücre proliferasyonu sırasında hücreyi apoptoza götürebilecek aberasyonlara (kromatit değişimleri, halka kromozom, fragment, kromatit ve kromozom kırıkları gibi) sahip olan hücrelerin belirlenmesini sağlamaktadır. Periferik kandan elde edilen lenfositlerde artmış kromozom anormallikleri frekansı ile kanser riski arasında aynı doğrultuda artan bir ilişki olduğu tespit edilmiştir (Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2017; Baldrick, 2021; Ginzkey ve diğerleri, 2014; Hagmar ve diğerleri, 1998; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2018). Ek olarak, söz konusu hasarın artışı ile orantılı olarak hücrede toksisite ve genomik kararsızlığın arttığı da bilinmektedir (Aşçı ve Toğay, 2022; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2020; Soltani ve diğerleri, 2009).

2.7.4. Kardeş kromatit değişimi testi (KKD)

Kardeş kromatit değişimi, DNA'nın kendini kopyaladığı sırada, kardeş kromatitlerdeki homolog lokuslarının simetrik olarak yer değiştirmesidir. Böylece kromozomun morfolojisi değişmeden kardeş kromatitlerin homolog bölgelerindeki genetik materyal değişimi sonucu oluşan bölgelerin tespit edilmesi sağlanmaktadır (Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2017; Çobanoğlu, 2021; Knudsen ve Hansen, 2007; Kontaş, 2011; Yılmaz, Ünal, Yüzbaşıoğlu ve Gönenç, 2015; Yüzbaşıoğlu, Yılmaz ve Ünal, 2016)

Bu test, genotoksik ajanlara uzun süre maruz kalınması sonucu oluşan hasarların ve popülasyondaki değişikliklerin takip edilmesinde ve bunun sonucu oluşan genomik

anormalliklerin tespit edilmesinde kullanılan sitogenetik bir yöntemdir. Yapılan birçok çalışmada ise genotoksik hasara neden olabilecek ajanların mutajenik etkisi ile kardeş kromatid değişimi arasında pozitif bir bağlantı olduğu tespit edilmiştir (Çobanoğlu, 2021; Yılmaz ve diğerleri, 2015; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2018).

2.7.5. Mikronükleus (MN) Testi

Mikronükleus (MN) testi, çeşitli biyolojik ve kimyasal ajanlara maruz kalınması sonucu oluşan, genotoksik hasarların tespit edilmesinde kullanılan yaygın ve pratik bir genotoksisite testidir. *In vivo* ve *in vitro* her iki ortamda kolay uygulanabilir olması en büyük avantajları arasındadır (Baldrick, 2021; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2018;). Sitokinezi Bloklanmış Mikronükleus testi olarak adlandırılan yöntemde en fazla insan lenfositleri (Aykanat ve diğerleri, 2011; Bonassi ve diğerleri, 2007; Çakmak-Demircigil ve diğerleri, 2010; Pedersen ve diğerleri, 2006), kullanılsa da idrar epitel hücreleri (Burgaz, Işcan, Büyükbingöl, Bozkurt, ve Karakaya, 1995), yanak epitel hücresi (Aykanat ve diğerleri, 2016; Cavalcante, Sposito, Crispim, Nascimento ve Grisolia, 2017; Çakmak-Demircigil ve diğerleri, 2014; Villarini ve diğerleri, 2018) ve burun epitel hücreleri (Burgaz ve diğerleri, 2002; Çakmak-Demircigil ve diğerleri, 2010) gibi hücre tiplerinde de mikronükleus testinde sıklıkla yapılabilmektedir.

Mikronükleuslar somatik hücrelerde gerçekleşen mitoz bölünmenin anafaz safhasında ana çekirdeğe katılmayarak geri kalan tam bir kromozom veya kromozom fragmentleridir (Safi, Şahan, Topuz, & Onak 2023; Bonassi ve diğerleri, 2001; Fenech, 2007; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2016). MN frekansının artması, hücrede DNA hasarının veya mutasyonların arttığını buna bağlı olarak da kanser riskinin arttığını göstermektedir. MN artışı ile kanser riski arasında orantılı bir artış olduğunu gösteren birçok çalışma bulunmaktadır (Avuloğlu Yılmaz, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2017; Bolognelli ve Fenech, 2013; Mendonça ve diğerleri, 2009; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2018; Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2016).

2.8. Antihipertansif İlaçlarla Yapılmış Genotoksisite Çalışmaları

Literatüre bakıldığında birçok kimyasal maddenin olduğu gibi antihipertansif ilaçların da genotoksisitesinin araştırıldığı görülmektedir. Bu tez çalışmasında genotoksik etkileri

incelenen antihipertansif ilaç etken maddeleri olan Amlodipine ve Ramipril'in farklı araştırmacılar tarafından bazı yöntemlerle genotoksitesinin incelendiği çalışmalar mevcuttur.

2021 yılında Amlodipine'nin *in vitro* genotoksitesini incelemek amacıyla kromozomal anormallik testi kullanılmıştır. Bu amaçla 20 sağlıklı bireyden alınan insan kan lenfositlerine belirli konsantrasyonlarda 72 saat ilaç uygulaması yapılmıştır. Sonuç olarak Amlodipine'in en yüksek konsantrasyonda (50 mg/mL), kontrole kıyasla kromozomal anormallikleri arttırdığı, ancak bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Sayran, Rawaa, Dian ve Asaad, 2021).

Ramiprilin metabolik yıkım ürünü olan diketopiperazin (DKP)'in genotoksik potansiyelini tespit etmek amacıyla mikronükleus ve ames testi kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda DKP'nin en yüksek konsantrasyonda kontrole göre MN oluşumunu üç kat artırarak anojenik etki ile genotoksiteye sebep olduğu gösterilmiştir. Ames testinde ise saf DKP'nin mutajenik olmadığı fakat bunun nitrozo ürününün baz mutasyonlarına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle Ramipril kullanımında doz ayarlamasının önemli olduğu vurgulanmıştır (Regulska, Matera-Witkiewicz, Stanis, 2023).

Antihipertansif ilaçların diüretik grubunda olan tiyazid ve tiyazid benzeri türevlerinden Bendroflumetiyazid'in mikronükleus testi ile genotoksitesi araştırılmıştır. Çin hamster V79 hücreleri kullanılarak yapılan çalışma sonucunda bu ilacın MN ve NBI (nükleer bölünme indeksi) değerlerini etkilemediği görülmüştür (Kersten, Kasper, Brendler-Schwaab ve Müller, 2002).

KKB'larından olan nimodipine'nin genotoksik olup olmadığını belirlemek için KKD ve MN testleri uygulanmıştır. Bununla birlikte MN hücreleri FISH tekniği ile incelenmiştir. İnsan periferik lenfositlerinin kullanıldığı bu çalışmada uzun süre nimodipine kullanan hastalarda kardeş kromatit değişimi ve mikronükleus frekasının değişmediği gözlemlenmiş, ancak sağlıklı bireylerle yapılan çalışmada MN frekansını artırdığı, KKD'de değişime neden olmadığı sonucuna varmışlardır (Telez ve diğerleri, 2001).

Bazı antihipertansiflerin ise genotoksik olduğunu tespit eden çalışmalarda bulunmaktadır. Bununla ilgili 2006 yılında 164 antihipertansif ilaç etken maddesi ile ilgili bir derleme

çalışma yapılmıştır. Çalışma sonucun göre bu ilaçlarından 48 tanesinin en az bir tanesinin genotoksik veya karsinojenik sonucunun pozitif olduğu sonucuna ulaşmışlardır. Ayrıca 99 tane ilaç maddesinin genotoksisite testinin yapıldığı ancak 65 tanesinin yapılmadığı anlaşılmıştır (Brambilla ve Martelli, 2006; Sayran ve diğerleri, 2021).

Hipertansiyon tedavisinde diüretik olarak kullanılan hidrokloriyazidin insan lenfositlerinde MN, NBI ve FISH analizleri yapılarak genotoksisitesine bakılmıştır. Bu çalışma için 32 sağlıklı donör kullanılmış ve bu ilacın MN frekansını arttırdığı, NBI ise azalttığı tespit edilmiştir. FISH inceleme sonucuna göre 40 µg/ml'lik konsantrasyonda genotoksik etkisinin yüksek olduğu, MN oluşumunun da daha çok anojenik olarak gerçekleştiği sonucuna ulaşılmıştır (Andrianopoulos, Stephanou ve Demopoulos, 2006)

Antihipertansif ilaç etken maddelerinden olan atenolün (β -bloker) hem *in vivo* hemde *in vitro* olarak insan periferik lenfositlerinde MN ve KKD testleri yapılmıştır. FISH tekniği ile de mikronukleuslar incelenmiştir. Bu araştırma sonucunda MN frekansı kontrol grubuna göre bir artış göstermezken, hasta bireylerde artışa neden olmuştur. FISH incelemesinde de kontrol ve hasta grubunda istatistiksel bir anormalliğe neden olmadığı görülmüştür. KKD testinde ise hiçbir artışa neden olmamıştır. Ancak uzun süre atenol kullanımının kromozom kaybı neden olduğu için genotoksik olduğu ve dikkatli kullanılması gerektiği vurgulanmıştır (Telez ve diğerleri, 2000). 2010 yılında Telez ve arkadaşlarını atenol üzerinde başka bir çalışma yapmışlardır. Burada amaçlanan ise florasin in situ hibridizasyon tekniğini kullanarak atenolün kromozomal düzeyde hasarın kaynaklandığı bölgeyi tespit etmektir. Yapılan çalışma sonucunda kontrole göre kromozom anormalliğinin yüksek derecede arttığını ve 12q12-21 bandında oluşan kırılan bölgelerin atenol kullanan hastalarda arttığını belirlemişlerdir. Ayrıca 7, 11, 17 ve X kromozomlarının mikronukleus oluşumu üzerinde etkili olduğunu, kromozom 17'de bulunan lokus ile hipertansiyon arasında bir bağlantı olabileceğini sonucuna varmışlardır (Telez ve diğerleri, 2010). Jangala ve arkadaşları tarafından 2012 yılında atenol'un *Allium cepa. L* kök ucu hücrelerinde sitotoksisitesi araştırılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda kromozom anormalliklerini önemli ölçüde tetiklediği ve hücre bölünmesini engellediği, hücre döngüsü ve DNA bütünlüğünü olumsuz yönde etkilediğini tespit etmişlerdir (Jangala ve diğerleri, 2012).

Tiyazid türevi bir antihipertansif olan metolazone'nin erkek albino farelerde genotoksisitesi kemik iliği ve spermatosit hücreleri kullanılarak KA testiyle değerlendirilmiştir. KA

frekansında ve sperm baş anormalliğinde doza bağlı artışların olduğunu ve erkek farelerde sitogenetik etkilerinin yüksek olduğundan dolayı kullanılmasında dikkatli olunması gerektiği vurgulanmıştır (Fyad ve Roshdy, 2010).

Hipertansiyon tedavisinde sık olarak kullanılan diüretik türevi furosemide'nin *in vivo* olarak genotoksitesi Swiss albino farelerinin karaciğer ve kemik iliği hücrelerinde comet ve KA testleri ile incelenmiştir. Kemik iliği hücrelerine comet ve KA testleri, karaciğer hücrelerine ise sadece comet testi gerçekleştirilmiştir. Furosemide'in her iki hücrede de KA frekansını artırmadığı, comet testi sonucunda ise karaciğer hücrelerinin ve kemik iliği hücrelerinin DNA yapılarında kırıklara neden olduğu gözlenmiştir. Kemik iliği hücrelerinde kromozomlarda yapısal anormalliği artırmadığı, ancak karaciğer hücrelerinde toksik etkiye sahip olduğu tespit edilmiştir (Mondal, Tripathi, Vikram, Ramarao ve Jena, 2012).

Hipertansiyon tedavisini Amlodipine ve atenol ile gören hasta donörlerle yapılan başka bir çalışmada lipit peroksidasyon ve DNA hasarı seviyeleri araştırılmıştır. DNA hasarının tespit edilmesi için insan lökosit hücrelerinde comet testi yapılmış, lipit peroksidasyonu belirlemek için ise malondialdehit seviyeleri ölçülmüştür. Yapılan çalışma sonucunda ilaç tedavisi gören hastaların, kan basıncı normal donörlere (kontrol grubu) göre malondialdehit seviyesinin ve genomik kararsızlığının arttığı tespit edilmiştir. Hastalarda artışın nedenlerinin tansiyonun ve kandaki lipit seviyesinin yüksek olması, ilaç tedavisi ve obezite ile bağlantılı olduğu kanısına varılmıştır. Bu etkenler sonucu vücutta oksidatif stresin artmasının yüksek tansiyon hastası bireylerde lipit peroksidasyonuna, protein ve DNA hasarlarına neden olabileceği sonucuna varılmıştır (Thukral ve Gandhi, 2012).

Ronquist ve arkadaşları 2004 yılında antihipertansif ilaçlar ile prostat kanseri arasındaki ilişkiyi incelemişlerdir. İngiltere'de tedavi gören hipertansiyon hastalarının verilerini kullanan araştırmacılar, ACE inhibitörü olan kaptoprilin benign (iyi huylu) prostat kanseri olan hastaların kanser olmayanlara göre malign (kötü huylu) kansere çevirme olasılığını iki kat artırdığını tespit etmişlerdir (Ronquist ve diğerleri, 2004).

Felmeden ve Lip'in 2001'de yaptığı bir derleme çalışmasında hipertansiyon ilaçları ile kanserogeneze arasında farklı sonuçlar olsada bu ilaçların kanser riskini artırdığı fikri savunulmuştur. Bazı çalışmalarda antihipertansiflerin kanserojenik etkileri olduğu,

hipertansiyon ilaç tedavisi ile kanser olma olasılığı arasında pozitif yönlü bir ilişki olduğu vurgulanmıştır (Felmeden ve Lip, 2001).

Hipertansiyon tedavisinde sıklıkla kullanılan hidralazin ve dihidralazinin genotoksik aktivitesini değerlendirmek için *in vitro* ortamda MN testi yapılmıştır. Ratların karaciğer hücrelerinin kullanıldığı bu çalışmada kontrole göre MN değerlerinde azalmaya neden olduğu bulunmuştur. Yapılan çalışma sonucunda karaciğer hücrelerinde bulunan antioksidan enzimlerin (katalaz ve süperoksitdismutaz) hücreyi hidralazin ve dihidralazinin genotoksik etkilerinden koruduğu tespit edilmiştir (Chlopkiewicz, 2001).

2018 yılında Brezilya’da yapılan bir çalışmada anti-hipertansif ilaçlardan olan atenolol, kaptopril, enalapril, hidroklorotiyazid, losartan ve propranololün, insan lenfositleri ve makrofajlarındaki genotoksik potansiyelinin değerlendirilmesi amaçlanmıştır. Bu çalışmada her bir ilaç için ayrı konsantrasyonlar kullanılarak hücre canlılığı, DNA hasarı ve DNA’da meydana gelen çift sarmal kırıkları incelenmiştir. Yapılan incelemeler sonucunda Kaptopril ve Enalapril’in uygulanan doz miktarı ile orantılı olarak hücre canlılığını azalttığı ve DNA hasarını ise arttırdığı tespit edilmiştir. Hidroklorotiyazid’in de test edilen bütün dozlarda DNA hasarına neden olduğu gözlemlenmiştir. Ayrıca DNA sarmalında kırıkların artması ve çift zincirli DNA’nın azalmasının bütün bileşiklerde doza bağlı yükseldiği tespit edilmiştir. Losartan ve Propranolol’ün genotoksik olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (de Moura Leão ve diğerleri, 2018).

2023 yılında Avuloğlu Yılmaz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada hipertansiyon tedavisinde kullanılan İndapamide’nin insan lenfositlerindeki genotoksik etkileri beş ayrı konsantrasyonda ve dört farklı testle (kromozomal anormalliği (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD), mikronükleus (MN) ve comet) değerlendirilmiştir. Yapılan testler sonucunda indapamide’nin kontrole göre KA ve MN frekanslarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını, comet testinde ise yalnızca en yüksek konsantrasyonda önemli hasara neden olduğunu tespit etmişlerdir. Ek olarak 24 saatlik uygulamada KKD frekansı etkilenmezken, 48 saatlik uygulamada en yüksek iki konsantrasyonda KKD sıklığını artırdığını, mitotik indeks değerlerinde ise hemen hemen tüm konsantrasyonlarda azalış olduğunu göstermişler ve sonuçlar göz önüne alındığında, indapamide’nin bu koşullarda önemli bir genotoksik etkiye sahip olmadığını ortaya koymuşlardır (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023).

Huerta ve arkadaşları 2014 yılında yapmış oldukları çalışmalarında hipertansiyon tedavisinde kullanılan Anjiyotensin II reseptör blokerlerinden (ARB'ler) olan Eprosartan, Olmesartan Telmisartan, Candesartan ve Valsartan ilaçlarının genotoksik ve sitotoksik etkilerini incelemişlerdir. Bu çalışmada insan periferik kan lenfositlerini kullanarak, sitokinez blok mikronükleus (CBMN) testini floresan in situ hibridizasyon (FISH) tekniği ile birlikte kullanmışlar, ayrıca sitotoksitenin ölçülmesi için nükleer bölünme indeksini (NBI) saptamışlardır. Çalışmalar sonucunda *in vivo* ve *in vitro* MN frekansında önemli artışların olduğunu göstermişlerdir. Candesartan, Telmisartan ve Valsartan ile tedavi edilen hastalar *in vivo* olarak MN parametrelerinde istatistiksel olarak anlamlı bir artış gösterirken, Olmesartan *in vitro* olarak en yüksek etkiyi göstermiştir. Eprosartan, Olmesartan ve Telmisartan'ın hücre proliferasyonunu azaltmada en yüksek etkiye sahip olduğu sonucuna ulaşmışlardır (Huerta ve diğerleri, 2014).

Brezilya'da 2016 yılında yapılan başka bir çalışmada hipertansiyon tedavisinde kullanılan atenolol, kaptopril, propranolol hidroklorür, hidroklorotiyazid, losartan ve enalapril maleat adlı ilaç etken maddeleri ile insan hücre kültürlerinde genotoksikite testleri yapılmıştır. Comet ve MN testleri kullanılan bu araştırmada, kaptopril ve enalapril maleatın, doz arttıkça hücre canlılığını azaltabildiği ve DNA hasarına neden olduğu, ayrıca atenololün artan doz konsantrasyonlarına orantılı olarak hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir. Hidroklorotiyazidin de bütün dozlarda DNA hasarına neden olduğu rapor edilmiştir. Mutajenik parametrelerine bakıldığında test edilen altı hipertansif ilaç etken maddesinin de mutajenik olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Leao, 2016).

2013 yılında Kim ve arkadaşları antihipertansif olarak kullanılan anjiyotensin II reseptörü antagonistlerinden olmesartan sileksetil'in mutajenitesini ames testi ile araştırmışlardır. Bu test için *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98 ve TA1537) ve *Escherichia coli* (WP2 uvrA) bakterilerini kullanılmış ve sonucunda Olmesartan Sileksetil'in bakteriyel ters mutasyonu indüklediğini göstermişlerdir (Kim ve diğerleri, 2013).

Hipertansiyon tedavisinde kullanılmakta olan Hidralazin (HDZ)'nin, 2014 yılında Sedigh ve arkadaşları tarafından, Çin hamsteri yumurtalık (CHO) hücreesindeki klastojenik etkilerini değerlendirmek için KA testi yapılmıştır. Çalışma sonucunda HDZ uygulanan CHO hücrelerinde kromatid kırılmalarının seviyesi istatistiksel olarak arttığı ve mitotik indeksin ise önemli ölçüde azaldığı sonucuna ulaşılmıştır. Poliploidi seviyesinde ise kontrol grubu ile test edilen madde arasında bir fark olmadığı sonucu bulunmuştur. HDZ'nin CHO hücreleri

üzerinde genotoksik etkisinin görüldüğü vurgulanmıştır (Sedigh-Ardekani, I.Saadat ve M.Saadat, 2014).

2016 yılında Emece ve arkadaşları tarafından yaygın olarak kullanılan antihipertansif ilaçlardan olan Hidroklorotiyazid'in, başlıca metabolik ürünlerinden biri olan salamidin (4-amino-6-klorobenzen-1,3-disülfonamid), ames testi ile mutajenik etkisi araştırılmıştır. Bu test için *Salmonella typhimurium* TA98, TA100, TA 1535, TA 1537 ve *E. coli* WP2 uvrA suşlarına çeşitli konsantrasyonlarda ekim yapılmıştır. Araştırma sonunda salamidin mutajenik olmadığı tanısına ulaşılmıştır (Emerce, Çok, Sarı ve Bostancı, 2016).



3. MATERYAL METOT

3.1. Materyal

Bu çalışmada antihipertansif etken maddesi olarak kullanılan Amlodipine ve Ramipril'in hazır ticari formu kullanılmıştır. Her iki maddenin genotoksik etkilerinin belirlenmesi için kültüre edilmiş insan periferik lenfosit hücreleri kullanılarak, kromozom anormallik (KA) ve Mikronükleus (MN) testi yapılmıştır. Genotoksisite testlerinde kullanılan lenfositler için bir kadın ve bir erkek donörden kan alınmıştır ve donörlerde belirlenen özellikler,

- a) 23-27 yaş arasında olmak
- b) Herhangi bilinen bir sağlık problemi olmamak
- c) Sigara, alkol ve ilaç kullanmamak
- d) En az üç ay içerisinde genotoksik ajanlara maruz kalınmamak şeklinde belirlenmiştir.

Bu çalışma Amasya Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulundan alınan (03.06.2021 tarih ve 85 nolu karar) izin ile yapılmıştır.

3.1.1. Test materyalleri

Amlodipine

Kimyasal adlandırması: Amlodipine

Molekül ağırlığı: 408,879 g/mol

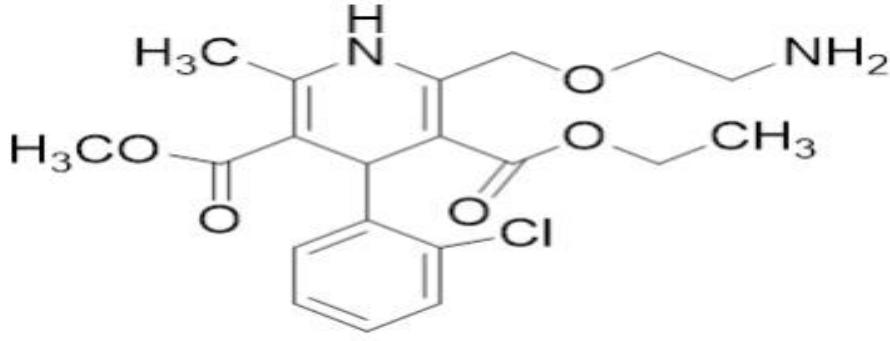
Molekül formülü: $C_{20}H_{25}ClN_2O_5$

CAS No: 111470-99-6

Safılık: $\geq 0,98$ (HPLC) (Sigma-Aldrich)

Sınıflandırma: Kalsiyum kanal blokörü

Yapısal formülü Şekil 3.1'de verilmiştir.



Şekil: 3.1. Amlodipine'in kimyasal yapısı (Stoiljković ve ark., 2012)

Ramipril

Kimyasal adlandırması: Ramiprilat

Molekül ağırlığı: 416,511 g/mol

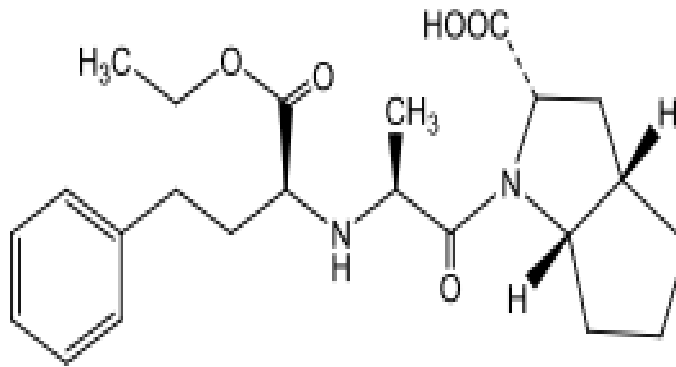
Molekül formülü: $C_{23}H_{32}N_2O_5$

CAS No: 87333-19-5

Safılık: $\geq 98\%$ (HPLC) (Sigma-Aldrich)

Sınıflandırma: ACE İnhibitörü

Yapısal formülü: Şekil 3.2'de verilmiştir.



Şekil 3.2. Ramiprilin kimyasal yapısı (Nagel, Schweitzer, Urbach, Heyse ve Berchtold, 2001)

Yaptığımız çalışmada kullanılan Ramipril ve Amlodipine'nin daha önce yapılmış genotoksisite testleri mevcuttur. Ancak bizim çalışmamızda kullanılan Ramipril ve Amlodipine %98 saflıkta kullanılarak genotoksisite testleri yapılmıştır.

3.2. Metot

Hipertansiyon tedavisinde KKB (kalsiyum kanal blokeri) olan Amlodipine ile ACE inhibitörü olan Ramipril'in genotoksik etkilerini araştırmak için iki farklı genotoksisite testi kullanılarak değerlendirme yapılmıştır. Bu testler Kromozomal Anormallik (KA) ve Mikronukleus (MN) testleridir.

3.2.1 Çalışmada kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi

Çalışmalar için öncelikle her iki ilaç etken madde için de genotoksisite değerlendirmesi yapılacak konsantrasyonlar belirlenmiştir. Bunun için Amlodipine ve Ramipril'in literatürlerde belirtilen kemirgen LD50 dozları referans noktası alınarak çalışmada kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi için hücre proliferasyon kapasitesi mitotik indeks ile tespit edilmiştir. Mitotik indeks (MI) kimyasalların sitotoksik ve sitostatik aktivitelerinin tümöral ve normal deney modellerinde değerlendirilmesi için yararlı bir biyolojik belirteçtir ve mitoz geçiren hücrelerin oranını ölçer. Buna göre, Amlodipine için 200; 100; 50; 25; 12,5; 6,25; 3,13; 1,56; 0,78 ve 0,39 µg/mL'lik, Ramipril için 1250; 625; 312,5; 156,3; 78,13; 62,5; 39,06; 19,53; 9,77 ve 4,88 µg/mL'lik konsantrasyonlar çalışılmıştır. Yapılan incelemeler sonucunda Amlodipine'nin 6,25; 3,13; 1,56; 0,78 ve 0,39 µg/mL'lik konsantrasyonlarının çalışmada kullanılmasına karar verilmiştir. 200; 100; 50; 25; 12,5 µg/mL'lik konsantrasyonlar ise toksik etki göstermiş ve hücrelerin büyük çoğunluğunda ölüme sebep olmuştur. Benzer şekilde Ramipril için ise 312,5; 156,3; 78,13; 62,5; 39,06 µg/mL'lik konsantrasyonlar seçilmiştir. Konsantrasyonlar belirlendikten sonra aşağıda anlatılan yöntemle göre preparatlar hazırlanmıştır.

3.2.2. Kromozomal anormallik (KA) testi

Kromozom anormalliği (KA) testi Evans ve arkadaşlarının 1984 yılında geliştirdikleri metotta (Evans, Kilbey, Legator, Nichol ve Ramel, 1984), Yüzbaşıoğlu ve arkadaşları

(Yüzbaşıoğlu, Çelik, Yılmaz, Ünal ve Aksoy, 2006) tarafından yapılan bazı değişikliklere uyularak gerçekleştirilmiştir.

Genotoksisite testi için uygun bulunan donörlerden alınan kan numuneleri, içerisinde 2500 μL LymphoPlus besiyeri bulunan tüplere ekilmiş ve 72 saat boyunca kültüre edilmiştir. Amlodipine'nin 6,25; 3,13; 1,56; 0,78; 0,39 $\mu\text{g/mL}$ 'lik, Ramipril'in 312,5; 156,25; 78,12; 39,06; 19,53 $\mu\text{g/mL}$ 'lik konsantrasyonları ile hücrelere 24 ve 48 saat uygulama yapılmıştır. İlaç etken maddelerinin uygulandığı saatlere uygun olarak bir negatif kontrol (distile su), bir çözücü kontrol (DMSO 4.18 $\mu\text{L/mL}$) ve bir de pozitif kontrol (0,20 $\mu\text{g/mL}$ mitomisin-C) çalışmaya dâhil edilmiştir. Hazırlanan kültürün, ön işlemini gerçekleştirmek için testin 70. saatinde her tüpe 0,06 $\mu\text{g/mL}$ kolkisin çözeltisi eklenmiştir. 72. saatin bitimiyle kültür işlemi sonlandırılan tüpler 10 dk 1200 rpm devirde santrifüj edilmiş ve üstte kalan kısım uzaklaştırılmıştır. Tüpün dibinde kalan çökeltiye (vorteksin üzerindeyken) 0,75 M KCL çözeltisinden 5 mL yavaş yavaş ilave edilmiştir. Elde edilen homojen karışım 37 °C'de 30 dk inkübasyona bırakıldıktan sonra tekrar santrifüj edilerek süpernatant kısmı uzaklaştırılmıştır. Daha sonra önceden hazırlanarak buzdolabında soğutulmuş olan 3:1 metanol: asetik asit karışımından ilave edilerek 45 dk +4°C 'de bekletilmiş ve bu işlem sonunda iki defa daha fiksasyon işlemi gerçekleştirilmiştir. Tüplerde kalan çökelti homojenize hale getirilerek saf su ile temizlenmiş ve -20 °C 'de bekletilmiş olan lamlara yayılmıştır. Hazırlanan preparatlar oda ısısında, kapalı bir ortamda 24 saat bekletilerek kuruması sağlanmıştır. Kuruyan preparatlar %5 'lik Giemsa boyasında 25 dakika bekletilerek boyanmış ve daha sonra saf sudan geçirilerek fazla boya uzaklaştırılmıştır. Kuruyan boyalı preparatlar entellan ile daimi hale alınmış ve mikroskopta incelemek için hazır hale getirilmiştir.

3.2.3. Kromozom anormalliklerinin (KA) ve mitotik indeksin (MI) saptanması

Kromozomal anormalliğinin tespit edilmesi amacıyla her bir konsantrasyon için metafaz evresinde olan net görünümlü ve homojenize olmuş hücreler incelenmiştir. Bütün konsantrasyonlarda her bir donör için 200 metafaz toplamda 400 metafaz incelenmiştir. Mitotik indeksin belirlenmesinde ise; her bir kimyasalın her bir konsantrasyonunda 2000 hücre toplamda 4000 hücre incelenmiştir. Mitotik indeksin hesaplanmasında ise metafaz evresinde bulunan hücre sayısının, toplam hücre sayısına oranı hesaplanarak yüzdelik olarak ifade edilmiştir.

3.2.4. Mikronükleus testi

Mikronükleus (MN) uygulanmasında Fenech (2000)'in uygulamış olduğu metoda bazı değişiklikler (Palus, Rydzynski, Dziubaltowska, Wyszynska, Natarajan and Nilsson, 2003) yapılarak kullanılmıştır. Bu test için öncelikle 1\10 oranında heparinize edilmiş enjektöre donörlerden kan alınmıştır. Alınan kanlardan 0,2 mL'si lenfositleri kültüre edebilmek için besiyerine ekilmiştir. Tüpler daha sonra 37°C sıcaklıktaki etüvde 72 saat kültür hücrelerinin üreyebilmesi için inkübasyona bırakılmıştır. İnkübasyonun 24. saatinde Amlodipine ve Ramipril'in daha önce belirtilen konsantrasyonlarında kültüre muamele edilmiş ve 44. saatte de sitokinezi engellemek için 5,2 µg/mL Sitokalsin-B eklenmiştir. Ayrıca bir pozitif kontrol (MMC, 0,20 µg/mL), bir negatif (distile su) kontrol ve bir de çözücü kontrol (DMSO 4.18 µl/mL) kullanılmıştır. 72 saatin sonunda kültür işlemi sonlandırılarak 1000 rpm'de santrifüj edilmiş, ardından süpernatant atılmıştır. Kültür tüplerinde kalan pellete 0.075 M KCL çözeltisinden 5 mL eklenerek buzdolabında bekletilmiştir. Ardından tekrar santrifüj edilerek süpernatant atılmıştır. Sonra her bir tüpe 5 mL, 3:1 metanol: asetik asit karışımından oluşan fiksatif ilave edilmiş ve 15 dakika buzdolabında bekletilmiştir. Bu işlemi iki defa tekrarladıktan sonra fiksatife formaldehit ilave edilerek son kez 1000 rpm'de 10 dk santrifüj edilmiştir. Süpernatantı atılan tüpler homojenize edilerek önceden temizlenmiş ve soğutulmuş lamlara yayılarak, 24 saat oda ısısında kuruması için bekletilmiştir. Kurumuş olan preparatlar %5'lik Giemsa boyasında (pH 6,8) 15-20 dk bekletilmiş ve saf su ile fazla boyası uzaklaştırılmıştır. Oda ısısında kurutulan preparatlar entellan ile sabitlenerek mikroskopta incelemeye hazır hale getirilmiştir.

3.2.4.1. Mikronükleus (MN) ve nükleer bölünme indeksi (NBI)'nin tespit edilmesi

Mikronükleus testinde çekirdek bölünmesi tamamlanmasına rağmen, sitoplazmik bölünmesi Sitokalsin-B ile engellenmiş çift çekirdekli (binükleat) hücreler sayılmaktadır. Binükleat hücrelerin sayılma nedeni, kimyasalın ilavesinden sonra bölünmüş olmaları ve bu kimyasalın etkisi sonucu oluşmalarıdır. Bu çalışma da her bir ilaç etken maddesinin etkisinin araştırılması için bir kadın ve bir erkek donör kullanılmıştır. Her bir donöre ait preparattan 2000 binükleat hücre toplamda 4000 binükleat hücre incelenerek değerlendirilmiştir. Hücreler içerdikleri mikronükleus sayılarına göre bir mikronükleuslu, iki mikronükleuslu, üç mikronükleuslu olmak üzere sayılmış ve $[1x(1MN)+2x(2MN)+3x(3MN+4MN)]/N$ (N

incelenen toplam hücre sayısı) formülü kullanılarak hücre başına düşen MN sayısı (MN/hücre) hesaplanmıştır.

Nükleer bölünme indeksi için her bir donöre ait konsantrasyondan 1000 tane (toplam 2000 tane) hücrenin tamamı incelenmiştir. Nükleer bölünme indeksi hesaplanırken 1 çekirdekli (1N), 2 çekirdekli (2N), 3 çekirdekli (3N) ve 4 çekirdekli (4N) olacak şekilde hücreler sayılmıştır. Sayılan hücreler $[1 \times (1N) + 2 \times (2N) + 3 \times (3N) + 4 \times (4N)]/n$ (n incelenen toplam hücre sayısı) formülünden faydalanılarak hesaplanmıştır (Ito, Fukushima, Shirai, Hagiwara, ve Imaida, 1984).

3.2.5. İstatistiki analizler

Çalışmalar sonucunda elde edilen veriler kontrol grupları ile karşılaştırılmalı olarak hücre başına düşen anormal hücre sayısı ve anormal hücre yüzdesi ile mikronükleus frekansı, mitotik indeks ve nükleer bölünme indeksi ile elde edilen sonuçlar, z testi yöntemi ile değerlendirilmiştir. Ek olarak KA/hücre sayısı, anormal hücre sıklığı, MN/ hücre sayısı, mitotik indeks ve nükleer bölünme indeksinin konsantrasyona bağlı etkileri SPSS 25.0 kullanılarak regresyon analizi ile incelenmiştir.

4. BULGULAR

4.1. Amlodipine Uygulaması

4.1.1. Kromozom anormallik (KA) testi bulguları

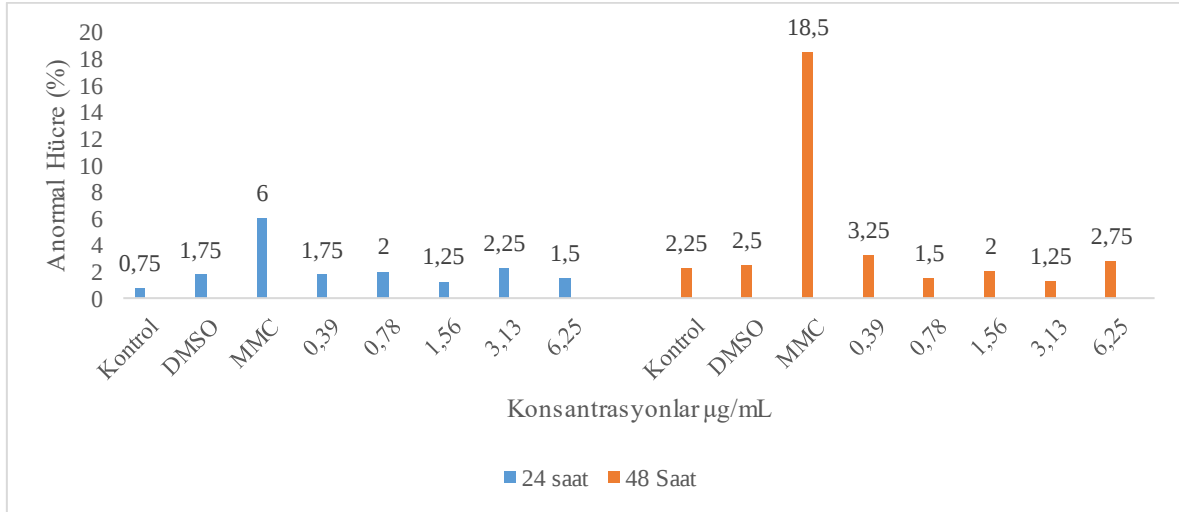
Amlodipine'nin kromozomal anormallik testi sonucunda 24 ve 48 saatlik uygulanma yapılan lenfositlerde altı tip yapısal anormallik gözlemlenmiştir. Bunlar, görülme sıklığına göre sırasıyla kardeş kromatidlerde birleşme (%26,9), kromatid kırığı (%21,8), kromozom kırığı (11,5), disentrik kromozom (%10,3), kromatit değişimi (%7,69) ve fragment (%16,7)'tir. Yapılan çalışmada bir sayısal anormallik olan poliploidi (%5,13) de gözlemlenmiştir (Çizelge 4.1).

Yapılan incelemeler sonucunda Amlodipine'nin 24 ve 48 saatlik muamele sürelerinin her ikisinin de kontrol ve çözücü kontrole kıyasla kromozomal anormallik frekansında anlamlı bir değişikliğe sebep olmadığı görülmektedir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1, Şekil 4.2).

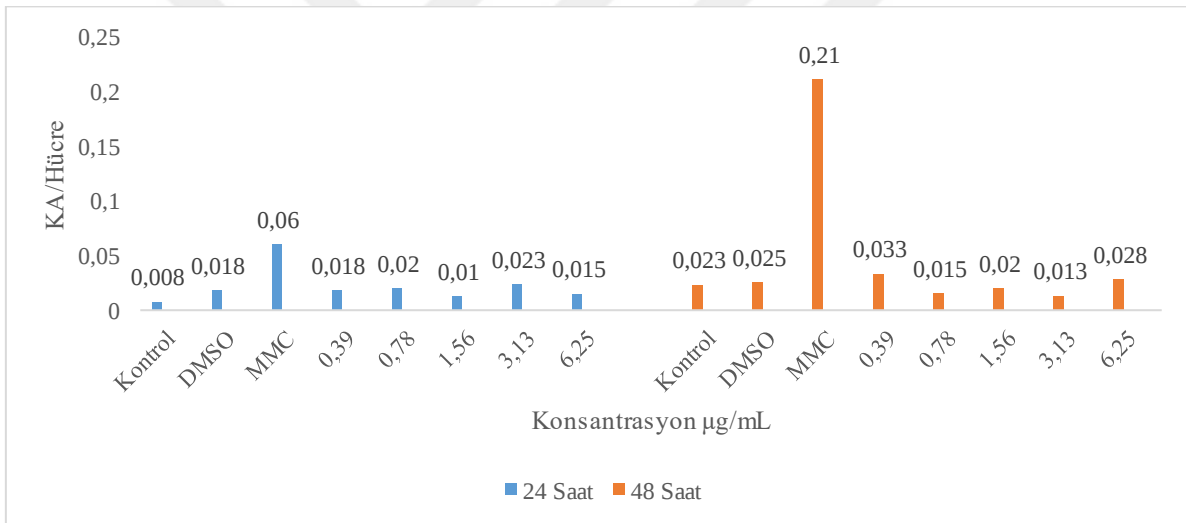
Çizelge 4.1. Amlodipine'in periferik insan kan lenfositlerinde meydana gelen kromozom anormallikleri ve frekans değerleri

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler							KA	
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)								Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH
			ktk	kzk	kkb	ktk	ds	p	f		
Kontrol	24	0	2	-	1	-	-	-	-	0,75±0,43	0,0075±0,004
Çözücü kontrol	24	4,81 (µl/ml)	1	-	5	1	-	-	-	1,75±0,66	0,0175±0,007
MMC	24	0,2	11	3	3	2	3	1	1	6,00±1,19	0,0600±0,012
Amlodipine	24	0,39	4	1	1	1	-	-	-	1,75±0,66	0,0175±0,007
		0,78	4	1	-	-	2	-	1	2,00±0,70	0,0200±0,007
		1,56	-	-	2	-	-	2	1	1,25±0,56	0,0125±0,006
		3,13	3	-	3	1	1	-	1	2,25±0,74	0,0225±0,008
		6,25	2	-	2	-	-	-	2	1,50±0,61	0,0150±0,006
Kontrol	48	0	2	-	3	1	1	1	1	2,25±0,74	0,023±0,008
Çözücü kontrol	48	4,81 (µl/ml)	4	1	2	2	1	-	2	2,50±0,78	0,025±0,078
MMC	48	0,2	23	7	9	25	10	1	9	18,5±1,94	0,210±0,204
Amlodipine	48	0,39	3	2	5	1	-	-	2	3,25±0,89	0,033±0,009
		0,78	1	-	1	-	3	-	1	1,50±0,61	0,015±0,006
		1,56	-	-	3	-	-	2	3	2,00±0,70	0,020±0,007
		3,13	-	1	3	-	-	-	1	1,25±0,56	0,013±0,006
		6,25	-	4	1	3	2	-	1	2,75±0,82	0,028±0,008
Kromozomal Anormallik Yüzdesi			21,8	11,5	26,9	7,69	10,3	5,13	16,7		

ktk: kromatid kırığı, kzk: kromozom kırığı, kkb: kardeş kromatidlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, ktd: kromatit değişimi, f: fragment, p: poliploidi



Şekil 4.1. Amlodipine uygulamasının insan periferel lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi



Şekil 4.2. Amlodipine uygulamasının insan periferel kan lenfositlerindeki hücre başına düşen anormallik frekansı üzerinde etkisi

Sitotoksik aktiviteyi belirlemek amacıyla yapılan mitotik indeks değerlendirmesinde ise Amlodipine'nin her iki muamele süresinde kontrole göre en yüksek iki konsantrasyonda, çözücü kontrole göre ise sadece en yüksek konsantrasyonda önemli düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir (Çizelge 4.2.). Bu düşüş 24 saatlik uygulamada konsantrasyona bağlı değilken ($r=-0,38$) 48 saatlik uygulamada ise konsantrasyonla ilişkisi zayıftır ($r=-0,43$).

Tüm KA ve Mİ sonuçları sırasıyla Çizelge 4.1. ve 4.2.'de verilmiş olup, elde edilen veriler Amlodipine'nin insan periferel lenfositlerinde önemli bir genotoksik etki sergilemediğini,

ancak 24 ve 48 saatlik uygulamada en yüksek iki konsantrasyonda (3,13 ve 6,25 µg/mL) sitotoksik olarak anlamlı olduğu görülmüştür (Çizelge 4.2, Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. Amlodipine uygulamasının insan periferal insan kan lenfositlerinde mitotik indeks frekansı üzerinde etkisi

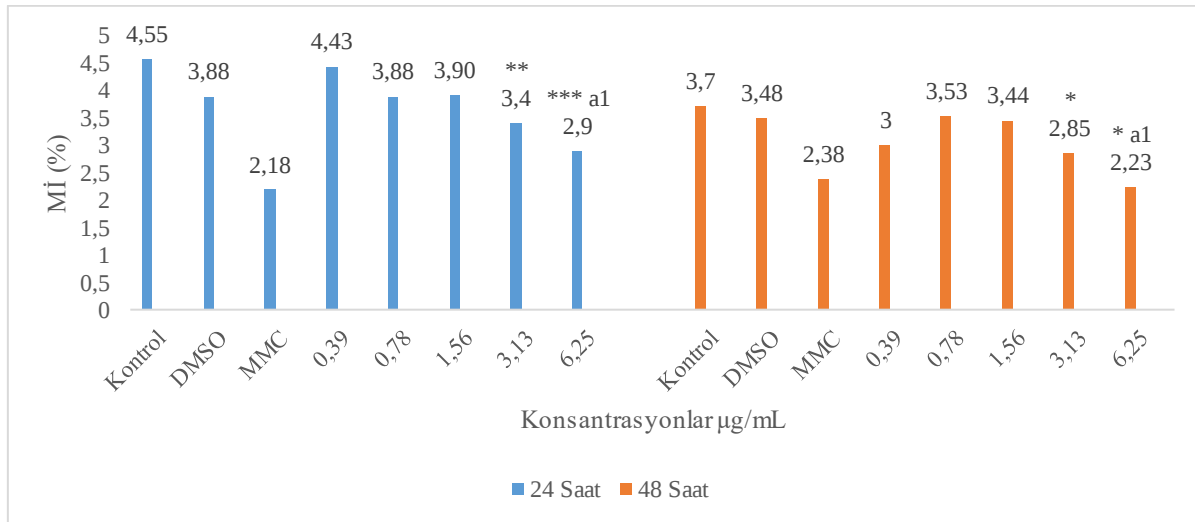
Test maddesi	Uygulama		MİTOTİK İNDEKS± SH (%)
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	
Kontrol	24	0	4,55±0,33
Çözücü kontrol (DMSO)	24	4,81(µl/ml)	3,88±0,31
MMC	24	0,2	2,18±0,23
Amlodipine	24	0,39	4,43±0,33
		0,78	3,88±0,31
		1,56	3,90±0,31
		3,13	3,40±0,29**
		6,25	2,90±0,27***a1
Kontrol	48	0	3,70±0,30
Çözücü kontrol (DMSO)	48	4,81(µl/ml)	3,48±0,29
MMC	48	0,2	2,38±0,24
Amlodipine	48	0,39	3,00±0,27
		0,78	3,53±0,29
		1,56	3,44±0,29
		3,13	2,85±0,26*
		6,25	2,23±0,23*a1

* Kontrole göre P<0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)

** Kontrole göre P<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)

*** Kontrole göre P<0,001 düzeyinde anlamlı (z testi)

a1 Çözücü kontrole göre P<0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)



Şekil 4.3. Amlodipine uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mitotik indeks bulguları

* Kontrolle göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

** Kontrolle göre $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)

*** Kontrolle göre $P < 0,001$ düzeyinde anlamlı (z testi)

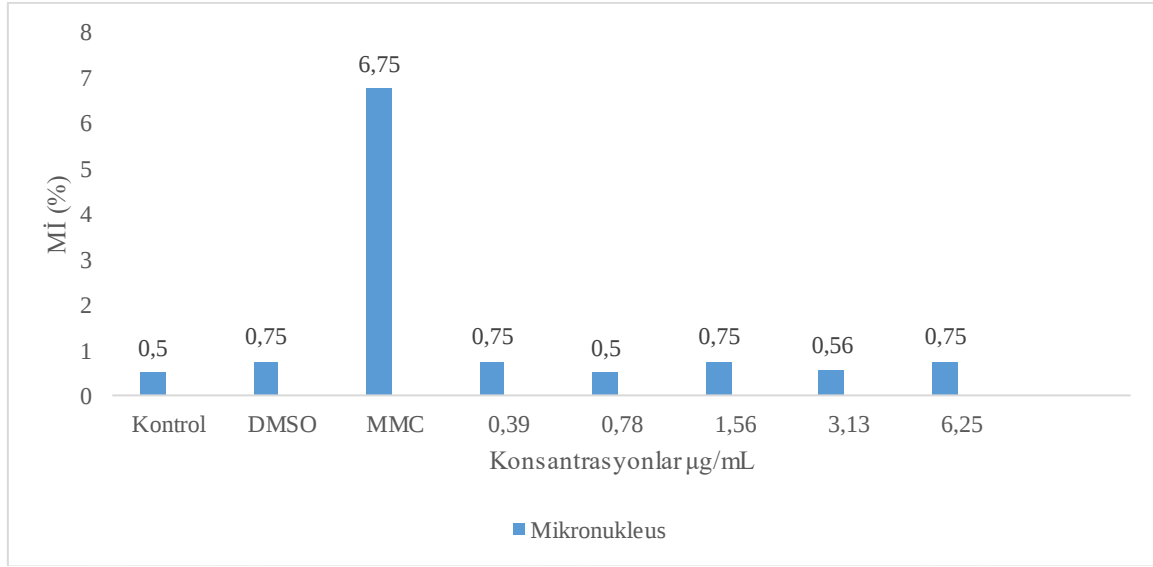
a1 Çözücü kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

4.1.2. Mikronukleus (MN) testi bulguları

Amlodipine uygulanan lenfositlerde mikronukleus taşıyan binükleat hücrelerin frekansında ve NBI'de kontrol ve çözücü kontrole göre anlamlı bir artış meydana gelmemiştir (çizelge 4.3, şekil 4.4).

Çizelge 4.3. Amlodipine uygulamasının insan periferel insan kan lenfositlerinde mikronukleus ve nükleer bölünme indeks frekansı üzerinde etkisi

Test maddesi	Uygulama		Sayılan binükleat hücre sayısı	BN hücreler içinde mikronukleus frekansları			MN $\pm$ SH (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ SH (NBI)
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)		(1)	(2)	(3)		
Kontrol	48	0	4000	2			$0,50 \pm 0,112$	$1,312 \pm 0,254$
Çözücü kontrol	48	4,81	4000	3			$0,75 \pm 0,136$	$1,021 \pm 0,225$
MMC	48	0,2	4000	27			$6,75 \pm 0,396$	$1,283 \pm 0,251$
Amlodipine	48	0,39	4000	3			$0,75 \pm 0,136$	$1,278 \pm 0,251$
	48	0,78	4000	2			$0,50 \pm 0,112$	$1,293 \pm 0,252$
		1,56	4000	3			$0,75 \pm 0,136$	$1,360 \pm 0,259$
		3,13	4000	2			$0,56 \pm 0,112$	$1,260 \pm 0,249$
		6,25	4000	3			$0,75 \pm 0,014$	$1,104 \pm 0,234$



Şekil 4.4.Amplodipin uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mikronukleus bulguları

4.2. Ramipril Uygulaması

4.2.1. Kromozom anormallik (KA) testi bulguları

Ramipril uygulaması ile kültüre edilmiş insan lenfositlerinde altı tip yapısal anormallik gözlemlenmiştir. Bunlar, görülme sıklığına göre sırasıyla kardeş kromatidlerde birleşme (%43,43), kromatid kırığı (%23,23), disentrik kromozomlar (%17,18), fragment (%8,08), kromozom kırığı (5,05) ve kromatit değişimi (%1,01) dir. Sayısal anormalliklerden ise poliploidi (%2,02) gözlenmiştir (Çizelge 4.4).

Kromozomal anormallik testi sonucuna göre Ramipril'in 24 saatlik uygulamasında anormal hücre oranı kontrol ve çözücü kontrole göre anlamlı bir değişiklik göstermemiştir. Ancak 48 saatlik uygulamada ise anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik sayısında, kontrole göre en yüksek üç konsantrasyonda (78,13; 156,25 ve 312,5 $\mu\text{g/mL}$), çözücü kontrole göre ise sadece en yüksek konsantrasyonda (312,5 $\mu\text{g/mL}$) artış gözlemlenmiştir (çizelge 4.4, şekil 4.5). 48 saatlik uygulamada gözlenen bu artışlar konsantrasyona bağlıdır (48 saatlik uygulamada hücre başına düşen anormallik sayısı ve anormal hücre yüzdesi için $r=0,91$).

Çizelge 4.4. Ramipril uygulamasının insan kan lenfositlerinde meydana gelen kromozom anormallikleri ve frekans değerleri

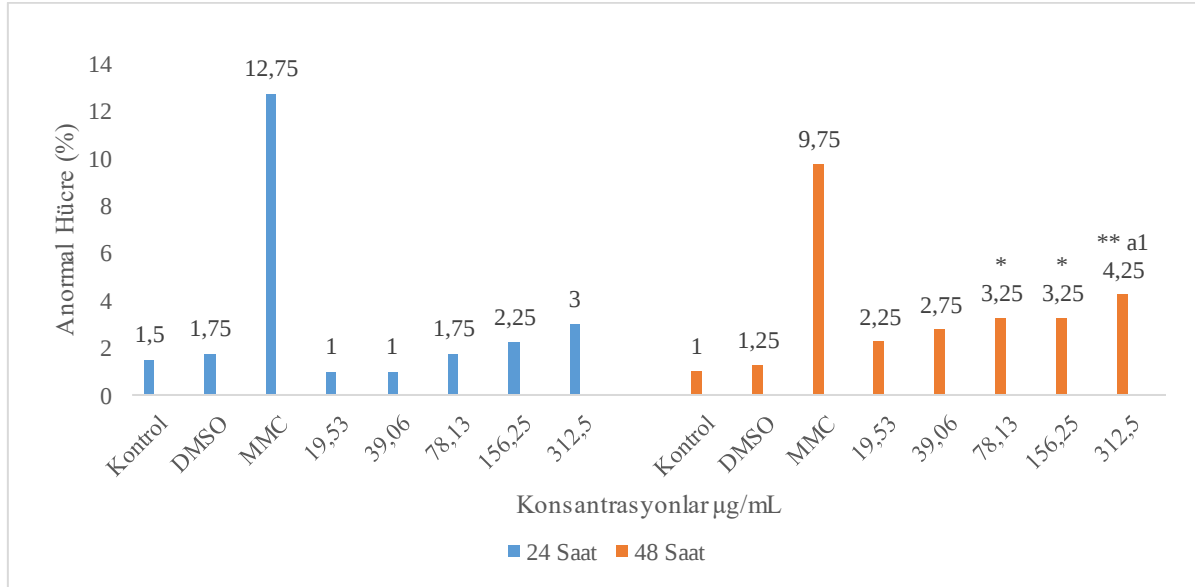
Test maddesi	Uygulama		Anormallikler							KA	
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	Yapısal				Yapısal			Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH
			ktk	Kzk	kbb	ktk	ds	p	f		
Kontrol	24	0	3		1				2	1,50±0,61	0,015±0,006
Çözücü kontrol	24	4,81(µl\ml)	2		3		1		1	1,75±0,66	0,018±0,007
MMC	24	0,2	23	7	10		8	1	2	12,75±1,67	0,127±0,017
Ramipril	24	19,53			2		2			1,00±0,50	0,010±0,005
		39,06	3	1						1,00±0,50	0,010±0,005
		78,13			4		2		1	1,75±0,66	0,018±0,007
		156,25	5		2		1		1	2,25±0,74	0,023±0,007
		312,5	3		5		4			3,00±0,86	0,030±0,009
Kontrol	48	0			2		2			1,00±0,50	0,010±0,005
Çözücü kontrol	48	4,81(µl\ml)			2		1	1	1	1,25±0,56	0,013±0,006
MMC	48	0,2	9	3	9	7	7		4	9,75±1,48	0,098±0,015
Ramipril	48	19,53	3	1	3			1	1	2,25±0,74	0,023±0,008
		39,06	1		5		5			2,75±0,82	0,028±0,008
		78,13	1	2	7				3	3,25±0,89 *	0,033±0,009 *
		156,25	4		8		1			3,25±0,89 *	0,033±0,009 *
		312,5	3	1	7	1	2	1	2	4,25±1,01 ** a1	0,043±0,010 ** a1
Kromozom Anormallik Yüzdesi			23,23	5,05	43,43	1,01	17,18	2,02	8,08		

ktk: kromatid kırığı, kzk: kromozom kırığı, kkb: kardeş kromatidlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, ktd: kromatit değişimi, f: fragment, p: poliploidi

* Kontrole göre P<0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)

** Kontrole göre P<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)

a1 Çözücü kontrole göre P<0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)

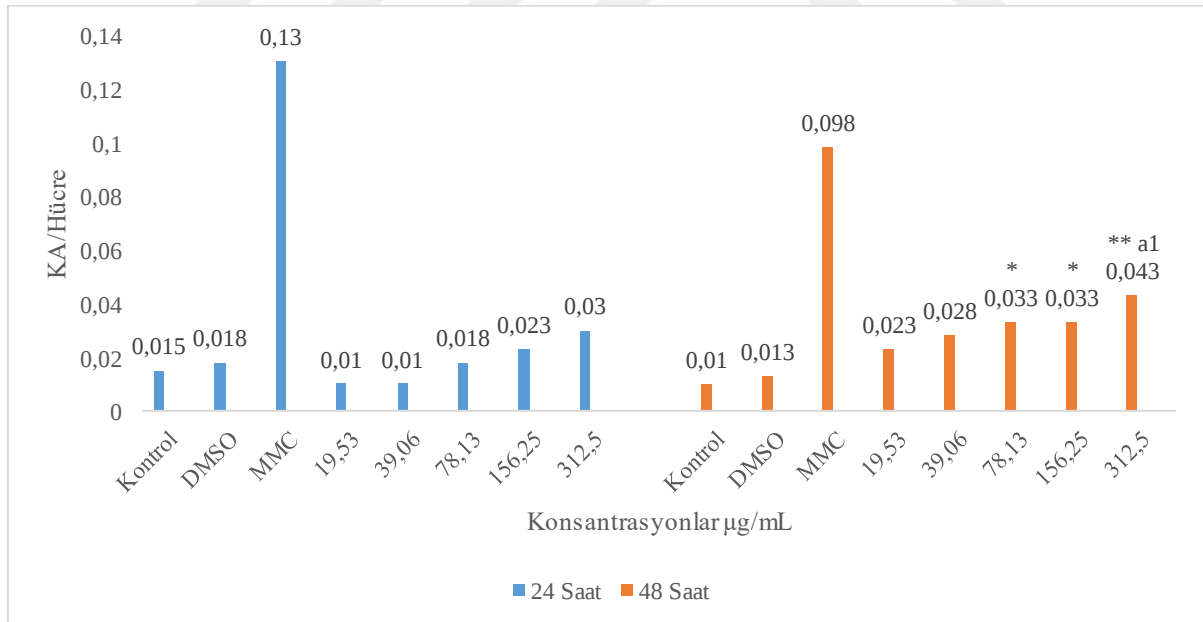


Şekil 4.5. Ramipril uygulamasının periferel insan kan lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi

* Kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

** Kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)

a1 Çözücü kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)



Şekil 4.6. Ramipril uygulamasının periferel insan kan lenfositlerindeki hücre başına düşen anormallik frekansı üzerinde etkisi

* Kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

** Kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)

a1 Çözücü kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

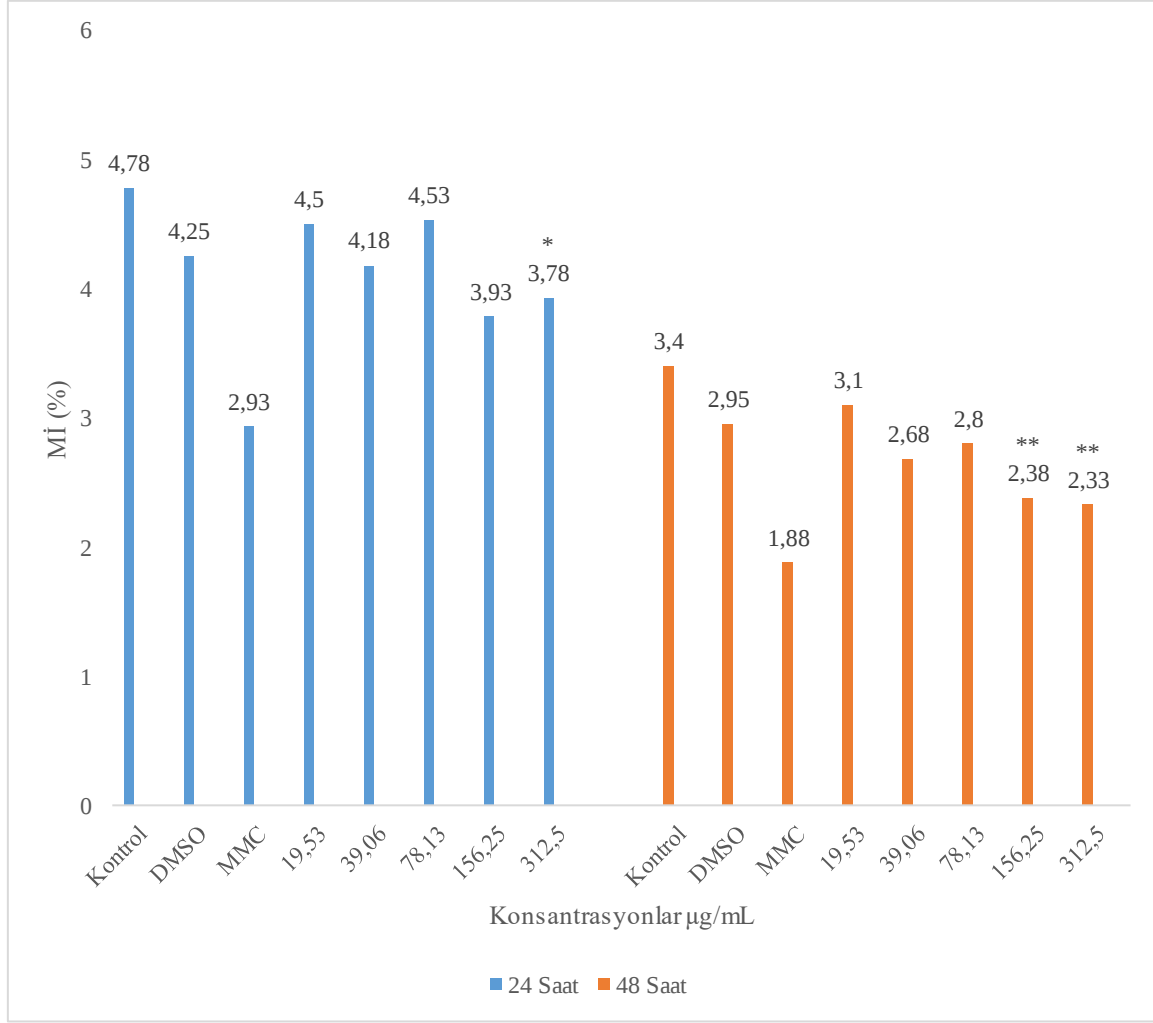
Sitotoksik aktiviteyi belirlemek amacıyla yapılan mitotik indeks değerlendirmesinde ise 24 saatlik muamelede mitotik indeksin kontrole göre 156,25 µg/mL'lik konsantrasyonda 48 saatlik muamelede ise en yüksek iki konsantrasyonda (156,25 ve 312,5 µg/mL) anlamlı düşüşe neden olduğu tespit edilmiş iken çözücü kontrole bakıldığında anlamlı bir değişim gözlemlenmemiştir (çizelge 4.5, şekil 4.7). Mitotik indekste tespit edilen düşüşlerin konsantrasyonla ilişkisi ise oldukça zayıftır (24 saat için $r = -0,54$, 48 saat için $r = -0,46$).

Çizelge 4.5. Ramipril uygulamasının insan periferal insan kan lenfositlerinde mitotik indeks frekansı üzerinde etkisi

Test maddesi	Uygulama		MITOTİK İNDEKS±SH (%)
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	
Kontrol	24	0	4,78±0,34
Çözücü kontrol (DMSO)	24	4,81 (µl/ml)	4,25±0,32
MMC	24	0,2	2,93±0,27
Ramipril	24	19,53	4,50±0,33
		39,06	4,18±0,32
		78,13	4,53±0,33
		156,25	3,93±0,31
		312,5	3,78±0,30 *
Kontrol	48	0	3,40±0,30
Çözücü kontrol (DMSO)	48	4,81 (µl/ml)	2,95±0,27
MMC	48	0,2	1,88±0,21
Ramipril	48	19,53	3,10±0,27
		39,06	2,68±0,26
		78,13	2,80±0,26
		156,25	2,38±0,24 **
		312,5	2,33±0,24 **

* Kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

** Kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)



Şekil 4.7. Ramipril uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mitotik indeks bulguları

* Kontrole göre $P < 0,05$ düzeyinde anlamlı (z testi)

** Kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)

4.2.2. Mikronukleus (MN) testi bulguları

Ramiprilin mikronukleus testi uygulanması sonucu, kontrol ve çözücü kontrole göre mikronukleus frekansında konsantrasyona bağlı olarak ($r = 0,97$) artış gözlenmiştir. Bu artış kontrole göre 39,06; 78,53; 156,25 ve 312,5 µg/ml'lik konsantrasyonlarda istatistiksel olarak anlamlı iken çözücü kontrole göre ise en yüksek üç konsantrasyonda (78,53; 156,25 ve 312,5 µg/ml) anlamlıdır (çizelge 4.6, şekil 4.8). Yapılan çalışma sonucunda Ramipril'in NBI (nükleer bölünme indeksi) üzerine herhangi bir etkisinin olmadığı tespit edilmiştir (çizelge 4.6).

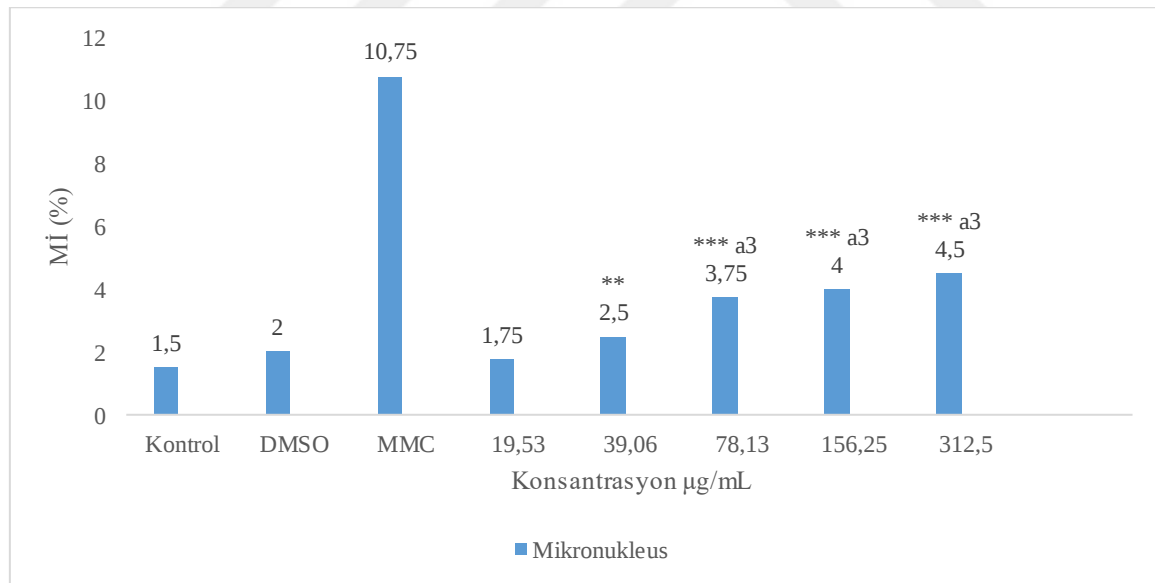
Çizelge 4.6. Ramiprin uygulamasının insan periferel insan kan lenfositlerinde mikronukleus ve nükleer bölünme indeks frekansı üzerinde etkisi.

Test maddesi	Uygulama		Sayılan binükleat hücre sayısı	BN hücreler içinde mikronükleus frekansları			MN $\pm$ SH (%)	Nükleer Bölünme İndeksi $\pm$ SH (NBI)
	Süre (saat)	Konsantrasyon (μ g/ml)		(1)	(2)	(3)		
Kontrol	48	0	4000	6			1,50 $\pm$ 0,192	1,295 $\pm$ 0,253
Çözücü Kontrol	48	4,81	4000	8			2,00 $\pm$ 0,221	1,307 $\pm$ 0,253
MMC	48	0,2	4000	43			10,75 $\pm$ 0,489	1,180 $\pm$ 0,242
Ramipril	48	19,53	4000	7			1,75 $\pm$ 0,207	1,295 $\pm$ 0,252
	48	39,06	4000	10			2,50 $\pm$ 0,246 **	1,248 $\pm$ 0,248
		78,13	4000	15			3,75 $\pm$ 0,3 *** a3	1,245 $\pm$ 0,247
		156,25	4000	16			4,00 $\pm$ 0,31 *** a3	1,338 $\pm$ 0,256
		312,5	4000	18			4,50 $\pm$ 0,327 *** a3	1,251 $\pm$ 0,248

** Kontrole göre P<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)

*** Kontrole göre P<0,001 düzeyinde anlamlı (z testi)

a3 Çözücü kontrole göre P<0,001 düzeyinde anlamlı (z testi)

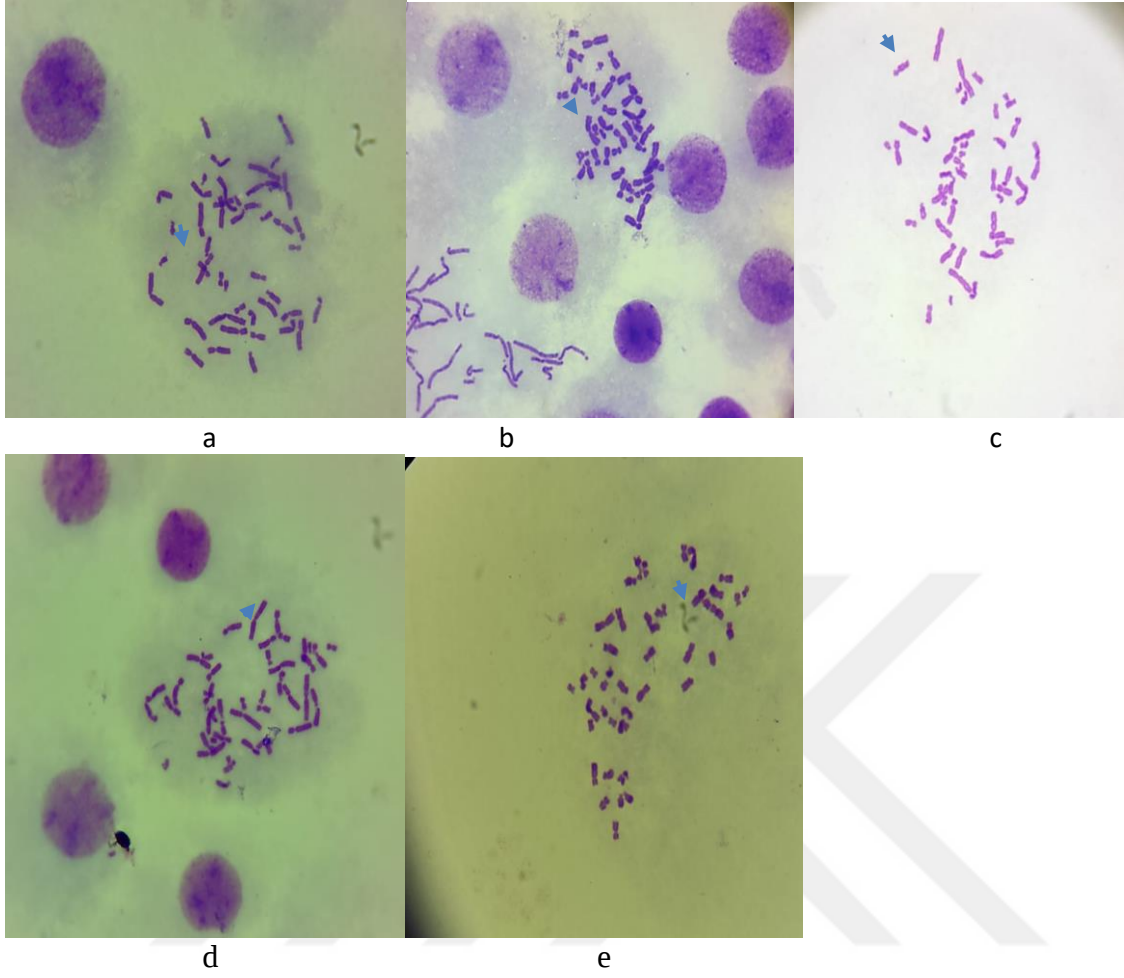


Şekil 4.8. Amplodipin uygulamasıyla periferel insan kan lenfositlerindeki mikronukleus ve nükleer indeks bulguları

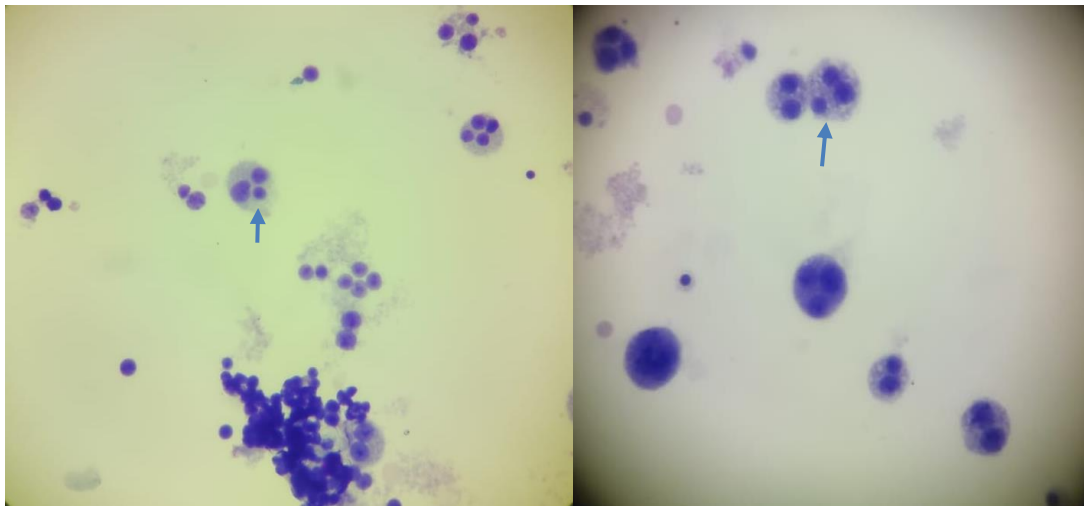
** Kontrole göre P<0,01 düzeyinde anlamlı (z testi)

*** Kontrole göre P<0,001 düzeyinde anlamlı (z testi)

a3 Çözücü kontrole göre P<0,001 düzeyinde anlamlı (z testi)



Resim 4.1. Yapılan çalışmada görüntülenen bazı kromozom anormallikleri. a:Kardeş kromatit birleşmesi, b: Kromatit değişimi, c: Kromatit kırığı, d: Kromozom kırığı, e: Disentrik kromozom.



Resim 4.2. Yapılan çalışmada görüntülenen bazı mikronukleuslu hücreler.

5. TARTIŞMA

Hipertansiyon, dünya genelinde bir milyardan fazla kişiyi etkileyen, bulaşıcı olmayan en önemli sağlık sorunlarından birisidir (Albayrak ve Şengezer, 2022; Uysal ve diğerleri, 2016; Tekin, 2016). 2019 yılında Risk Faktörleri Yüğü Çalışması (GBD)’te tarafından yapılan bir çalışmaya göre hipertansiyon kadınların ölüm nedenleri arasında birinci sırada, erkeklerde ise sigaradan sonra ikinci sırada yer almaktadır (GBD 2019 Risk Factors Collaborators, 2020). Yüksek kan basıncı kontrol altına alınmadığı durumlarda, koroner kalp hastalıkları, böbrek yetmezliği, beyin kanaması gibi birçok hastalığa sebep olmakta ve hatta ölümlere bile neden olabilmektedir. Bu nedenle, kan basıncı kontrolü hem mortalite hem de morbiditenin önlenmesi adına oldukça önem arz etmektedir (Albayrak ve Şengezer, 2022; Kılıçkap ve diğerleri, 2018).

Hipertansiyonun önlenmesi, kontrol altına alınması ve tedavi edilebilmesi için yaşam tarzı değişiklikleri önerilmektedir. Sağlıklı beslenme, düzenli yapılan egzersizleri içeren yaşam biçimine rağmen yaşanan ve kontrol edilemeyen hipertansiyon problemleri için sağlık kuruluşlarından yardım alınmalı ve doktor tarafından ilaç tedavisine başlanmalıdır. Antihipertansif ilaçlar tek başına kullanılabildiği gibi klinik tabloya göre iki veya daha fazla antihipertansif bir arada kullanılabilmektedir (An ve diğerleri, 2021; Biçer ve diğerleri, 2021; Hacıhasanoğlu, 2009; Zhao ve diğerleri, 2012). Yapılan çalışmalar bazı antihipertansif ilaçların genotoksik etkili olduğunu göstermektedir (Brambilla ve Martelli, 2006).

Yeni geliştirilen bütün ilaçlar kullanıma sunulmadan önce klinik testlerden geçirilerek toksisitesi belirlenmektedir. Yapılan test çalışmalarının sonucuna göre toksisitesi belirlenenen ilaçların, genotoksik ve kanser yapma potansiyeli belirlenerek piyasaya sürülmesi için karar verilebilmektedir. Genotoksitesi yüksek olduğu tesbit edilen ilaçların geliştirilme çalışmaları durdurulmaktadır (Benigni, Bassan ve Pavan, 2020; Dorn ve diğerleri, 2007). Literatürde, birçok ilaç etken maddesinin genotoksik olup olmadığına dair bilgi bulunmamaktadır. Bu sebeple, bilim insanları birçok ilaç ve ilaç etken maddelerinin olası genotoksik, klastojenik ve mutajenik etkilerini *in vitro* ve *in vivo* genotoksosite test yöntemleriyle tespit etmeye çalışmaktadırlar (El-Alfy ve diğerleri, 2021; Gajski, Ladeira, Geric, Garaj-Vrhovac ve Viegas, 2018; Novak, Zegura, Modic, Heath ve Filipic, 2017; Sosedova, Vokina, Kapustina ve Bogomolova, 2020).

Çeşitli kimyasalların mutajenik özelliklerinin belirlenmesinde en çok tercih edilen yöntemlerin başında genotoksisite testleri gelmektedir. DNA'nın moleküler yapısında oluşan hasarların kanser oluşumunu indüklediği kabul edilmekte, bu nedenle geliştirilen çeşitli yöntemlerle DNA hasarının saptanmasına ve kanser riskinin önceden belirlenmesine çalışılmaktadır (Doak ve diğerleri, 2012; Evazalipour ve diğerleri, 2021; Sicicska ve diğerleri, 2021).

Kimyasal ve/veya fiziksel mutajenlere maruz kalınması sonucu oluşan genetik hasarlar, *in vivo* ve *in vitro* ortamlarda bakteri, bitki ve memeli hücreleri kullanılarak yapılan çeşitli test sistemleriyle belirlenebilmektedir. Bunlardan en yaygın olarak kullanılanı ise insan lenfosit kültürleridir. İnsan lenfositlerinin kullanılması diğer yöntemlere göre çok büyük avantajlar sağlamaktadır. Diğer yöntemlere göre faydalı olmaları; kolay ve tekrarlanabilir şekilde elde edilebilmeleri, çok az preferal kanda çok fazla lenfosit hücresi bulunması ve en önemlisi kan hücreleri potansiyel olarak kimyasal ajanların etkilerine diğer dokulardan daha duyarlı olmasıdır. Bu nedenle kimyasalların mutajenik potansiyellerinin belirlenmesinde periferik lenfosit hücreleri çok fazla kullanılmaktadır (Lerda ve diğerleri, 2005; Unal ve diğerleri, 2021). Genotoksisite belirlenmesinde insan lenfositlerinin kullanıldığı testlerin başında mikronukleus, kardeş kromatid değişimi, kromozom anormalliği ve comet testleri gelmektedir (Doak ve diğerleri, 2012; Çayır, Çobanoğlu ve Coşkun, 2020; Rezende, Velozo-Sá, Vilanova-Costa ve Silveira-Lacerda, 2020; Unal ve diğerleri, 2021; Zoric, Kopjar, Rodriguez, Tomic ve Kosalec, 2021).

Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen sonuçların bir kısmının çelişiyor olması antihipertansif tedavinin artmış genotoksik potansiyel ile ilişkisini belirlemeyi zorlaştırmaktadır. Bazı araştırmalar böyle bir ilişkinin varlığını savunurken, bazı araştırmalar böyle bir ilişkiyi reddetmektedir. Hipertansiyon hastalığının kendisi ve artan kanseri insidansı (özellikle böbrek kanseri) arasındaki ilişki kabul edilmiştir (Brambilla ve Martelli, 2006; Hidayat, Du, Zou ve Shi, 2017; Kim ve diğerleri, 2020; Kocher, Rjepaj, Robyak, Lehman ve Raman, 2017).

Bu çalışmada, hipertansiyon tedavisinde yoğun olarak kullanılan etken maddeler olan, Amlodipine ve Ramipril'in genotoksik hasar oluşturup oluşturmadığı *in vitro* ortamda kromozom anormallikler (KA) ve mikronukleus (MN) testleri kullanılarak araştırılmıştır.

Yapılan analiz sonuçlarına göre, kullanılan antihipertansif ilaç etken maddelerinden Amlodipine'nin insan periferik lenfositlerinde kromozomal anormallik frekansında önemli bir artışına neden olmadığı tespit edilmiştir. Diğer etken madde olan Ramipril ise kromozomal anormallik insidansında 24 saatte anormal hücre yüzdesini kontrol ve çözücü kontrole göre değiştirmezken, 48 saatlik uygulama süresinde kontrole göre en yüksek üç konsantrasyonda hem hücre başına düşen anormallik hem de anormal hücre yüzdesi frekansında anlamlı artışa neden olmuştur. Söz konusu bu artış çözücü kontrole göre ise sadece en yüksek konsantrasyon olan 312,5 µg/mL'lik konsantrasyonda anlamlıdır. Her iki madde de özellikle kromatit kırığı ve kardeş kromatit birleşmesi en sık rastlanılan yapısal kromozom anormalliği olmuşken, ayrıca kromozom kırığı, disentrik kromozom, kromatit birleşmesi, fragment ve polipolidi oluşumuna da rastlanmıştır.

Kromozomal aberasyon testi kromozomlarda oluşan yapısal ve sayısal anormallikleri saptamaya yarayan, aynı zaman da test edilen maddelerin klastojenik ve anojenik etkilerinin değerlendirilmesini hedefleyen bir yöntemdir. Yapısal anormallikler, DNA kırılmaları, DNA sentezinin inhibisyonu, hasarlı DNA kalıbından replikasyon ve başka mekanizmalardan (reaktif oksijen türleri, spontan çift zincir kırıkları v.b.) kaynaklanabilmektedir (Avuloğlu-Yılmaz, 2018; Mişik ve diğerleri, 2022; Jain, Singh, Dubey, Maurya ve Pandey, 2018b).

Kromozomda meydana gelen yapısal ve sayısal değişiklikleri tespit etmek için kullanılan kromozom anormalliği testinde, tespit edilebilen aberasyonlar mutajen ajanlar nedeniyle olabildiği gibi kendiliğinden de olabilmektedir. Kromozomal anormallik anöjen uygulamanın bir sonucu olarak, kromozomların normal bir şekilde ayrılmaması nedeni ile kromozom sayısındaki değişiklikler (poliploidi ve anöploidi) şeklinde olabilir. Sayısal kromozom anormalliklerini indükleyen ajanların hücre döngüsünde DNA içeren yapıları, iğ aparatını ve hücre döngüsü kontrol moleküllerini hedef aldığı bilinmektedir. Yapısal anormallikler ise kromozomlardan parça kopması ve/veya kopan parçaların anormal şekilde kromozomda başka bir yerle birleşmesiyle oluşmaktadır. En sık görülen kromozomal yapısal anormallikler kromatit ve kromozom kırığı, kromatit değişimi, kardeş kromatitlerde birleşme, fragment ve kromatit değişimi gibi anomaliliklerdir. Hücre döngüsünün G2 fazı, kromozom anormalliklerin oluşumunda diğer fazlara göre daha önemli olarak kabul edilmektedir. Bunun nedeni hücresel döngüde meydana gelen hasarın çoğunlukla bu evrede onarılmasıdır. Kromatit ve kromozom kırıklarının hangi evrede oluştuğunu anlamak için

hücre döngüsünün G1, S ve G2 evrelerine bakmak gerekmektedir. Genotoksitesini belirlemek istenen madde, eğer kromozom kırığına neden olmuşsa, bu durumun mitoz bölünmenin G0 veya G1 evresinde meydana geldiği düşünülmelidir. Eğer kromatit tipi kırıklar oluşmuşsa yine mitoz bölünmenin S veya G2 evrelerinde olduğu düşünülmektedir. Hücre siklusunun G1 evresinde sadece bir kromatitte bir kırık oluşurken, eğer mutajenik maddenin etkisi devam ediyorsa mitozun S evresinin metafaz aşamasından sonra kromozomun her iki kromatitinde de kırık meydana gelmektedir. Böylelikle kromozom kırığı oluşmaktadır. Kopan bu kromatit parçaları tekrar birleşme yapmazsa, asenterik fragment oluşturabileceği gibi delesyonlu kromozomda oluşturabilmektedir. Oluşan bu kromatit parçaları eğer metafaz aşamasında kaybolmazsa, anafaz aşamasında mikronukleus olarak karşımıza çıkabilmektedir. (Savage, 1993; Satoh, Hatanaka, Yamamoto, Kuro-O ve Sofuni, 2002; Nussbaum, McInnes ve Willard, 2005:17-32; Yirmibeş, 2007; Suspiro ve Prista, 2011; El-Zein, Vral ve Etzel, 2011; Itoh, Hattori, Nagata ve Sanbuissho, 2012; Fazenderio, 2013; Alqallaf, Alkoot ve Aldobbous, 2013; Tobias, Connor ve Ferguson-Smith, 2014; Avuloğlu-Yılmaz, 2018).

Genotoksik maddeye maruz kalan canlı hücrelerde hücre döngüsünün G0 / G1 evresinde kromozom kırılmaları ve fragmentlerin düzenlenmesi yapılırken oluşan problemler nedeniyle homolog olmayan uç birleşmeleri görülebilmektedir (Cajiao, Carante, Rodriguez ve Ballarini, 2017) DNA hasarının tamir edilememesi sonucu oluşan bir hata gelişim anomalilerine neden olabileceği gibi karsinogenezi dahi başlatabilmektedir (Moynahan ve Jasin, 2010; Rodríguez-Mercado, MosquedaTapia ve Altamirano-Lozano, 2017). Kromozomal fragmentlerin artması sonucu oluşan kromozomal kararsızlıklar yaşlanmanın en büyük etkeni olduğu gibi, kanser ve Alzheimer gibi yaşlılıkla artış gösteren hastalıklarla bağlantılı olduğu düşünülmektedir (Guo ve diğerleri, 2018). Mutajenik etki genetik materyalde mutasyonlara neden olduğu için, gen mutasyonu ile ilgili yapılan çalışmalarda kromozom kırığı önemli bir yere sahiptir (Widel ve diğerleri, 2001; Hagmar ve diğerleri, 2004; Norppa, Bonassi, Hansteen, Hagmar ve Strömberg, 2006; Gardner, Sutherland ve Shaffer, 2004;125; Bonassi, El-Zein, Bolognesi ve Fenech, 2011). Özellikle kanser riskinin belirlenmesinde, kromozom kırıkları kromatit kırıklarına göre daha iyi sonuçlar vermektedir (Yılmaz, Ünal, Aksoy, Yüzbaşıoğlu ve Çelik, 2008; Ginzkey ve diğerleri, 2014).

Bu tez çalışmasında antihipertansif ilaç etken maddeleri olan Amlodipine ve Ramipril uygulaması ile görülen diğer yapısal anormallikler kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik

kromozom ve fragmentlerdir. Kromatit değişimi yapılan çalışmada en az rastlanan anormalliklerdendir. Kromatid değişimi, homolog olmayan kromozomlar arasında meydana gelen tipik triradyal veya quadriradyal değişimlerdir (Hagmar ve diğerleri, 2004; Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010). Diğer yandan çalışmamızda en fazla gözlemlenen diğer bir anormallik kardeş kromatit birleşmesidir. Kardeş kromatitlerde birleşme kromozomun iki ucunda meydana gelen kromatit kırığının birleşerek sentrik halka şeklini almasıdır. Disentrik kromozom ise iki ayrı kromozomun kromatit uçlarında meydana gelen kırıklardan birleşmesi ile oluşmaktadır (Summer, 1998; Kuru ve Ergene, 2011:246). Az miktarda görülen poliploidi ise sayısal bir anormallik olup, genetik materyal de normalde bulunan kromozom sayısının iki katına çıkmasıdır (Cummings ve diğerleri, 1995; Kuru ve Ergene, 2011: 266; Doğan ve diğerleri, 2013; Özkara, Akyl, Eren ve Erdoğan, 2015).

Sağlıklı insanların kromozomal anormallik frekansında artış genotoksik maddeye maruz kaldığını ve genetik hasarın oluştuğunun biyogöstergesidir. Bununla birlikte kanser riski, gelişimsel bozukluklar ve mortaliteyi öngörebilmeyi sağlamak açısından da önem taşımaktadır.

Genotoksik maddelere maruziyeti değerlendirmek amacı ile kullanılan kromozomal anormallik frekansı ile kanser riski arasındaki ilişki, yirmi beş yıl boyunca takip edilen prospektif çalışma ile de gösterilmiştir (Albayrak ve Şengezer, 2022; Bonassi, Znaor, Norppa ve Hagmar, 2004; El-Ebiary, Abuefadel ve Sarhan, 2013; Villarini ve diğerleri, 2016).

Mitotik indeks (MI), kimyasal, fiziksel ve biyolojik maddelerin sitotoksik etkilerini ve bu maddelerin hücre bölünmesini nasıl etkilediğini belirlemek için kullanılan parametrelerdir. Sitotoksikiteye neden olan maddeler, mitotik indeks değerlerinde düşmelere neden olmaktadır (Ulus, ve Darıcı, 2023). Mitotik indeks frekansının düşmesine, hücrenin bölünme sırasında G2 safhasının engellenmesi veya iğ ipliklerinin oluşmasını sağlayan enzimlerin inhibe olmasının neden olduğu düşünülmektedir (Ataseven ve diğerleri, 2016; Rodríguez-Mercado ve diğerleri, 2017).

Çeşitli genotoksik kimyasallara maruz kalınması sonucu oluşan kromozomal ve nükleer anormallikler genotoksik etkiyi gösterirken, mitotik indeksin azalması ise sitotoksik etkiyi göstermektedir (Hemachandra ve Pathiratne 2016). Hücrede meydana gelen yapısal ve fonksiyonel hasarların oluşturduğu mitotik bozulmaları saptamak için de mitotik indeks bir

belirteç olarak kullanılabilir. Mitotik indeksin azalması, hücrenin interfaz aşamasının herhangi bir döneminde büyümesini durdurduğu, hücrenin çoğalma kapasitesini yitirdiği veya hücrenin ölümüne neden olacak bir takım mekanizmaların devreye girdiği şeklinde yorumlanabilmektedir (Rodríguez-Mercado ve diğerleri, 2017).

Sitotoksik aktiviteyi belirlemek amacıyla yapılan mitotik indeks değerlendirmesinde Amlodipine, her iki muamele süresinde mitotik indeksin kontrole göre en yüksek iki konsantrasyonda anlamlı düşüşe neden olduğu tespit edilmiştir. Söz konusu düşüş çözücü kontrole kıyasla ise yine her iki uygulama süresinde sadece en yüksek konsantrasyonda önemlidir. Ramipril'in ise mitotik indeks frekansı kontrole kıyasla tüm uygulama sürelerinde azaltmıştır ancak bu azalış 24 saatlik uygulamada sadece en yüksek konsantrasyonda, 48 saatlik muamelede ise en yüksek iki konsantrasyonda anlamlıdır

Çeşitli kimyasalların kromozom üzerinde hasara neden olup olmadığı mikronukleus testi ile de tespit edilebilmektedir. Mikronukleus testi günümüzde insan periferik lenfositlerinde mikronukleus frekansını belirlemek için sık kullanılan bir metottur (Avuloğlu-Yılmaz, 2018; Wei, Tao, ve Chen, 2022). Bu çalışmada kullanılan ilaç etken maddelerinden Amlodipine'in mikronukleusu tetiklemediği tespit edilmiştir. Ramipril'in en düşük konsantrasyon hariç dört konsantrasyonda (39,6; 78,3; 156,2; 312,5 µg/mL) kontrole göre MN frekansını istatistiksel olarak anlamlı oranda artırmıştır. Ayrıca çözücü kontrole göre kıyaslandığında ise en yüksek üç konsantrasyonda (78,3; 156,2; 312,5 µg/mL) anlamlı oranda artışa neden olduğu görülmektedir.

Mikronukleus testi (MN), canlıların temas halinde olduğu maddelerin genotoksik veya mutajenik olup olmadığını belirlemede en yaygın kullanılan uygulamalardan biridir. En büyük avantajı ise insan lenfositleri, kemik iliği ve yanak mukozası gibi birçok materyalde uygulama kolaylığıdır. Ayrıca mikroskopik inceleme diğer testlere kolay yapılmaktadır. Test sonucunda elde edilen veriler kromozom kırıklarını ve hücrede meydana gelen yapısal ve sayısal anormallikleri göstermektedir. Bu test tıbbi ve ilaç sanayisi, gıda sanayisi, (özellikle gıda katkı maddeleri) radyoterapi gibi çok geniş alanda genotoksikite testi olarak kullanılmaktadır (Lonescu ve diğerleri, 2011; Mateuca ve diğerleri, 2006; Yırtıcı, 2007; Wei, Tao, ve Chen, 2022).

Mikronukleus testi ile asıl yapılması amaçlanan, canlılarda karsinojenik, mutajenik, genotoksik ve klastojenik etki yaparak DNA'nın yapısında hasar meydana getiren maddelerin belirlenmesidir. Özellikle klastojenleri ve iğ ipliklerinin yapısını bozan etkenleri tespit etmede kullanılan, kısa sürede sonuç alınan yaygın testtir. Genotoksik maddelerin hücre siklusunun sağlıklı bir şekilde gerçekleşmesi için gerekli olan kinetokor proteinleri, iğ iplikçikleri veya sentromerde harabiyet meydana getirmesi sonucu, DNA'nın mutasyona uğramasına ve kendini onaramamasına veya yanlış onarmasına neden olabilmektedir (Lonescu ve diğerleri, 2011; Chen ve diğerleri, 2021).

Mikronukleuslar kromozomun kırılması ile ya da tüm kromozomun esas çekirdeğe dahil olamamasından kaynaklandığı için, genomda meydana gelen klastojenik ve anöjenik etkileri aynı anda tespit edilmesine olanak sağlamaktadır. Çeşitli hücrelerde oluşan sitotoksikite, hücre çoğalması ve hücre ölümü ile ilgili değerlendirmelere olanak sağladığı gibi ayrıca nekroz, apoptoz ve sitotoksik olaylarla ilgilide çok hassas bilgiler edinmeyi sağlamaktadır (Holland ve diğerleri, 2008; Thomas ve diğerleri, 2009; Fenech ve diğerleri, 2011; Gandhi ve Tung, 2017; Kuo ve diğerleri, 2022).

Mikronukleuslar anöjenik olaylar sonucu tam bir kromozomdan oluşabileceği gibi klastojenik etkiler nedeniyle kromozomun kırılması sonucu oluşan asentrik fragmentlerden oluşabilmektedir. Oluşan bu asentrik fragmentler veya tüm kromozom hücre bölünmesi esnasında ana çekirdeğe katılmazlar. Katılmayan bu küçük kromozom parçaları ana çekirdekten küçük mikronukleus şeklinde ortaya çıkmaktadır. Mikronukleusun görülmesi anafazdan sonra onarılmayan kromozom hasarını da göstermektedir. Bölünmesini tamamlamış hücrelerde kromozom hasarının devamlı görülmesi ise önceki bölünmeler esnasında hasar oluştuğunu göstermektedir. Lenfosit hücrelerinde mikronukleusun sık görülmesi, kanserin, malignite ve/veya yaşla ilgi değişikliklerin ön belirteci olarak değerlendirilebilmektedir (Bonassi ve diğerleri, 2007; Thomas ve diğerleri, 2009; Holland ve Cleveland, 2012; Luzhna Kathiria ve Kovalchuk, 2013; Hayashi ve Karlseder, 2013; Gandhi ve Tung, 2017; Kuo ve diğerleri, 2022).

Başka bir sitotoksikite belirteci olan nükleer bölünme indeksi, antihipertansif ilaç etken maddeleri olan Amlodipine ve Ramipril'de kontrol ve çözücü kontrole göre önemli bir değişikliğe neden olmamıştır. Nükleer bölünme İndeksi (NBI) ile hücrenin mitotik durumu (mononükleat, binükleat, polinükleat gibi) hakkında bilgi elde edilmektedir. Ayrıca hücre

döngüsü kinetiği, hücrenin çoğalması ve hücrede meydana gelen sitotoksiteyi belirlemek için kullanıldığı gibi kültüre edilmiş memeli ve/veya insan hücrelerinin canlılık durumu (apoptoz, nekroz v.b.) hakkında bilgi verebilmektedir. Yine NBI ile *in vitro* ortamda gerçekleştirilen hücre bölünmesinde bazı kimyasalların etkilerine dair değerli bilgiler sağlanabilmektedir (Fenech, 2006; 2007; Gündoğan ve diğerleri, 2018).

Bu çalışmada genotoksik etkileri incelenen ilaç etken maddelerinden biri olan Amlodipine'in gen ve kromozom seviyesinde mutajenite çalışmalarında, ayrıca fare ve ratlarda uzun süreli karsinojenite testlerinde negatif sonuç verdiği bildirilmiştir. Ramipril ise Ames testinde, Çin Hamster Ovaryum hücrelerinde gen mutasyonu testinde, farelerde *in vivo* mikronükleus testinde ve insan hücrelerinde programlanmamış DNA sentezi testinde genotoksiteye neden olmamıştır. Benzer şekilde fare ve ratlarda uzun süreli karsinojenite testlerinde negatif sonuç verdiği tespit edilmiştir (Brambilla ve Martelli, 2006). Ayrıca koroner arter hastalarında DNA hasarı ve kromozomal hasar comet ve mikronükleus testi ile araştırılmıştır. Sonuçta kromozomal ve DNA hasarının bu hastalarda arttığı, bu artışın ise hastaların kullandığı ilaçlarla da ilişkili olabileceği rapor edilmiştir. Söz konusu ilaçlardan biri de Ramiprildir (Bhat, Mahajan, ve Gandhi, 2013; Bhat ve Gandhi, 2017). Benzer şekilde son dönem böbrek hastalığından muzdarip hastalarda yapılan genotoksite araştırmalarında da bu hastaların kullandığı ilaçlarla genetik hasar arasında ilişki gösterilmiş olup yine hastaların kullandığı ilaçlardan birinin Ramipril olduğu belirtilmiştir (Gandhi ve Tung, 2017; Gandhi, Mehta, Contractor ve Tung, 2018).

2021 yılında yapılan bir çalışmada hipertansiyon tedavisinde kullanılan kalsiyum kanal bloker ilaçlarından olan Amlodipine'nin *in vitro* genotoksitesini incelemek amacıyla kromozomal anormallik testi kullanılmıştır. Bu amaçla 20 sağlıklı bireyden alınan insan kan lenfositlerine 0, 5, 10, 15, 25 ve 50 mg/mL'lik konsantrasyonlarda 72 saat ilaç uygulaması yapılmıştır. Sonuç olarak Amlodipine'in en yüksek konsantrasyonda (50 mg/mL), kontrole kıyasla kromozomal anormallikleri arttırdığı, ancak bu artışların istatistiksel olarak anlamlı olmadığı sonucuna ulaşılmıştır (Sayran, Rawaa, Dian ve Asaad, 2021).

2023 yılında Ramiprilin metabolik yıkım ürünü olan diketopiperazin (DKP)'in potansiyel mutajenik, karsinojenik ve genotoksik etkisini tespit etmek amacıyla yapılan çalışmada mikronükleus testi kullanılmıştır. Bunun için DKP'nin 0,22 ve 0,67 mg/ml'lik konsantrasyonları kullanılmıştır. Sonuçta DKP'nin en yüksek konsantrasyonda kontrole

göre MN oluşumunu üç kat artırdığı ve anojenik etki ile genotoksisiteye sebep olduğu gösterilmiştir. Ames testinde *Salmonella thyphimurium* TA98 ve TA100 suşları kullanılmış, sonuçta saf DKP'nin mutajenik olmadığı fakat bunun nitrozo ürününün baz mutasyonlarına neden olduğu tespit edilmiştir. Bu nedenle Ramipril kullanımında doz ayarlamasının önemli olduğu vurgulanmıştır (Regulska, Matera-Witkiewicz, Stanis, 2023).

Tiyazid türevi diüretik olan Bendroflumethiazide'in genotoksik etkisini belirlemek için mikronukleus testi yapılmış ve nükleer bölünme indeksi de değerlendirilmiştir. Bu test için kullanılan Çin Hamster V79 hücrelerine 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} , 10^{-6} ve 10^{-7} M konsantrasyonlarında Bendroflumethiazide uygulanmıştır. Uygulama sonunda Bendroflumethiazide'nin MN ve NBI'ni etkilemediği tespit edilmiştir (Kersten, Kasper, Brendler-Schwaab ve Müller, 2002).

Telez ve arkadaşları 2000 yılında beta blokerlardan olan Atenolol'ün genotoksik etkilerini belirlemek için kardeş kromatit değişimi ve mikronukleus testlerini uygulamıştır. Ayrıca MN'lerin orjinini FISH yöntemiyle incelemiştir. Bu çalışma için hiçbir sağlık sorunu olmayan dört donör (kontrol grubu), 50 mg atenolol haricinde başka bir ilaçla tedavisi görmeyen ve bilinen genotoksik madde ile maruziyeti olmayan dört hipertansiyon hastası kullanmışlardır. Hipertansiyon hastalarından bir defa kan alınmış, kontrol grubundakilerden ise bir defa 50 mg atenolol verilmeden önce, verildiğinde ve verildikten bir gün sonra olmak üzere üç defa kanları alınmıştır. Yapılan çalışma sonucunda da iki grupta KKD değerlerinde önemli bir değişikliğe rastlanmamıştır. MN frekansında ise kontrol grubunda değişiklik olmamasına rağmen hasta grubunda büyük ölçüde artış olduğu tespit edilmiştir. FISH analizi sonucuna göre MN'lerin sentromerlerinde oluşan sinyal bakımından incelendiğinde hasta ve kontrol grubu arasında önemli bir fark gözlenmiştir. Buna göre uzun süre atenolol kullananlarda anojenitenin (kromozom kaybına) neden olduğu genotoksik etkinin daha yüksek olduğunu tespit etmişlerdir (Telez ve diğerleri, 2000).

Telez ve arkadaşları 2001 yılında yaptığı diğer bir çalışmada kalsiyum kanal blokerlerinden olan Nimodipine'nin genotoksisitesini insan lenfositlerinde KKD ve MN testleri ile araştırmış ve MN'lerin içeriğini FISH tekniği ile incelemişlerdir. Nimodipine'nin genotoksisitesini test etmek için uzun süredir bu ilacı kullanan beş hasta ve beş sağlıklı donör seçmişlerdir. Sağlıklı donörlerin bir kısmından alınan kan örneklerine, hastaların kullandığı dozda ilaç (ortalama 0,06 mg/ml) in vitro olarak verilmiştir. Uzun süredir bu ilacı kullanan hastalarda KKD ve MN değerlerinde herhangi bir değişiklik gözlemlenmemişken, kontrol

grubu ile *in vitro* olarak ilacın verildiği grup karşılaştırıldığında MN değerlerinin arttığı, KKD değerlerinde ise değişiklik olmadığını görmüşlerdir. Ayrıca MN'lerin FISH incelemesinde ise sentromerik frekansların arttığını bulmuşlardır. Sonuç olarak nimodipine'nin uzun süre kullanımında genotoksik olmadığı yorumunu yapmışlardır (Telez ve diğerleri, 2001).

Tiyazid benzeri diüretik olan Hidrokloriyazidin genotoksik etkisini belirlemek için insan periferik lenfositleri kullanılarak MN testi yapılmıştır. Aynı zamanda mikronukleusların oluşum mekanizmasını (klastojenik ve/veya anojenik etki) tespit etmek için FISH yöntemi ile de incelemişlerdir. Bu çalışma için kullanılan 32 sağlıklı donörü yaşlarına, cinsiyetlerine ve sigara kullanım durumlarına göre ayırmışlardır. *In vitro* olarak kan kültürlerine 5 ve 40 µg/ml'lik hidrokloriyazid ilave edilerek 31 saat süreyle inkübe edilmiştir. Yapılan çalışma sonucunda mikronukleus frekansı 5 µg/ml'lik konsantrasyonda sadece genç donörler de artarken, 40 µg/ml'lik konsantrasyon da ise bütün gruplarda artmıştır. NBI değerinin en yüksek konsantrasyon olan 40 µg/ml'lik konsantrasyonda bütün gruplarda önemli derecede azaldığı tespit edilmiştir. FISH sonuçlarına göre 40 µg/ml'lik konsantrasyonun genotoksik etkisinin kuvvetli olduğu, MN oluşumlarının ise daha çok anojenik etkiden olduğu sonucuna ulaşılmıştır. Çalışmanın sonucunda hidroklorotiyazidin MN oluşumunu tetiklediğini ve bunun sebebinin kromozom kırığı değil kalın kromozomların artmasından kaynaklandığı savunulmuştur (Andrianopoulos, Stephanou ve Demopoulos, 2006).

Bazı araştırmacılar antihipertansif olarak kullanılan ACE inhibitörlerinin bazı kanserlerin görülme olasılığını azalttığını savunmuşlardır. Bunu araştırmak amacıyla ACE inhibitörü olan kaptoprilin, ksenogreftler olarak yüksek derecede tümörjenik LNM35 insan akciğer hücreleri enjekte edilmiş atimik farelerde antikanser aktivitesini araştırmışlardır. Üç hafta boyunca 2,8 mg/fare olarak devam eden uygulama sonucunda lenf nodu metastazında %50, $p=0,088$ oranında, tümör büyümesinde ise %58, $P<0,01$ oranların da düşüş olduğunu tespit etmişlerdir. Yapılan çalışmanın immünohistokimyasal analiz sonucuna göre kaptopril'i hücrenin kontrolsüz çoğalma oranını azalttığı bulmuşlar, fakat tümör anjiyogenezi ile bağlantısını bulamadıklarını açıklamışlardır. Floresan aktif hücre sıralama analizi ve hücre canlılığı testleri kullanarak, kaptoprilin apoptozu indükleyerek LNM35 hücrelerinin canlılığını inhibe ettiğini ve antitümörjenik aktivitelerinin oluşmasına neden olan mekanizmalar hakkında bilgi edinmişlerdir. Elde ettikleri sonuçlara göre Kaptopril'in akciğer kanserinde umut verici olabileceğini savunmuşlardır (Attoub ve diğerleri, 2008).

Antihipertansif ilaç etken maddelerinden olan metolazone'nin genotoksitesini araştırmak için, erişkin erkek albino farelerin spermatositleri (sperm baş ve boyun anormallikleri dikkate alınarak) ve kemik iliği hücreleri kullanılmıştır. Kromozomal anormallik testi için 10 gün boyunca denek grubu olarak belirlenen hayvanlara metolazone'den 0.01, 0.02 ve 0.04 mg/kg'lık dozlarda verilmiştir. Son doz verildikten 24 saat sonra kontrol ve denek grubundaki hayvanlar kurban edilmek için kemik iliği ve sperm numuneleri incelenmiştir. İnceleme sonucunda metolazone'nin kromozomal ve sperm anormalliklerinde doza bağlı olarak önemli artışlara neden olduğu tespit edilmiştir. Özellikle erkek ratlarda oluşan sitotoksik etkiden dolayı dikkatli kullanılması gerektiğini vurgulanmıştır (Fiyad ve Roshdy, 2010).

Atenolol'un genotoksik etkisini araştırmak için yapılan başka bir çalışmada *Allium cepa* test sistemi kullanılmıştır. *Allium cepa*'nın meristem hücrelerine atenolol'dan 10 µg/ml'lik dozda 24, 48 ve 72 muamele edilmiştir. Çalışma sonunda uygulamanın kromozomal anormalliğini büyük oranda arttırdığı ayrıca, 48 ve 72 saatlik uygulamada ise hücre bölünmesini önemli ölçüde azalttığı tespit edilmiştir. Kromozomal anormalliklerin yüksek olması ve hücre bölünme frekansının azalması atenolol'un DNA'nın yapısını ve hücre siklusunu olumsuz etkilediğinin bir göstergesi olarak açıklanmıştır. Sık kullanılan bu ilaç maddesinin daha ayrıntılı olarak memeli hücre sistemlerinde incelenmesi gerektiği ve teratojenik etkisinin de değerlendirilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Jangala ve diğerleri, 2012).

Başka bir çalışmada Swiss albino fareleri kullanılarak furosemide'nin genotoksik etkileri araştırılmıştır. *In vivo* olarak yapılan bu araştırma için farelerin karaciğer hücresinde comet testi ve kemik iliği hücresinde ise KA testi ve comet testi uygulanmıştır. Bu çalışma için 5'li denekten oluşan 14 grup oluşturulmuştur. Bir gruba tek doz, diğer bir gruba yedi gün boyunca tek doz furosemide uygulanmıştır. Kalan gruptaki farelerin periton bölgesine 2,5, 5, 10, 20, 40 ve 80 mg/ml dozlarda furosemide verilmiştir. Araştırmanın comet testi sonucuna göre karaciğer ve kemik iliği hücrelerinde DNA hasarı artmış fakat Kromozomal anormalliklerin tetiklemediği gözlemlenmiştir. Ayrıca başka test sistemleri (hisolojik inceleme, Tunel assay testive AST/ALT testleri) ile de yaptıkları çalışmada karaciğer hücreleri için genotoksik etkili olduğu belirtilmiştir (Mondal ve diğerleri, 2012).

Arterial hipertansiyon tedavisinde kullanılan amiodarone'nin genotoksitesini araştırmak için KA testi yapılmıştır. Bu alışma için Wistar-Kyoto ratlar ile spontan hipertansiyon geliştirilmiş ratların kemik iliği numuneleri kullanılmıştır. Sağlıklı ratlara 4 hafta boyunca dzenli olarak her gün 60 mg amiodarone verilmiştir. Kontrol grubu olarak ayrılan ratlara ise hiçbir ilaç verilmemiştir. Yapılan alışma sonucunda hasta olan ratlar ile ilaç uygulanan ratların, kontrol grubuna göre kromozom hasarı ve anormal metafaz yüzdesinde önemli artış olduğu tespit edilmiştir (Almeida ve diğerleri, 2008)

2014 yılında Huerta ve arkadaşları tarafından anjiyotensin II reseptörlerinden olan Candesartan, Telmisartan, Valsartan, Eprosartan ve Olmesartanın genotoksik etkilerini araştırmak amacıyla *in vivo* ve *in vitro* olarak insan lenfositleri kullanılmıştır. Bu araştırma için FISH, CBMN (sitogenez blok mikronükleus) testlerinde değerlendirme yapılırken sitotoksite NBI ile belirlenmiştir. Araştırma yapılırken cinsiyet, yaş ve ilaç tedavisi görenlerin süresi ile mikronükleus frekansı arasında ilişki olup olmadığı da araştırılmıştır. *In vivo* araştırma için 55 hipertansiyon tedavisi gören hasta, *in vitro* araştırmalar için ise kontrol grubu olarak 10 sağlıklı donör kullanılmıştır. Hastaların plazma düzeyinde bulunan ilaç konsantrasyonuna benzer düzeyde sağlıklı donörlere ilaç verilmiştir. İlaç uygulamasından belirli bir süre sonra donörlerden alınan kanlarla hücre kültürü yapılmıştır. Hem *in vivo*, hem *in vitro* testlerde MN ve çift çekirdekli hücre (BNMN) frekansında her ilaçta farklı olarak önemli bir artış gerçekleşmiştir. Candesartan, Valsartan ve Telmisartan ile tedavi gören hastaların *in vivo* parametrelerinde önemli bir artışın olduğunu tespit etmişlerdir. *In vitro* ortamda bu testlerde en yüksek etkiyi gösteren Olmesartan olmuştur. Ayrıca *in vitro* ortamda bütün ilaçların NBI'ni inhibe ettiğini bulmuşlardır. Test edilen ARB'ler arasında Eprosartan, Olmesartan ve Telmisartan'ın hücre canlılığını en fazla azaltan ilaçlar olmuştur. FISH analizi sonucunda ilaçlar arasında hasta ve kontrol gurunda farklılık olmadığını görmüşlerdir. CBMN frekansında anlamlı olmayan değişikler bulunduğunu, bunun sebebinin anojenik etkilerden olduğunu savunmuşlardır. Risk faktörlerini dikkate alarak yapılan analize göre, BNMN ve MN değerleri, hipertansiyon hastaları ile cinsiyet arasında pozitif korelasyon, tedavi süresiyle ise negatif korelasyon göstermiştir (Huerta ve diğerleri, 2014).

2023 yılında Avuloğlu Yılmaz ve arkadaşları tarafından yapılan çalışmada hipertansiyon tedavisinde kullanılan İndapamide'nin insan lenfositlerindeki genotoksik etkileri beş ayrı konsantrasyonda ve dört farklı testle (kromozomal anormalliği (KA), kardeş kromatid değişimi (KKD), mikronükleus (MN) ve comet) değerlendirilmiştir. Üç farklı donör

kullanılarak yapılan çalışmalarda İndapamide'nin 18.75, 37.50, 75.00 ve 100.00 µg/ml'lik konsantrasyonları uygulanmıştır. Bir negatif kontrol, bir solvent kontrol (metanol 5,4 µg/ml), ve bir tanede pozitif kontrol (MMC, mitomisin C, 0.020 µg/ml) kullanılmıştır. Yapılan testler sonucunda indapamide'nin kontrole göre KA ve MN frekanslarında anlamlı bir değişikliğe neden olmadığını, comet testinde ise yalnızca en yüksek konsantrasyonda önemli hasara neden olduğunu tespit etmişlerdir. Ek olarak 24 saatlik uygulamada KKD frekansı etkilemezken, 48 saatlik uygulamada en yüksek iki konsantrasyonda KKD sıklığını artırdığını, mitotik indeks değerlerinde ise hemen hemen tüm konsantrasyonlarda azalış olduğunu göstermişler ve sonuçlar göz önüne alındığında, indapamide'nin bu koşullarda önemli bir genotoksik etkiye sahip olmadığını ortaya koymuşlardır (Avuloğlu-Yılmaz ve diğerleri, 2023).

2013 yılında Ji Won Kim ve arkadaşlarının Antihipertansif olarak kullanılan anjiyotensin II reseptörü antagonistlerinden olan Olmesartan Sileksetil'i, *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98 ve TA1537) ve *Escherichia coli* (WP2 uvrA) kullanılarak bakteriyel ters mutasyon testi ile mutajenitesini değerlendirmek için 0.62, 185, 556, 1667 ve 5000 µg/plaklara ekimi yapılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda Olmesartan Sileksetil'in bakteriyel ters mutasyonu indüklemediğini göstermişlerdir (Kim ve diğerleri, 2013).

Antihipertansif etken maddesi olarak kullanılan Hidroklorotiyazid'in empüritesi (safsızlığı bozan madde) olan salamid'in mutajenitesini araştırılmıştır. Bu çalışma için *Salmonella typhimurium* (TA100, TA1535, TA98 ve TA1537) ve *Escherichia coli* (WP2 uvrA) suşları altı farklı konsantrasyonda (en yüksek konsantrasyon olan 5000 µg/plak) kullanılmıştır. Yapılan çalışma sonucunda salamid'in mutajenik olmadığını savunmuşlardır (Emerce ve diğerleri, 2016).

1999 yılında Mason, hipertansiyon ilaçlarından olan kalsiyum kanal blokerları ile kanser arasındaki ilişkiyi araştırmıştır. Yapılan araştırma sonucunda bu ilaçların genotoksik olduğunu, bunun sebebinin de hücre normal siklusunda hasarlı hücrelerin imhası olan apoptozu engellediği görüşünü savunmuştur (Mason, 1999).

Hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaçlardan olan Hidralazin ve Dihidralazin'in metabolik aktivasyonlu ortamda genotoksik etkisini araştırmak için L929 hücrelerinde (*in vitro*) mikronükleus testi yapılmıştır. Rat karaciğer membran fraksiyonu (S9 fraksiyonu) ile 500 µg/ml ilaç (Hidralazin veya Dihidralazin) L929 hücre kültürüne ekilmiştir. Yapılan

Çalışma sonucunda MN frekansında kontrol grubu kadar azalma olduğunu tespit etmişlerdir. Karaciğer antioksidan enzimlerinden olan süperoksit dismutazın ve katalaz'ın bu ilaçların genotoksik etkilerinden karaciğer hücrelerini korumasında etkin olduğu görüşünü savunmuşlardır (Chlopkiewicz, 2001).

Hidralazin (HDZ)'in Çin hamsteri yumurtalık hücrelerinde 2014 yılında başka bir genotoksisite testi yapılmıştır. İlacın sitogenetik etkilerini araştırmak için kromozomal anormallikler (kromatid kırıkları ve poliploidi) incelenmiştir. Değişik dozlarda Hidralazin Çin hamster hücrelerine uygulanmış ve sonuçta bu ilacın MI frekansını önemli ölçüde azalttığı, kromatid kırıklarını ise arttırdığı sonucuna ulaşılmıştır. Poliploidi frekansında ise kontrole göre bir fark olmadığı tespit edilmiştir. Yapılan alışma sonucunda Hidralazinin kullanılan dozlarının, Çin hamster yumurtalık hücreleri üzerinde genotoksik etkili olduğu vurgulanmıştır (Sedigh-Ardekani, Saadat ve Saadat, 2014).

Bu tez çalışmasında hipertansiyon tedavisinde kullanılan ilaç hammaddelerinden olan Amlodipine ve Ramipril'in genotoksisitesini araştırmak için insan lenfositlerin de *in vitro* olarak kromozom anormalliyi ve mikronükleus testi yapılmıştır. Amlodipine'in kullanılan konsantrasyonlarda ve test şartlarında genotoksik etkiye sahip olmayabileceği görülmüştür. Ramipril'in ise sadece yüksek konsantrasyonlarda ise genotoksik etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Antihipertansifler üzerinde yapılan diğer çalışmalarda bazı antihipertansiflerin dozlarla orantılı genotoksik olduğunu, bazılarının da ise kullanılan dozlarda genotoksik özellik göstermediği literatürde açıktır. Bu nedenle ilaç kullanımında fayda zarar etkileşiminin göz önüne alınması gerekmektedir. Amlodipine ve Ramipril'in daha önce yapılan genotoksisite ve sitotoksisite çalışmaları tez sonuçlarını destekler niteliktedir.

Sitotoksik etki, toksik maddelerin hücrenin fonksiyonlarını yerine getirmesini engellemesi veya hücre ölümüne neden olmasıdır. Bir maddenin toksik olup olmadığını araştırmak için yapılan testlere sitotoksisite testleri denilmektedir. Toksik maddelere maruz kalınma süresi ve miktarına bağılı olarak hücreye verdiği zarar değişmektedir. Toksik maddelerin hücrede verdiği zararı tespit etmek için MI ve NBI'i yapılan çalışmalar arasındadır. Bu testlerle kimyasal maddelerin hücrenin çoğalması üzerindeki etkileri, sitotoksisitesinin boyutu ve hücre döngüsünde oluşturdukları anormallikleri tespit edilebilmektedir (Riss ve Moravec, 2004; Kartal, 2015; Şekeroğlu, Aksoy ve Atlı Şekeroğlu, 2017).

Bu çalışmada Amlodipine ve Ramipril'in tüm uygulama sürelerinde özellikle yüksek konsantrasyonlarda mitotik indeksi düşürdüğü tespit edilmiştir. MI azalması hücre döngüsünün herhangi bir sebeple yavaşlatıldığı veya durdurulduğunu göstermektedir. Ayrıca DNA sentezi, mitokondiyal fonksiyon ve G2 fazının inhibe olması, iç ipliği ve DNA sentezinde gerekli olan enzimlerin baskılanması da MI'yı azaltmaktadır (Jain and Andsorbhoy, 1988; Van't Hof, 1968; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2023). Ek olarak NBI değerlerinin her iki ilaç etken maddesi uygulamasından da etkilenmediği görülmektedir. Bu sonuçlara göre Amlodipine ve Ramipril'in yüksek konsantrasyonlarda sitotoksik etkiye sahip olabileceği düşünülmektedir. Söz konusu sonuçların diğer genotoksisite ve sitotoksisite testleri ile desteklenmesi gerekmektedir.



6. SONUÇ

Hipertansiyon tedavi ve kontrol altına alınmasında kişilere yaşam tarzı değişikliği (streslen uzak durma, dengeli beslenme, sigara ve alkolden uzak durma, tuz alım kontrolü gibi) önerilse de günümüzde kullanılan en yaygın tedavi yöntemi antihipertansif ilaçlardır. Bu ilaçlar tek başına kullanılabildiği gibi diğer antihipertansif ilaçlarla kombinasyon halinde kullanılabilmektedir (An ve diğerleri, 2021).

Günümüz yaşam şartları nedeniyle dengesiz beslenme, stres, hareketsiz yaşam, zararlı bağımlılıklar artış göstermiş ve buna bağlı olarak birçok kronik hastalığın arttığı gibi kardiyovasküler hastalıkları özellikle hipertansiyon hastalığını artırdığı görülmektedir. Dünya nüfusunun ortalama üçte biri yüksek tansiyon risk altında olduğu ve antihipertansiflerin uzun süre ve hatta ömür boyu bir veya birkaç ilacın birlikte kullanıldığı düşünüldüğünde, antihipertansif ilaçların genotoksitesi, klastojenitesi ve mutajenitesinin bilinmesinin ne kadar önemli olduğunu gözler önüne sermektedir (Sayran, Rawaa, Dian ve Asaad, 2021).

Birçok kronik hastalıkta olduğu gibi hipertansiyon tedavisinde de ilaç kullanımı ya uzun sürmekte ya da ömür boyu kullanılması gerekmektedir. Bu nedenle özellikle bu şekilde uzun kullanım gerektiren ilaçların ve etken maddelerinin tarafsız laboratuvarlarca genotoksik ve mutajenik etkilerinin incelenmesi önemlidir. Çeşitli organizmalarda yapılan testler sonucunda bazı antihipertansif ilaçların genotoksik etkili olduğu gösterilmiştir (Brambilla ve Martelli, 2006; Sayran, Rawaa, Dian ve Asaad, 2021).

Son yıllarda birçok ilacın, özellikle uzun süre kullanılması gerek antihipertansif gibi ilaçların aktif bileşenlerinin mutajenitesi, kanserojenitesi ve genotoksitesi araştırılmıştır (Chakrabarti, Ghosh, Jana, Ghosh ve Mukherjee, 2017; de Moura Leao ve diğerleri, 2018; Gajski ve diğerleri, 2018; Sosedova ve diğerleri, 2020). Epidemiyolojik çalışmalardan elde edilen çelişkili sonuçlar, antihipertansif tedavinin artan genotoksik potansiyel ile ilişkisini belirlemeyi zorlaştırmıştır. Yapılan çalışmalar incelendiğinde hipertansiyon hastalığının kendisi ile (özellikle böbrek kanseri) kanser insidansı arasındaki ilişkinin varlığı kabul edilmiştir (Brambilla ve Martelli, 2006; Hidayet ve diğerleri, 2017; Kocher ve diğerleri, 2017; Kim ve diğerleri, 2020).

Bireyler arasında yaş, cinsiyet, immün sistem ve genetik faktörlerde ilacın bireyler üzerinde oluşturduğu etkilerde farklılıklar gösterebilmektedir. Bu nedenle kullanılan bu ilaçların çok dikkatli kullanılması ve hastanın takip edilmesi gerekmektedir.

Çalışmanın sonucu olarak Amlodipine'in kullanılan konsantrasyonlarda ve muamale sürelerinde insan lenfositlerinde önemli bir genotoksik risk oluşturmadığı tespit edilmiştir. Ramipril'in ise özellikle yüksek konsantrasyonlarda genotoksik etkili olduğu ve dikkatli kullanılması gerektiği düşünülmektedir. Bu veriler doğrultusunda, söz konusu iki ilaç etken maddesinin genotoksitesinin *in vivo* ve *in vitro* şartlarda farklı hücre grupları ve test sistemleri kullanılarak incelenmesi ve ileri çalışmalar yapılması önerilmektedir.



KAYNAKLAR

- Aker, B.E., Doğaner, Y.Ç. ve Aydoğan, Ü. (2020). Türk hipertansiyon uzlaşı raporları: 2015’den 2019’a neler değişti? *Konuralp Tıp Dergisi*, 12(2), 326-333.
- Akyıl, D., (2018). Ames Testi Kullanılarak Dentis Pestisitinin Mutajenitesinin Belirlenmesi. *Iğdır Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*. 8 (1), 249-254.
- Alkan, F.Ü. ve Anlaş, C. (2015). Genotoksisite testleri ve genotoksik zehirler. *Türkiye Klinikleri Journal of Veterinary Sciences-Pharmacology and Toxicology-Special Topics*, 1(1), 69-74.
- Almeida, M. R., Lima, E. O., Silva, V. J. D., Campos, M. G., Antunes, M. G. L., Salman, A. K. D. and et all. (2008). Genotoxic Studies in Hypertensive and Normotensive Rats Treated with Amiodarone. *Mutation Research*, 657, 155–159.
- Alp, Ç. , Karahan, İ. & Kalçık, M. (2018). Antihipertansif ilaçların kullanımı ile ilişkili yan etkiler: güncel literatürler eşliğinde gözden geçirme. *Turkish Journal of Clinics and Laboratory*, 9 (4), 342-347.
- Ames, B.N., Mccann, J., Yamasaki, E. (1975). Methods for Detecting Carcinogens and Mutagens With the Salmonella Mammalian Microsome Mutagenicity Test Genotoxicity.
- An, J., Luong, T., Qian, L., Wei, R., Liu, R., Muntner, P., Brettler, J., Jaffe, M.G., Moran, A.E. and Reynolds, K. (2021). Treatment patterns and blood pressure control with initiation of combination versus monotherapy antihypertensive regimens. *Hypertension*, 77(1), 103-113.
- Andrianopoulos, C., Stephanou, G. and Demopoulos, N. A. (2006). Genotoxicity of Hydrochlorothiazide in Cultured Human Lymphocytes. I. Evaluation of Chromosome Delay and Chromosome Breakage. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 47(3), 169-178.
- Arslandaş, E.E., Sevinç, N., Çetinkaya, F., Günay, O. ve Aykut M. (2019). Hipertansif kişilerin hipertansiyon konusundaki tutum ve davranışları. *Ege Tıp Dergisi*, 58 (4), 319-329.
- Aşçı-Çelik, D., ve Toğay, V. A. (2022). Rotenon’un İnsan Lenfositlerinde İn Vitro Genotoksisitesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Sağlık Bilimleri Dergisi*, 13(3): 448-455.
- Aşkın, L., Tanrıverdi, O., Türkmen, S. ve Aktürk, E. (2018). Avrupa Kardiyoloji Derneği/Avrupa Hipertansiyon Derneği Kılavuzu: Hipertansiyona Güncel Yaklaşımlar ve Tedavi Stratejileri. *MN Kardiyoloji Dergisi*, 25 (4), 205-211.
- Ataseven, N., Yüzbaşıoğlu, D., Keskin, A. Ç. and Ünal, F. (2016). Genotoxicity of monosodium glutamate. *Food and Chemical Toxicology*, 91, 8-18.

- Atlı-Şekeroğlu, Z. ve Şekeroğlu V. (2011). Genetik toksisite testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(3), 221-229.
- Attoub, S., Gaben, A. M., Suhail Al-Salam, S., Al Sultan, M. A. H., John, A., Nicholls, M. G. and et all. (2008). Captopril as a Potential Inhibitor of Lung Tumor Growth and Metastasis. *Mutagenesis*, 1138, 65–72.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D. ve Ünal, F. (2023). Assessment of the genotoxic effects of antihypertensive drug active ingredient indapamide in human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 46(2), 297-303.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D. ve Ünal, F. (2017). Assessment Of antihypertensive Drug Indapamide Genotoxicity In Human Peripheral Lymphocytes Using Chromosomal Aberration Test. *The Turkish Journal of Occupational / Environmental Medicine and Safety*, 2(1), 182-182.
- Avuloğlu-Yılmaz, E. (2018). *Gıda Katkı Maddeleri Olarak Kullanılan Monopotasylum Glutamat, Magnezyum Dighlutamat ve Xylitol'ün Genetoksik Etkilerinin Araştırılması*. Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Ünal, F. and Yüzbaşıoğlu, D. (2016). Evaluation of cytogenetic and DNA damage induced by the antidepressant drug-active ingredients, trazodone and milnacipran, *in vitro*. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(1), 57-66.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D. and Ünal, F. (2020). *In vitro* Genotoxicity Assessment of Monopotassium Glutamate and Magnesium Dighlutamate. *Toxicology in vitro*, 65, 104780.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D., Özçelik, A. B., Ersan, S. and Ünal, F. (2017). Evaluation of genotoxic effects of 3-methyl-5-(4-carboxycyclohexylmethyl)-tetrahydro-2H-1, 3, 5-thiadiazine-2-thione on human peripheral lymphocytes. *Pharmaceutical Biology*, 55(1), 1228-1233.
- Aydın, Z. ve Öztürk, S. (2014). Hipertansiyon Tedavisinde Güncel Yaklaşımlar. *Haseki Tıp Bülteni*, 52, 251-255.
- Aydoğdu, S. (2019). Turkish Hypertension Consensus Report. *Türk Kardiyol Derneği Arşivi-Archives Turkish Soc Cardiol*, 47(6), 535-546.
- Aydoğdu, S., Güler, K., Bayram, F., Altun, B., Derici, Ü., Abacı, A. ve diğerleri. Türk Hipertansiyon Uzlaş Raporu 2019. *Türk Kardiyol Derneği Arşivi*, 47 (6), 535-546.
- Aykanat, B., Cakmak-Demircigil, G., Buyan, N., Baskin, E., Gulleroglu, K., Fidan, K. et all. (2016). Micronuclei and other nuclear anomalies in buccal epithelial cells of children with chronic kidney disease. *Arhiv za Higijenu Rada i Toksikologiju*, 67(4), 317-25.
- Aykanat, B., Demircigil, G. C., Fidan, K., Buyan, N., Gulleroglu, K., Baskin, E. Et all. (2011). Basal damage and oxidative DNA damage in children with chronic kidney disease measured by use of the comet assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 725(1), 22–28.

- Baldrick, P. (2021). Genotoxicity test battery – An assessment of its utility in early drug development. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 868-869.
- Balti, R., Bougatef, A., Sila, A., Guillochon, D., Dhulster, P. and Nedjar-Arroume, N.(2015). Nine novel angiotensin I-converting enzyme (ACE) inhibitory peptides from cuttlefish (*Sepia officinalis*) muscle protein hydrolysates and antihypertensive effect of the potent active peptide in spontaneously hypertensive rats. *Food Chemistry*, 1(170), 519-525.
- Bayrak, E. (2020). Bulaşıcı Olmayan Hastalıklarda Kişiyeye Özgü Risk Değerlendirmeleri ve Kanser Taramaları. *Sağlık ve Toplum Dergisi*, 30 (2) 29-45.
- Benigni, R., Bassan, A. and Pavan, M. (2020). In silico models for genotoxicity and drug regulation. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 16(8), 651-662.
- Bhat, M. A. and Gandhi, G. (2017). Assessment of DNA Damage in Leukocytes of Patients with Coronary Artery Disease by Comet Assay. *International Heart Journal*, 58(2), 271-274.
- Bhat, M. A., Mahajan, N. and Gandhi, G. (2013). DNA and Chromosomal Damage in Coronary Artery Disease Patients. *Experimental and Clinical Sciences*, 12, 872-884.
- Biçer, S., Ünsal, A., Taşçı, S., Demir, G. and Ceyhan, Y. S. (2021). The Effect of Acupressure on Blood Pressure Level and Pulse Rate in Individuals with Essential Hypertension: A Randomized Controlled Trial. *Holistic Nursing Practice*, 35(1), 40-48.
- Boğaz, M.E., Kutlu, R. ve Cihan, F.G. (2019). Obezite ile yeme davranışı, beden algısı ve benlik saygısı arasındaki ilişki. *Cukurova Medical Journal*, 44(3), 1064-1073.
- Bonassi, S., Fenech, M., Lando, C., Lin, Y. P., Ceppi, M., Chang, W. P. and et all. (2001). Human Micronucleus project: international database comparison for results with the cytokinesis-block micronucleus assay in human lymphocytes: I. Effect of laboratory protocol, scoring criteria, and host factors on the frequency of micronuclei. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 37(1), 31-45.
- Bonassi, S., Znaor, A., Ceppi, M., Lando, C., Chang, W. P., Holland, N. and et all. (2007). An increased micronucleus frequency in peripheral blood lymphocytes predicts the risk of cancer in humans. *Carcinogenesis*, 28(3), 625-631.
- Bonassi, S., Znaor, A., Norppa, H. and Hagmar, L. (2004). Chromosomal aberrations and risk of cancer in humans: an epidemiologic perspective. *Cytogenetic and Genome Research*, 104(1-4), 376-382.
- Boratas, S. and Kilic, H.F.(2018). Evaluation of medication adherence in hypertensive patients and influential factors. *Pakistan Journal of Medical Sciences*, 34(4), 959-963.
- Börçek-Kasurka, C., (2010). *Antihistaminik İlaç Olarak Kullanılan Feksofenadin Etkin Maddesinin İnsan Periferik Lenfositleri Üzerindeki Genotoksik Etkileri*.

Yayımlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.

- Brambilla, G. and Martelli, A. (2006). Genotoxicity and carcinogenicity studies of antihypertensive agents. *Mutation Research*, 612, 115-149.
- Brambilla, G., Mattioli, F. and Martelli, A. (2009). Genotoxic and carcinogenic effects of antipsychotics and antidepressants. *Toxicology*, 261, 77-88.
- Burgaz, S., Demircigil, G. C., Yilmazer, M., Ertas, N., Kemalolu, Y. and Burgaz, Y. (2002). Assessment of cytogenetic damage in lymphocytes and in exfoliated nasal cells of dental laboratory technicians exposed to chromium, cobalt, and nickel. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 521(1), 47-56.
- Burgaz, S., Işcan, A., Büyükbingöl, Z. K., Bozkurt, A. and Karakaya, A. E. (1995). Evaluation of Micronuclei in Exfoliated Urothelial Cells and Urinary Thioether Excretion of Smokers. *Mutation Research/Environmental Mutagenesis and Related Subjects*, 335(2), 163-169.
- Cajiao, J. J. T., Carante, M. P., Rodriguez, M. A. B. and Ballarini, F. (2017). Proximity effects in chromosome aberration induction by low-LET ionizing radiation. *DNA Repair*, 58, 38-46.
- Cakmak-Demircigil, G. C., Coskun, E., Vidinli, N., Erbay, Y., Yilmaz, M., Cimrin, A. and et all. (2010). Increased micronucleus frequencies in surrogate and target cells from workers exposed to crystalline silica-containing dust. *Mutagenesis*, 25(2), 163-169.
- Cakmak-Demircigil, G., Erdem, O., Gaga, E. O., Altuğ, H., Demirel, G., Özden, Ö. and et all. (2014). Cytogenetic biomonitoring of primary school children exposed to air pollutants: micronuclei analysis of buccal epithelial cells. *Environmental Science and Pollution Research*, 21(2), 1197-1207.
- Cavalcante, D. N. D. C., Sposito, J. C. V., Crispim, B. D. A., Nascimento, A. V. D. and Grisolia, A. B. (2017). Genotoxic and mutagenic effects of passive smoking and urban air pollutants in buccal mucosa cells of children enrolled in public school. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 27(5), 346-351.
- Cayir, A., Cobanoglu, H. and Coskun, M. (2020). Assessment of the genotoxic potential of a migraine-specific drug by comet and cytokinesis-block micronucleus assays. *Expert Opinion on Drug Metabolism and Toxicology*, 16(5), 441-446.
- Cebeci, S. P. (2021). Esansiyel Hipertansiyonu Olan Hastada Watson İnsan Bakim Modeli: Olgu Sunumu. *Avrasya Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(2), 113-120.
- Cernes, R., Mashavi, M. and Zimlichman, R. (2011). Differential clinical profile of candesartan compared to other angiotensin receptor blockers. *Vascular health and risk management*, 7, 749-59.

- Chakrabarti, M., Ghosh, I., Jana, A., Ghosh, M., Mukherjee, A. (2017). Genotoxicity of antiobesity drug orlistat and effect of caffeine intervention: an *in vitro* study. *Drug and Chemical Toxicology*, 40(3), 339-343.
- Chapman, N., Chang, C., Dahlöf, B., Sever, P.S., Wedel, H., Poulter, N.R. and et all.(2008). Effect of doxazosin gastrointestinal therapeutic system as thirdline antihypertensive therapy on blood pressure and lipids in the AngloScandinavian Cardiac Outcomes Trial. *Circulation*, 118(1), 42-48.
- Chen, L.C., Chen, Y.T., Hsieh, J.J., Liu, J.M., Lin, J.C. and Liang, C.C. (2011). Comparison of peak oxygen consumption in patients with idiopathic hypertension treated with beta-blockers and other antihypertensives. *Tzu Chi Medical Journal*, 23, 82-85.
- Chlopkiewicz, B. (2001). Influence of Metabolic Activation on the Induction of Micronuclei by Antihypertensive Drugs in L929 Cells. *Archives of Toxicology*, 74, 794-798.
- Choudhury, A. and Lip, G.Y.H. (2005). Exercise and hypertension. *Journal of Human Hypertension*, 19(8), 585-587.
- Choudhuri, S., Kaur, T., Jain, S., Sharma, C., & Asthana, S. (2021). A review on genotoxicity in connection to infertility and cancer. *Chemico-Biological Interactions*, 345, 109531.
- Corrao, G., Zambon, A., Parodi, A., Poluzzi, E., Baldi, I., Merlino, L. and et all. (2008). Discontinuation of and changes in drug therapy for hypertension among newlytreated patients: a population-based study in Italy. *Journal of hypertension*, 26(4), 819-824.
- Çeçen, S. ve Bulur, Ş. (2015). Hipertansiyon ve Egzersiz. *Türkiye Klinikleri Dergisi Spor Hekimliği-Özel Konular*, 1(2), 66-70.
- Çobanoğlu, H. (2021). Gadoterik Asit'in *In Vitro* Koşullarda Kardeş Kromatid Değişimi ve Mitotik İndeks Üzerine Etkisinin Değerlendirilmesi . *Journal of the Institute of Science and Technology* , 11 (3) , 1803-1808 . DOI: 10.21597/jist.876834
- Çoşkun Beyan, A. ve Demiral, Y. (2021). Mesleksel Uçucu Organik Bileşik Maruz Kalımı ve Genotoksikite . *Çalışma ve Toplum* , 3 (70) , 1901-1916 .
- Dağ, İ. ve Kahraman, S. (2019). Şanlıurfa ilinde hipertansiyon tanısı almış hastaların profilinin incelenmesi. *ACU Sağlık Bilimleri Dergisi*, 10(4), 683-689.
- de Moura Leao, M. F., Duarte, J. A., Sauzen, P. D., Piccoli, J. D. C. E., de Oliveira, L. F. S. and Machado, M. M. (2018). Cytotoxic and genotoxic effects of antihypertensives distributed in Brazil by social programs: Are they safe?. *Environmental Toxicology and Pharmacology*, 63, 1-5.
- Demir, M. (2021). *Eğitim Aile Sağlığı Merkezine Başvuran Hipertansiyon Hastalarının İlaç Ve Hastalık Bilgi Düzeyi İle Tedaviye Uyumunun Karşılaştırılması*; Yayınlanmamış Doktora Tezi; Atatürk Üniversitesi Tıp Fakültesi Aile Hekimliği Anabilim Dalı; Erzurum.

- Demirci, Ş. & Kaya, S. (2022). Türkiye’de Yaşlı Bireyler Arasında Bulaşıcı Olmayan Hastalık ve Risk Faktörlerinin Birliktelik Kuralları Analizi ve Sosyal Ağ Analizi İle İncelenmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Vizyoner Dergisi*, 13(34), 535-550. DOI: 10.21076/vizyoner.948245
- Deniz; A. (2022). *Yeni Tanı Konmuş Hipertansiyon Hastalarında Sistemik İmmün-İnflamasyon İndeksi Ve Non-Dipper Hipertansiyon Arasındaki İlişkinin İncelenmesi*; Yayınlanmamış Doktora Tezi; Fırat Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı; Elazığ.
- Dikilitaş, M. ve Koçyiğit, A. (2010). Canlılarda “Tek Hücre Jel Elektroforez ” Yöntemi ile DNA Hasar Analizi. *Journal of Agricultural Food*, 14(2), 77-89.
- Dinçer, Y. ve Kankaya, S. (2010). DNA Hasarının Belirlenmesinde Comet Assay. *Türkiye Klinikleri Journal of Medical Sciences*, 30(4), 1365.
- Doak, S.H., Liu, Y. and Chen, C. (2012). *Genotoxicity and cancer*, in: Fadeel, B., Pietroiusti, A., Shvedova, A.A. (Eds.), *Adverse Effects of Engineered Nanomaterials*. Cambridge-USA: Academic Press, pp. 243-261.
- Doak, S.H., Manshian, B., Jenkins, G.J.S. and Singh, N. (2012) Microelectrophoretic Study Of Radiation Induced DNA Damage In Individual Mammalian Cells. *Biochemical And Biophysical Research Communications*, 123, 291–298.
- Dorn, S.B., Degen, G.H., Müller, T., Bonacker, D., Joosten, H.F., Van der Louw, J. and et all. (2007). Proposed criteria for specific and non-specific chromosomal genotoxicity based on hydrophobic interactions. *Mutation Research*, 628(2), 67-75.
- El-Alfy, N.Z.I., Alqosaibi, A.I., Mahmoud, M.F. and Abdullah, A.M. (2021). Appraisal of genotoxicity and cytotoxicity of depakine® and/or epanutin® in bone marrow erythrocytes and hepatocytes of male albino mice by comet and micronucleus assays. *Medico Legal Update*, 21(1), 638-643.
- El-Ebiary, A. A., Abuelfadl, A. A. and Sarhan, N. I. (2013). Evaluation of genotoxicity induced by exposure to antineoplastic drugs in lymphocytes of oncology nurses and pharmacists. *Journal of Applied Toxicology*, 33(3), 196-201.
- Elias, M.F., Goodell, A.L. and Dore, G.A. (2012). Hypertension and cognitive functioning: a perspective in historical context. *Hypertension*, 60(2), 260-268.
- El-Zein, R. A. , Abdel-Rahmanb, S. Z., Hayb, M. J., Lopeza, M. S., Bondya, M. L., Morrisb, D. L. and et all. (2005). Cytogenetic effects in children treated with methylphenidate. *Cancer Letters*, 230, 284–291.
- Emerce, E., Çok, İ., Sarı, S. and Bostancı, Ö. (2016). An investigation of the mutagenic activity of salamide – a major impurity of hydrochlorothiazide. *Toxicology Mechanisms and Methods*, 26(9), 644-649.
- Erkoç, Y. ve Yardım, N. (Editörler). (2011). Türkiye’de Bulaşıcı Olmayan Hastalıklar ve Risk Faktörleri ile Mücadele Politikaları. Ankara: Anıl Matbaası.

- Ersoy, E. ve Saatçi, E. (2017). Periyodik sağlık muayenelerine genel bakış. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 21(2), 82-89.
- Ettehad, D., Emdin, C.A., Kiran, A., Anderson, S.G., Callender, T., Emberson, J. and Et all. (2016). Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: asystematic review and meta-analysis. *The Lancet*, 387(10022), 957-967.
- Evans, H. J., In Kilbey, B. J., Legator, M., Nichols, W. and Ramel, C. (1984). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Amsterdam, *Elsevier Sciences*, 2nd ed., 405–424.
- Evazalipour, M., Moayedi, S., Safarzadeh-Kozani, Pou., Safarzadeh- Kozani, Poo. And Zamani, E.(2021). The protective effects of carvacrol on diphenhydramine-induced genotoxicity in human peripheral blood lymphocytes. *Research Journal of Pharmacognosy*, 8(1), 19-27.
Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi, 7(2), 98-108.
- Felmeden, D. C. and Lip, G. Y. H. (2001). Antihypertensive Therapy and Cancer Risk. *Drug Safety*, 24(10), 727-739.
- Fenech, M. (2000). The *In Vitro* Micronucleus Technique. *Mutation Research*, 455 (1-2): 81-95.
- Fenech, M. (2006). Cytokinesis-block micronucleus assay evolves into a “cytome” assay of chromosomal instability, mitotic dysfunction and cell death. *Mutation Research/Fundamental and Molecular Mechanisms of Mutagenesis*, 600(1), 58-66.
- Fenech, M. (2007). Cytokinesis-block micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 2(5), 1084-1104.
- Fenech, M., Kirsch-Volders, M., Natarajan, A. T., Surralles, J., Crott, J. W., Parry, J. and et all. (2011). Molecular mechanisms of micronucleus, nucleoplasmic bridge and nuclear bud formation in mammalian and human cells. *Mutagenesis*, 26(1), 125-132.
- Fukunaga, H., Ohkubo, T., Kobayashi, M., Tamaki, Y., Kikuya, M., Obara, T. and et all. (2008). Costeffectiveness of the introduction of home blood pressure measurement in patients with office hypertension. *Journal of Hypertens*, 26(4), 685-690.
- Fyiad, A. A. and Roshdy, H. M. (2010). Cytogenetic and Biochemical Effects of Metenix on Albino Male Mice. *New York Science Journal*, 3(6), 127-132.
- Gajski, G., Ladeira, C., Geric, M., Garaj-Vrhovac, V. and Viegas, S. (2018). Genotoxicity assessment of a selected cytostatic drug mixture in human lymphocytes: a study based on concentrations relevant for occupational exposure. *Environmental Research*, 161, 26-34.
- Gandhi, G. and Tung, G. (2017). Sensitivity and Specificity Prediction of the Buccal Micronucleus Cytome Assay in End-Stage Renal Disease Patients on Dialysis: A case-

- control Study. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 822, 1-9.
- Gandhi, G., Mehta, T., Contractor, P. and Tung, G. (2018). Genotoxic Damage in End-stage Renal Disease. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 835, 1-10.
- Gao Q, Xu L, Cai J.(2021). New drug targets for hypertension: A literature review. *Biochim Biophys Acta Molecular Basis of Disease*, 1867(3), 166037.
- Gavrilova, A., Bandere, D., Logviss, K., Šmits, D. and Urtāne, I. (2021). Adherence level to arterial hypertension treatment: a cross-sectional patient survey and retrospective analysis of the NHS prescription database. *Healthcare*, 9(8), 1-11.
- GBD 2019 Risk Factors Collaborators. (2020). Global burden of 87 risk factors in 204 countries and territories, 1990–2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet*, 396(10258),1223-1249.
- Ginzkey, C., Steussloff, G., Koehler, C., Burghartz, M., Scherzed, A., Hackenberg, S. et all. (2014). Nicotine derived genotoxic effects in human primary parotid gland cells as assessed *in vitro* by comet assay, cytokinesis-block micronucleus test and chromosome aberrations test. *Toxicology in Vitro*, 28(5), 838- 846.
- Göksu Çetinkaya, A. P. ve Asgarova, L. (2020). Nadir Bir Yan Etki Olarak Amlodipine Bağlı Dişeti Hiperplazisi. *Çocuk Dergisi*, 20 (1) , 33-35.
- Göney, G. & Halisdemir, M. O. (2022). Investigation of Genotoxic Damage in Overweight Individuals Using the Comet Assay. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 17 (3) , 43-48. DOI: 10.17517/ksutfd.942657
- Guo, X., Ni, J., Dai, X., Zhou, T., Yang, G., Xue, J. and et all. (2018). Biphasic regulation of spindle assembly checkpoint by low and high concentrations of resveratrol leads to the opposite effect on chromosomal instability. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 825, 19-30.
- Güler, U., Ateş, M., Yılmaz, S. ve Akgül. E. (2020). Hipertansiyon ilacı kullanan sedanter bireylerde 24 haftalık egzersiz programının vücut kompozisyonu, maksimal oksijen kapasitesi ve seçili fizyolojik parametreler üzerindeki etkileri. *Spor Eğitim Dergisi*, 4, 203-214.
- Gün, Y. ve Korkmaz, M. (2014). Hipertansif hastaların tedavi uyumu ve yaşam kalitesi. *Dokuz Eylül Üniversitesi Hemşirelik Fakültesi Elektronik Dergisi*, 7(2), 98-108.
- Gündoğan, K., Donmez-Altuntas, H., Hamurcu, Z., Akbudak, I. H., Sungur, M., Bitgen, N. et all. (2018). Evaluation of chromosomal DNA damage, cytotoxicity, cytostasis, oxidative DNA damage and their relationship with endocrine hormones in patients with acute organophosphate poisoning. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 825, 1-7.

- Hacıhasanoglu, R. (2009). Treatment compliance affecting factors in hypertension. *TAF Preventive Medicine Bulletin*, 8(2), 167-172.
- Hagmar, L., Bonassi, S., Strömberg, U., Brøgger, A., Knudsen, L. E., Norppa, H. et al. (1998). Chromosomal aberrations in lymphocytes predict human cancer: a report from the European Study Group on Cytogenetic Biomarkers and Health (ESCH). *Cancer Research*, 58(18), 4117-4121.
- Hagmar, L., Brogger, A., Hansteen, I. L., Heim, S., Högstädt, B., Knudsen, L. et al. (1994). Cancer risk in humans predicted by increased levels of chromosomal aberrations in lymphocytes: Nordic study group on the health risk of chromosome damage. *Cancer Research*, 54(11), 2919-2922.
- Hassanane, M.S., Hafiz, N., Radwan, W. and El-Ghor, A.A. (2012). Genotoxic evaluation for the tricyclic antidepressant drug, amitriptyline. *Drug and Chemical Toxicology*, 35(4), 450-455.
- Hayashi, M. T. and Karlseder, J. (2013). DNA damage associated with mitosis and cytokinesis failure. *Oncogene*, 32(39), 4593-4601.
- Hemachandra, C. K. and Pathiratne, A. (2016). Combination of physico-chemical analysis, Allium cepa test system and Oreochromis niloticus erythrocyte based comet assay/nuclear abnormalities tests for cyto-genotoxicity assessments of treated effluents discharged from textile industries. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 131, 54-64.
- Hidayat, K., Du, X., Zou, S. Y. and Shi, B. M. (2017). Blood pressure and kidney cancer risk: meta-analysis of prospective studies. *Journal of Hypertension*, 35(7), 1333-1344.
- Holland, A. J. and Cleveland, D. W. (2012). Chromoanagenesis and cancer: mechanisms and consequences of localized, complex chromosomal rearrangements. *Nature Medicine*, 18(11), 1630-1638.
- Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S. and et al. (2008). The micronucleus assay in human buccal cells as a tool for biomonitoring DNA damage: the HUMN project perspective on current status and knowledge gaps. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 659(1), 93-108.
- Huerta, I., Barasoain, M., Telez, M., Longa, M., Muga, J., Barrenetxea, G. and et al. (2014). Genotoxic evaluation of five Angiotensin II receptor blockers: *In vivo* and *in vitro* micronucleus assay. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 767, 1-7.
- İlgaz, A. ve Özer, Z. (2017). Hipertansiyonlu bireylerde egzersizin kan basıncına etkisi: Sistematik derleme. *MN Kardiyoloji*, 24(1), 31-41.
- Ito, N., Fukushima, S., Shirai, T., Hagiwara, A. and Imada, K. (1984). Drugs, food additives and natural products as promoters in rat urinary bladder carcinogenesis. *International Agency for Research on Cancer (IARC) Scientific Publication*, 56, 399-407.

- Itoh, S., Hattori, C., Nagata, M. and Sanbuissho, A. (2012). Structural and numerical chromosome aberration inducers in liver micronucleus test in rats with partial hepatectomy. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 747(1), 98-103.
- İkde-Öner, Ö. (2022). *Hipertansiyonlu Hastaların Yakınlarına Verilen Eğitimin Hastaların İlaç Ve Tedavi Uyumuna Etkisi*; Yayınlanmamış Doktora Tezi; İnönü Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü; Malatya.
- Jain A. K., Singh D., Dubey K., Maurya R. and Pandey A. K. (2018). *Chromosomal aberrations*. In A. Kumar, V. N. Dobrovolsky, A. Dhawan and R. Shanker (Eds.), *Mutagenicity: Assays and Applications*. London: Academic Press, 69-92.
- Jain, A.K. and Andsorbhoy, R.K. (1988). Cytogenetical studies on the effects of some chlorinated pesticides III. *Concluding Remarks. Cytologia*, 53, 427-436.
- Jangala, M., Manche, S., Mudigonda, S., Raja, M. K., Sangras, B. R. and Konagurtu, V. (2012). Evaluation of Cytotoxicity of Atenolol in *Allium cepa* L. *International Journal of Toxicology and Applied Pharmacology*, 2(2), 18-24.
- Karakovan, A. ve Eti Aslan, F. (Editörler). (2014). *Dahili ve Cerrahi Hastalıklarda Bakım*. Ankara: Akademisyen Tıp Kitap Evi.
- Kartal, A. (2015). Benzil Benzoatın Sitotoksitesinin İn Vitro Koşullar Altında Araştırılması. (Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi, 2015).30-38.
- Kathpalia, R., Bhardwaj, K., Biswas, L., & Verma, A. K. (2022) Cyto-Genotoxic Evaluation of Frequently Added Food Preservatives on the Root Meristem Cells of *Allium Cepa*.
- Kersten, B., Kasper, P., Brendler-Schwaab, S. Y. and Müller, L. (2002). Use of the Photomicronucleus Assay in Chinese Hamster V79 Cells to Study Photochemical Genotoxicity. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 519 (1-2), 49-66.
- Kuo, B., Beal, M. A., Wills, J. W., White, P. A., Marchetti, F., Nong, A. and et all. (2022). Comprehensive interpretation of *in vitro* micronucleus test results for 292 chemicals: from hazard identification to risk assessment application. *Archives of toxicology*, 96(7), 2067–2085.
- Kılıç, T. Ve Üstü, Y. (2012). Hipertansiyon İçin Birinci Basamak Kullanımına Yönelik Kanıta Dayalı Bir Rehber Çalışması. *Ankara Medical Journal*, 12(4), 205-213.
- Kılıçkap, M., Barçın, C., Göksülük, H., Karaaslan, D., Özer, N., Kayıkçıoğlu, M. et all. (2018). Data on prevalence of hypertension and blood pressure in Turkey: Systematic review, meta-analysis and meta-regression of epidemiological studies on cardiovascular risk factors. *Türk Kardiyoloji Dernegi Arsivi*. 46(7),525-545.
- Kim, C.S., Han, K.D., Choi, H.S., Bae, E.H., Ma, S.K. and Kim, S.W. (2020). Association of hypertension and blood pressure with kidney cancer risk: a nationwide population-based cohort study. *Hypertension*, 75(6), 1439-1446.

- Kim, J. W., Ahn, I., Ryu, S.H., Jeon, H.R., Sang, B., Lee, S.B. et al. (2013). Mutagenic Assessment of Olmesartan Cilxetil by Bacterial Mutation Assay. *Toxicol Research*, 29(3), 217–219.
- Knudsen, L. E. and Hansen, Å. M. (2007). Biomarkers of intermediate endpoints in environmental and occupational health. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 210(3-4), 461-470.
- Kocher, N.J., Rjepaj, C., Robyak, H., Lehman, E. and Raman, J.D. (2017). Hypertension is the primary component of metabolic syndrome associated with pathologic features of kidney cancer. *World Journal of Urology*, 35(1), 67-72.
- Kontaş, S. (2011). Kardeş kromatid değişimi testi ve kullanım alanları. *Türk Bilim Araştırma Vakfı Bilim Dergisi*, 4(4), 226-234.
- Köse, E., Doğan, B.G. ve Ekerbiçer, H.Ç. (2018). Sakarya Üniversitesi Tıp Fakültesi Dönem I, II, III Öğrencilerinde Sağlıklı Yaşam Davranışları ve İlişkili Faktörlerin İncelenmesi. *Sakarya Tıp Dergisi*, 8(1), 20-29.
- Kut, A., Sözen, F. ve Aydemir, S. (2015). Bir üniversite hastanesi örnekleminde hastaların periyodik sağlık muayenesi hakkındaki farkındalıkları. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 19(3), 112-121.
- Law, M., Morris, J. and Wald, N. (2009). Use of blood pressure lowering drugs in the prevention of cardiovascular disease: meta-analysis of 147 randomised trials in the context of expectations from prospective epidemiological studies. *BMJ Clinical Research*, 338(7705), b1665.
- Leao, M.F. de M. (2016). *Avaliação genotóxica e mutagênica de anti-hipertensivos distribuídos pela farmácia popular em células do sistema imunológico humano*. Tese de mestrado. Universidade Federal do Pampa, Ciências da farmácia, Pampa-Uruguaiana.
- Lerda, D., Biaggi-Bistoni, M., Peralta, N., Ychari, S., Vazquez, M. and Bosio, G. (2005). Fumonisin in Foods from Cordoba (Argentina), Presence and Genotoxicity. *Food and Chemical Toxicology*, 43, 691–698.
- Liu, Q., Quan, H., Chen, G., Qian, H. and Khan, N. (2014). Antihypertensive Medication Adherence and Mortality According to Ethnicity: A Cohort Study. *Canadian Journal of Cardiology*, 30, 925-931.
- Lonescu, M. E., Ciocirlan, M., Becheanu, G., Nicolaie, T., Ditescu, C., Teiusanu, A. G. and et al. (2011). Nuclear Division Index may Predict Neoplastic Colorectal Lesions. *Maedica*, 6(3), 173-178.
- Luzhna, L., Kathiria, P. and Kovalchuk, O. (2013). Micronuclei in genotoxicity assessment: from genetics to epigenetics and beyond. *Frontiers in Genetics*, 4(131), 1-17.
- Madia, F., Worth, A., Whelan, M. and Corvi, R. (2019). Carcinogenicity assessment: Addressing the challenges of cancer and chemicals in the environment. *Environment*

- International*, 128, 417–429.
- Madrigal-Bujaidar, E., Garcia, Y.C. and Alvarez-Gonzales, I. (2010). Chromosomal aberrations induced by imipramine and desipramine in Mouse. *Human and Experimental Toxicology*, 29(4), 297-302.
- Maggioni, A.P. and Latini, R. (2002). The angiotensin-receptor blockers: from antihypertensives to cardiovascular all-round medications in 10 years? *Blood pressure*, 11(6), 328-38.
- Maggioni, A.P. (2006). Efficacy of Angiotensin receptor blockers in cardiovascular disease. *Cardiovascular drugs and therapy*, 20(4), 295-308.
- Mateuca, R., Lombaert, N., Aka, P.V., Decordier, I. and Kirsch-Volders, M. (2006). Chromosomal changes: induction, detection methods and applicability in human biomonitoring. *Biochimie*, 88(11), 1515-1531.
- McCann, J., Choi, E., Yamasaki, E. and Ames, B.N. (1975). Detection of Carcinogens as Mutagens in the Salmonella/Microsome Test: Assay of 300 Chemicals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 72(12), 5135–5139.
- McPherson, K. (2003). Commentary: Antidepressants and breast cancer risk. *International Journal of Epidemiology*, 32, 966–967.
- Mendonça L.M., Dos Santos G.C., Antonucci, G.A., Dos Santos A.C., Bianchi, M.D.L.P. and Antunes, L.M.G. (2009). Evaluation of the cytotoxicity and genotoxicity of curcumin in PC12 cells. *Mutation Research*, 675, 29-34.
- Mišík, M., Nersesyan, A., Ferk, F., Holzmann, K., Krupitza, G., Morales, D. H. and et all. (2022). Search for the optimal genotoxicity assay for routine testing of chemicals: Sensitivity and specificity of conventional and new test systems. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 881, 503524.
- Mondal, S. C., Tripathi, D. N., Vikram, A., Ramarao, P. and Jena, G. B. (2012). Furosemideinduced Genotoxicity and Cytotoxicity in the Hepatocytes, But Weak Genotoxicity in the Bone Marrow Cells of Mice. *Fundamental & Clinical Pharmacology*, 26, 383–392.
- Moynahan, M. E., and Jasin, M. (2010). Mitotic homologous recombination maintains genomic stability and suppresses tumorigenesis. *Nature Reviews Molecular Cell Biology*, 11(3), 196-207.
- Mutluay, R. (2017). Hipertansiyon Tedavisinde Yaşam Tarzı Değişiklikleri. *Türkiye Klinikleri Dergisi Nefroloji- Özel Konular*, 10 (1) , 27-34.
- Nagel, N., Schweitzer, H., Urbach, H., Heyse, W., Müller, B. and Berchtold, H. (2001). Ramipril. *Acta Crystallographica Section E: Structure Reports Online*, 57(5), 463-465.

- Natarajan, A. T., and Boei, J. J. W. A. (2003). Formation of chromosome aberrations: insights from FISH. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 544(2), 299-304.
- Nawata, K., Sugano, H. and Kimura, M. (2019). An analysis of the effects of blood pressure and antihypertensive drugs on heart disease. *Health*, 11(6), 792-816.
- Novak, M., Zegura, B., Modic, B., Heath, E. and Filipic, M. (2017). Cytotoxicity and genotoxicity of anticancer drug residues and their mixtures in experimental model with zebrafish liver cells. *Science of the Total Environment*, 601, 293-300.
- Oliveira-Paula, G.H., Pereira, S.C., TanusSantos, J.E. and Lacchini R. (2019). Pharmacogenomics And Hypertension: Current Insights. *Pharmacogenomics and Personalized Medicine*, 12, 341-359.
- Olowofela, A. O., and Isah, A. O. (2017). A profile of adverse effects of antihypertensive medicines in a tertiary care clinic in Nigeria. *Annals of African medicine*, 16(3), 114–119.
- Onat, A., Can, G., Kaya, A., Keskin, M., Hayroğlu, M.I. and Yüksel H. (2017). Algorithm for predicting CHD death risk in Turkish adults: Conventional factors contribute only moderately in women. *The Anatolian Journal of Cardiology*, 17(6), 436–444.
- Palus, J., Rydzynski, K., Dziubaltowska, E., Wyszynska, K., Natarajan, A.T. and Nilsson, R. (2003). Genotoxic effects of occupational exposure to lead and cadmium. *Mutation Research*, 540: 19–28.
- Paskalev, D., Kircheva, A. and Krivoshev, S. (2005). A centenary of auscultatory blood pressure measurement: a tribute to Nikolai Korotkoff. *Kidney and Blood Pressure Research*, 28(4), 259-263.
- Pedersen, M., Vinzents, P., Petersen, J.H., Kleinjans, J. C., Plas, G., Kirsch-Volders, M. and et al. (2006). Cytogenetic effects in children and mothers exposed to air pollution assessed by the frequency of micronuclei and fluorescence in situ hybridization (FISH): a family pilot study in the Czech Republic. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 608(2), 112-120.
- Proudlock, R. (2016). *A Practical Guide to Genetic Toxicology Testing*. In R. Proudlock (Ed.), *Genetic Toxicology Testing, A Laboratory Manual*. North Carolina: Academic Press.
- Regulska, K., Matera-Witkiewicz, A., Mikołajczyk, A. and Stanisław, B.J. (2023) The Degradation Product of Ramipril Is Potentially Carcinogenic, Genotoxic and Mutagenic. *Appl. Sci.* 2023, 13, 2358. <https://doi.org/10.3390/app13042358>
- Rezende, M.D.R.M., de Souza Velozo-Sá, V., Vilanova-Costa, C.A.S.T. and Silveira-Lacerda, E. (2020). Cytotoxic, clastogenic and genotoxic effects of cis-tetramine (oxalato) ruthenium (III) dithionate on human peripheral blood lymphocytes. *Acta Scientiarum: Biological Sciences*, 42, e50517-e50517.

- Riss, T.L. and Moravec, R.A. (2004). Use Of Multiple Assay Endpoints To Investigate The Effects Of Incubation Time, Dose Of Toxin and Plating Density In Cell-Based Cytotoxicity Assays. *Assay And Drug Development Technologies*, 2, 1, 51- 62.
- Robinson, M.K., Cohen, C., Fraissinette, Ade, B., Ponec, M., Whittle, E. and et all. (2002). Non-animal Testing Strategies for Assessment of the Skin Corrosion and Skin Irritation Potential of Ingredients and Finished Products. *Food and Chemical Toxicology*, 40(5), 573-92.
- Rodríguez-Mercado, J. J., Mosqueda-Tapia, G. and Altamirano-Lozano, M. A. (2017). Genotoxicity assessment of human peripheral Lymphocytes induced by thallium (I) and thallium (III). *Toxicological & Environmental Chemistry*, 99(5–6), 987-998.
- Ronquist, G., Rodriguez, L. A. G., Ana Ruigomez, A., Johansson, S., Wallander, M. A., Frithz, G. and et all. (2004). Association Between Captopril, Other Antihypertensive Drugs and Risk of Prostate Cancer. *The Prostate*, 58, 50-56.
- Russo, A., Pacchierotti, F., Cimini, D., Ganem, N. J., Genescà, A., Natarajan, A. T. and et all. (2015). Genomic instability: Crossing pathways at the origin of structural and numerical chromosome changes. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 56(7), 563-580.
- Rysz, J., Franczyk, B., Rysz-Górczyńska, M. and Gluba-Brzózka, A. (2020). Pharmacogenomics of Hypertension Treatment. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(13), 4709.
- Safi Öz, Z. , Şahan Üstündağ, G. H. , Topuz Altuntaş, H. & Onak Kandemir, N. (2023). *Helicobacter pylori* ile Enfekte Çocukların Yanak Epiteli Döküntü Hücrelerinde Mikronükleer ve Binükleer Hücre Sıklığının Değerlendirilmesi. *Batı Karadeniz Tıp Dergisi*, 7 (1), 45-50. DOI: 10.29058/mjwbs.1205737
- Sağlık Bakanlığı Halk Sağlığı Genel Müdürlüğü. (2018). *Türkiye Böbrek Hastalıkları Önleme ve Kontrol Programı (2018-2023)*. Ankara: Artı6 Medya Tanıtım.
- Sarmehmetoğlu, A.C. ve Helvacı, A. (2014). Madde Bağımlılığı ve Kardiyovasküler Sistem. *Okmeydanı Tıp Dergisi*, 30 (Ek sayı 2), 99-103.
- Saygı, Ş., (2003). Deneysel Toksikolojide Toksisite Testleri ve Test Sonuçlarının Önemi. *Gülhane Tıp Dergisi*, 45(3), 291-298.
- Saygı, Ş., Deniz, G., Kutsal, O. and Vural, N. (1991). Chronic Effect of Cadmium on Kidney, Liver, Testes and Fertility of Male Rats. *Biological Trace Element Research*, 31(3), 209-214.
- Saygılı, Y. (2015). Bazı nanopartiküllerin (SiO₂, CuO, Fe₂O₃) *in vitro* periferik insan lenfositlerinde genotoksik etkileri. Yayınlanmış Doktora Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Sayran, K. S., Rawaa, M. A., Dian, J. S. and Asaad, A. A. (2021). Evaluation of cytogenetic damage induced by antihypertensive drug Amlodipine: *in vitro*. *Iraqi Journal of*

Pharmacy, 18(2), 1-9.

- Sedigh-Ardekani, M., Saadat, I. and Saadat, M. (2014). Evaluation of chromosomal aberrations induced by hydralazine in Chinese hamster ovary cells. *Egyptian Journal of Medical Human Genetics*, 15(4), 343-346.
- Sengul, S., Akpolat, T., Erdem, Y., Derici, U., Arici, M., Sindel, S. and et all. (2016). Changes in hypertension prevalence, awareness, treatment, and control rates in Turkey from 2003 to 2012. *Journal of Hypertension*, 34(6), 1208–1217.
- Sicicska, P., Mokra, K., Wozniak, K., Michałowicz, J. and Bukowska, B. (2021). Genotoxic risk assessment and mechanism of DNA damage induced by phthalates and their metabolites in human peripheral blood mononuclear cells. *Scientific Reports*, 11(1), 1-13.
- Singh, S., Khanna, V. K. and Pant, A. B. (2018). *Development of In Vitro Toxicology: A Historic Story*. London: Academic Press.
- Soltani, F., Mosaffa, F., Iranshahi, M., Karimi, G., Malekaneh, M., Haghighi, F. and et all. (2009). Evaluation of Antigenotoxicity Effects of Umbelliprenin on Human Peripheral Lymphocytes Exposed to Oxidative Stres. *Cell Biological Toxicology*, 25, 291–296.
- Sosedova, L.M., Vokina, V.A., Kapustina, E.A. and Bogomolova, E.S. (2020). Evaluation of genotoxicity of perchlozone, antituberculous drug. *Bulletin of Experimental Biology and Medicine*, 169(1), 48-52.
- Sözmen, K., Ergör, G. ve Ünal, B. (2015). Hipertansiyon sıklığı, farkındalığı, tedavi alma ve kan basıncı kontrolünü etkileyen etmenler. *Dicle Tıp Dergisi*, 42(2), 199-207.
- Steingart, A., Cotterchio, M., Kreiger, N. and Sloan, M. (2003). Antidepressant medication use and breast cancer risk: a case-control study. *International Journal of Epidemiology*, 32, 961–966.
- Stoilković, Z.Ž., Ivić, M.L.A., Petrović, S.D., Mijin, D.Ž., Stevanovic, S., Lačnjevac, U. and et all. (2012). Voltammetric and square-wave anodic stripping determination of Amlodipine besylate on gold electrode. *International Journal of Electrochemical Science*, 7, 2288-2303.
- Sundar, R., Jain, R., M. and Valani, D. (2018). *Mutagenicity Testing: Regulatory Guidelines and Current Needs*. In A. Kumar, V. N. Dobrovolsky, A. Dhawan and R. Shanker (Eds.), *Mutagenicity: Assays and Applications*. London: Academic Press.
- Suspiro, A. and Prista, J. (2011). Biomarkers of occupational exposure do anticancer agents: a minireview. *Toxicology Letters*, 207(1), 42-52.
- Sürme, Y. (2019). Stres, stresle ilişkili hastalıklar ve stres yönetimi. *Uluslararası Sosyal Araştırmalar Dergisi*, 12(64), 525-529.
- Şahin, B. and İlgün, G. (2022). Risk factors of deaths related to cardiovascular diseases in World Health Organization (WHO) member countries. *Health and Social Care in the*

- Community*, 30(1), 73-80.
- Şahin, E.M. ve Akay, A. (2017). Hipertansiyon ve Beslenme. *Türkiye Klinikleri Journal Fam Med-Special Topics*, 8(6), 474-481.
- Şahin, Z.A. ve Biçer, N. (2015). Hipertansiyon hastalarının sağlıklı yaşam biçimi davranışları. *MN Kardiyoloji Dergisi*, 22 (4), 80-85.
- Şekeroğlu, V., Aksoy, M. and Atlı Şekeroğlu, Z. (2017). Cytogenetic Alterations In Human Lymphocyte Cultures Following Exposure To Ofloxacin. *Drug And Chemical Toxicology*, 40(2), 140-145.
- Tekin, G. (2016). Sistemik Hipertansiyonun Güncel Tanı ve Tedavisi. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 25(2), 163-180.
- Telez, M., Martinez, B., Criado, B., Lostao, C. M., Penagarikano, O., Ortega, B. and et all. (2000). *In vitro and In vivo* Evaluation of the Antihypertensive Drug Atenolol in Cultured Human Lymphocytes Effects of Long Term Therapy. *Mutagenesis*, 15(3), 195-202.
- Telez, M., Martinez, B., Criado, B., Ortega, B., Penagarikano, O., Flores, P. and et all. (2001). Evaluation of the Cytogenetic Damage Induced by the Antihypertensive Drug Nimodipine in Human Lymphocytes. *Mutagenesis*, 16, 345-351.
- Telez, M., Ortiz-Lastra, E., Gonzalez, A. J., Flores, P., Huerta, I., Ramírez, J. M. and et all. (2010). Assessment of the Genotoxicity of Atenolol in Human Peripheral Blood Lymphocytes: Correlation Between Chromosomal Fragility and Content of Micronuclei. *Mutation Research*, 695, 46-54.
- Thomas, P., Holland, N., Bolognesi, C., Kirsch-Volders, M., Bonassi, S., Zeiger, E., Knasmueller, S. and Fenech, M. (2009). Buccal micronucleus cytome assay. *Nature Protocols*, 4(6), 825-837.
- Thomopoulos, C., Parati, G. and Zanchetti, A. (2017). Effects of blood-pressure-lowering treatment on outcome incidence. 12. Effects in individuals with high-normal and normal blood pressure: overview and meta-analyses of randomized trials. *Journal of hypertension*, 35(11), 2150-2160.
- Thukral, K. and Gandhi, G. (2012). Genomic Instability and Lipid Peroxidation in Patients With Treated Essential Hypertension. *Life Science*, 2(1), 67-75.
- Timoroğlu, İ., Yüzbaşıoğlu, D., Ünal, F., Yılmaz, S., Aksoy, H. and Çelik, M. (2014). Assessment of the genotoxic effects of organophosphorus insecticides phorate and trichlorfon in human lymphocytes. *Environmental Toxicology*, 29(5), 577-587.
- Topal, N. P. (2010), Atrial fibrilasyonu olan hastalarda anjiyotensin dönüştürücü enzim ve anjiyotensinojen gen polimorfizm sıklıkları, Yayımlanmış Doktora Tezi; Marmara Üniversitesi Tıp Fakültesi Kardiyoloji Anabilim Dalı , İstanbul.
- Tör, V. ve Tosun, N. (2020). Hipertansif hastaların ilaç tedavisine uyumları ve hastalıkları

- konusundaki bilgi düzeylerinin incelenmesi. *Zeugma Sağlık Araştırmaları Dergisi*, 2020, 2(3), 114-123.
- Tungare, S and Paranjpe, A.G.(2020). Drug Induced Gingival Overgrowth. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK538518/>
- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği [TEMED], (2018). *Hipertansiyon Tanı ve Tedavi Kılavuzu*. Ankara: Bayt Yayınevi.
- Türkiye Endokrinoloji ve Metabolizma Derneği [TEMED], (2019). *Hipertansiyon Tanı ve Tedavi Kılavuzu*. Ankara: Bayt Yayınevi.
- Uğur, K. (2018). Obezite ve Endokrin Sistem. *Fırat Tıp Dergisi*, 23(Özel Sayı), 14-17.
- Uluşu, F. & Darıcı, C. (2023). The influence of tannins purified from Eastern Mediterranean Region plants (*Pinus brutia* Ten. and *Quercus coccifera* L.) on carbon mineralization: Antimicrobial and antimutagenic evaluation. *Anatolian Journal of Botany*, 7 (1), 60-69.
- Unal F., Korkmaz F.D., Suludere Z., Erol O. and Yuzbasioglu D. (2021). Genotoxicity of two nanoparticles: titanium dioxide and zinc oxide. *Gazi University Journal of Science*, 34(4), 948 - 958.
- Uysal, H.B., Yaşar, M.B. ve Sönmez, H.M. (2016). Aydın'da sigara içiminin ve hipertansiyonla birlikteliğinin son 20 yıldaki değişimi. *Türkiye Aile Hekimliği Dergisi*, 20 (2), 54-63.
- Ünal, F., Taner, G., Yüzbaşıoğlu, D. and Yılmaz, S. (2013). Antigenotoxic effect of lipoic acid against mitomycin-C in human lymphocyte cultures. *Cytotechnology*, 65(4), 553-565.
- Ünal, F., Korkmaz, F.D., Suludere, Z., Erol, O ve Yuzbasioglu D. (2021). Genotoxicity of two nanoparticles: titanium dioxide and zinc oxide. *Gazi Univ. J. Sci.* 34, 1-11. <https://doi.org/10.35378/gujs.826911>.
- Ünal, F. (Editor), & Yüzbaşıoğlu, D. (Editor), (2022). Genetic Toxicology. Ünal, Fatma; Yüzbaşıoğlu, Deniz (Ed.). Ankara: Nobel Yayın Dağıtım.
- Üstü, Y. ve Uğurlu, M. (2018). Hipertansiyona pratik yaklaşım. *Ankara Medical Journal*, 18(3): 447-453.
- Valenzuela, P.L., Carrera-Bastos, P., Gálvez, B.G., Ruiz-Hurtado, G., Ordovas, J.M., Ruilope, L.M. and et all. (2021). Lifestyle interventions for the prevention and treatment of hypertension. *Nature Reviews Cardiology*, 18 (4), 251-275.
- Van't Hof J. (1968). The action of IAA and kinetin on the mitotic cycle of proliferative and stationary phase excised root meristems. *Experimental cell research*, 51(1), 167–176.

- Villarini, M., Gianfredi, V., Levorato, S., Vannini, S., Salvatori, T. and Moretti, M. (2016). Occupational exposure to cytostatic/antineoplastic drugs and cytogenetic damage measured using the lymphocyte cytokinesis-block micronucleus assay: A systematic review of the literature and meta-analysis. *Mutation Research/Reviews in Mutation Research*, 770(pt A), 35-45.
- Villarini, M., Levorato, S., Salvatori, T., Ceretti E., Bonetta S. and Carduc A. (2018). Buccal micronucleus cytome assay in primary school children: a descriptive analysis of the MAPEC_LIFE multicenter cohort study. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 221(6), 883–892.
- Vural, N. (1996). *Toksikoloji*. Ankara: Ankara Üniversitesi Basımevi.
- Weber, M.A. (2002). The angiotensin II receptor blockers: opportunities across the spectrum of cardiovascular disease. *Reviews in cardiovascular medicine*, 3(4), 183-91.
- Weber, M.A., Schiffrin, E.L., White, W.B., Mann, S., Lindholm, L.H., Kenerson, J.G. and et all. (2014). Clinical practice guidelines for the management of hypertension in the community: a statement by the American Society of Hypertension and the International Society of Hypertension. *Journal of hypertension*, 32(1), 3-15.
- Williams, B., Mancia, G., Spiering, W., Agabiti Rosei, E., Azizi, M., Burnier, M. and et all. (2018). 2018 ESC/ESH guidelines for the management of arterial hypertension: the task force for the management of arterial hypertension of the european society of cardiology (esc) and the european society of hypertension (ESH). *European heart journal*, 39(33), 3021-3104.
- Yalçın, B.M. (2017). Strese Bağlı Hipertansiyon ve Davranışçı Yaklaşım Tedavileri. *Türkiye Klinikleri Dergisi Aile Hekimliği-Özel Konular*, 8(6), 465-473.
- Yavuz, E., Girici, M., Özden, F., Baran, Ş., Duran, H., Yılmaz, E. and et all. (2017). Namık Kemal Üniversitesi Tıp Fakültesi Öğrenci ve Çalışanlarında Hipertansiyon Farkındalığı. *Namık Kemal Tıp Dergisi*, 5(3), 118-121.
- Yıldırım, N. (2021). Hipertansiyon yönetiminde hemşirenin rolü. *Ebelik ve Sağlık Bilimleri Dergisi*, 4(3), 305-315.
- Yılmaz, S., Ünal, F., Yüzbaşıoğlu, D. and Gönenç, İ. M. (2015). Induction of sister chromatid exchanges and cell division delays by clomiphene citrate in human lymphocytes. *Human and Experimental Toxicology*, 34(3), 284-288.
- Yüzbaşıoğlu, D., Çelik, M., Yılmaz, S., Ünal, F. and Aksoy, H.(2006). Clastogenicity of the fungicide afugan in cultured human lymphocytes. *Mutation Research*, 604(1-2), 53-59.
- Yüzbaşıoğlu, D., Engüzel-Alperen, C. and Ünal, F. (2018). Investigation of *in vitro* genotoxic effects of an anti-diabetic drug sitagliptin. *Food and Chemical Toxicology*, 112, 245-241.
- Yüzbaşıoğlu, D., Yılmaz, E. A. ve Ünal, F. (2016). Antidepresan ilaçlar ve genotoksisite.

Türk Bilim Araştırma Vakfı Bilim Dergisi, 9(1), 17-28.

Yüzbaşıoğlu, D., Zengin, N. ve Ünal, F. (2014). Gıda koruyucuları ve genotoksisite testleri. *Gıda/the Journal of Food*, 39(3), 179-186.

Zeiger, E. (2004). History and rationale of genetic toxicology testing: an impersonal, and sometimes personal. *Environ Mol Mutagen*, 44(5), 363-371.

Zhao, J., Wu, H.L., Niu, J.F., Yu, Y.J., Yu, L.L., Kang, C. and et all. (2012). Chemometric Resolution of Coeluting Peaks of Eleven Antihypertensives from Multiple Classes in High Performance Liquid Chromatography: A Comprehensive Research in Human Serum, Health Product and Chinese Patent Medicine Samples. *Journal of Chromatography*, 1(902), 96-107.

Zoric, N., Kopjar, N., Rodriguez, J.V., Tomic, S. and Kosalec, I. (2021). Protective effects of olive oil phenolics oleuropein and hydroxytyrosol against hydrogen peroxide-induced DNA damage in human peripheral lymphocytes. *Acta Pharmaceutica*, 71(1), 131-141.



ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Öznur GÜNAYDIN

Tebliğler

Günaydın, Ö. and Avuloğlu-Yılmaz, E. (2022). Antihipertansif ilaç etken maddesi olan Amlodipine'nin genotoksik etkilerinin kromozomal anormallik testi ile incelenmesi. *5th International Eurasian Conference on Biological and Chemical Sciences*, Ankara, Turkey, 23-25 November.

