



**T.C.
AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

**ANALZEJİK İLAÇ ETKEN MADDELERİ OLAN PİROKSİKAM VE
TENOKSİKAM'IN GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

YÜKSEK LİSANS TEZİ

HÜMEYRA GÜL

HAZİRAN

HAZİRAN 2023	BİYOLOJİ ANABİLİM DALI	HÜMEYRA GÜL
--------------	------------------------	-------------

**ANALZEJİK İLAÇ ETKEN MADDELERİ OLAN PİROKSİKAM VE
TENOKSİKAM'IN GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI**

Hümeyra GÜL

**YÜKSEK LİSANS TEZİ
BİYOLOJİ ANABİLİM DALI**

Danışman

Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ

**AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ**

HAZİRAN 2023

Yüksek Lisans Tezi Kabul ve Onay Sayfası

Hümeýra GÜL tarafından hazırlanan “Analzejik İlaç Etken Maddeleri Olan Piroksikam Ve Tenoksikam’ın Genotoksik Etkilerinin Araştırılması” adlı tez çalışması aşağıdaki jüri tarafından OY BİRLİĞİ ile Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Biyoloji Anabilim Dalında YÜKSEK LİSANS TEZİ olarak kabul edilmiştir.

Danışman: Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Başkan : Prof. Dr. Tuba YILDIRIM

Biyoloji Anabilim Dalı, Amasya Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Üye : Doç. Dr. Sevgi MARAKLI

Moleküler Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Yıldız Teknik Üniversitesi

Bu tezin, kapsam ve kalite olarak Yüksek Lisans Tezi olduğunu onaylıyorum

Tez Savunma Tarihi: 09/06/2023

Jüri tarafından kabul edilen bu tezin Yüksek Lisans Tezi olması için gerekli şartları yerine getirdiğini onaylıyorum.

.....

Doç. Dr. Ümit YILDIRIM

Fen Bilimleri Enstitüsü Müdürü

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.

Hümeysra GÜL

09.06.2023

ANALJEZİK İLAÇ ETKEN MADDELERİ OLAN PİROKSİKAM VE TENOKSİKAM'IN GENOTOKSİK ETKİLERİNİN ARAŞTIRILMASI

(Yüksek Lisans Tezi)

Hümeysra GÜL

AMASYA ÜNİVERSİTESİ
FEN BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ
HAZİRAN 2023

ÖZET

Analjezikler dünyada en yaygın kullanılan ilaç gruplarından biridir. Yapılan araştırmalarda, bazı analjezik ilaçların genotoksik ve karsinojenik etkileri tespit edildiğinden beri söz konusu etkilerini inceleyen çalışmalar artmıştır. Bu çalışmada analjezik ilaç etken maddeleri olan Tenoksikam'ın ve Piroksikam'ın genotoksik etkileri *in-vitro* insan periferik lenfositlerinde kromozomal anormallik (KA) ve mikronükleus (MN) testleri ile incelenmiştir. Ek olarak mitotik indeks (Mİ) ve nükleer bölünme indeksi (NBİ) değerleri de belirlenmiştir. Sonuçlar Z testi ile incelenmiştir. Kontrol konsantrasyonlarına kıyasla önemli değişiklik gösteren uygulama grupları için konsantrasyon-etki ilişkisini belirlemek amacıyla SPSS versiyon 25.0 bilgisayar programı ile regresyon analizi yapılmıştır. Sonuçta Piroksikam muamelesinin hem 24 hem de 48 saatlik KA uygulamalarında kontrole göre herhangi bir konsantrasyonda anlamlılık gözlenmemiştir. MN testi incelendiğinde 48 saatlik maruziyetin 0,94 ($p<0,01$); 1,88 ($p<0,01$) ve 3,75 $\mu\text{g/mL}$ ($p<0,001$) konsantrasyonlarda kontrole göre anlamlı artış gözlenmiştir ($r=0,96$). Mitotik indeks (Mİ) 24 ve 48 saatlik uygulamalarında 1,88 ve 3,75 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarda hem kontrole (sırasıyla $p<0,01$, $p<0,001$) hem de çözücü kontrole (sırasıyla $p<0,05$, $p<0,001$) göre anlamlı oranda düşmüştür. Bu düşüşler konsantrasyona bağlı değildir (24 saat için $r=-0,14$, 48 saat için $r=-0,24$). Tenoksikam'ın 24 saatlik KA uygulamasının kontrole göre en yüksek konsantrasyonda (10 $\mu\text{g/mL}$) ($p<0,05$) istatistiksel olarak arttığı görülmektedir ($r=0,80$). Buna karşın 48 saatlik KA uygulamasında herhangi bir toksik etki gözlenmemiştir. MN testi 48 saatlik maruziyetin en yüksek konsantrasyon olan 10 $\mu\text{g/mL}$ ($p<0,01$) hariç herhangi bir konsantrasyonda toksik bir etki oluşturmadığı sonucuna varılmıştır ($r=0,95$). Mitotik indeks (Mİ) 1,25; 2,5; 5 ve 10 $\mu\text{g/mL}$ konsantrasyonlarında anlamlı düşüş göstermiştir (Sırasıyla $p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$, $p<0,001$). Bu düşüşler konsantrasyona bağlı değildir (24 saat için $r=-0,31$, 48 saat için $r=-0,42$). Nükleer bölünme indeksi (NBİ) sonuçları her iki etken madde için de değişmemiştir. Sonuçta, her iki etken maddenin de sadece yüksek konsantrasyonlarda genotoksik etki gösterebileceği tespit edilmiştir. Bu tez çalışması hem Piroksikam hem de Tenoksikam için daha önce *in vitro* insan periferik lenfositlerinde çalışma bulunmaması nedeniyle öncü niteliğindedir. Bu sonuçların farklı hücre grupları ve *in vivo* testlerle desteklenmesi gerekmektedir.

Sayfa Adedi :72

Anahtar Kelimeler :Piroksikam, Tenoksikam, Kromozomal anormallik, Mikronükleus, Genotoksisite

Danışman :Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ

INVESTIGATION OF THE GENOTOXIC EFFECTS OF ANALGESIC DRUG
ACTUAL INGREDIENTS, PIROXICAM AND TENOXICAM
(M. Sc. Thesis)

Hümeýra GÜL

AMASYA UNIVERSITY
GRADUATE SCHOOL OF NATURAL AND APPLIED SCIENCES
JUNE 2023

ABSTRACT

Analgesics are one of the most widely used groups of drugs in the world. Since the genotoxic and carcinogenic effects of some analgesic drugs have been identified, studies examining these effects have increased. In this study, the genotoxic effects of the analgesic drug active ingredients Tenoxicam and Piroxicam were examined by chromosomal aberration (CA) and micronucleus (MN) assays in human peripheral lymphocytes *in vitro*. In addition, mitotic index (MI) and nuclear division index (NDI) values were also determined. The results were examined by Z test. Regression analysis was performed with SPSS version 25.0 computer program to determine the concentration-effect relationship for application groups with significant variation compared to control concentrations. As a result, no significance was observed at any concentration of Piroxicam treatment compared to control in both 24- and 48-hour PA exposures. When the MN test was examined, the 48-hour exposure was 0,94 ($p<0,01$); concentrations of 1,88 ($p<0,01$) and 3,75 $\mu\text{g/mL}$ ($p<0,001$) were significantly increased compared to the control ($r=0,96$). The mitotic index (MI) at concentrations of 1,88 and 3,75 $\mu\text{g/mL}$ at 24 and 48 hours was significantly reduced compared to both the control ($p<0,01$, $p<0,001$) and solvent control ($p<0,05$, $p<0,001$, respectively). These decreases are not dependent on concentration ($r=-0,14$ for 24 hours, $r=-0,24$ for 48 hours). It was seen that the 24 hour treatment of Tenoxicam statistically increased at the highest concentration (10 $\mu\text{g/mL}$) ($p<0,05$) compared to the control ($r=0,80$). However, no toxic effects were observed in 48 hour CA treatment. The MN test concluded that 48-hour exposure did not produce a toxic effect at any concentration other than the highest concentration of 10 $\mu\text{g/mL}$ ($p<0,01$) ($r=0,95$). Mitotic index (MI) showed significant decreases at concentrations of 1,25; 2,5; 5 and 10 $\mu\text{g/mL}$ ($p<0,05$, $p<0,01$, $p<0,01$, $p<0,001$, respectively). These decreases are not dependent on concentration ($r=-0,31$ for 24 hours, $r=-0,42$ for 48 hours). Nuclear division index (NDI) results were unchanged for either active substance. As a result, it was found that both active substances can show genotoxic effects only at high concentrations. This work is pioneering for both Piroxicam and Tenoxicam, resulting from the lack of previous studies on human peripheral lymphocytes *in vitro*. These results need to be supported by different cell groups and *in vivo* tests.

Page Number :72

Key Words :Piroxicam, Tenoxicam, Chromosomal Aberration, Micronucleus,
Genotoxicity

Supervisor :Asst. Prof. Dr. Ece AVULOĞLU YILMAZ

ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR

Bu çalışmanın yürütülmesi sırasında desteğini esirgemeyen, her daim sabır gösteren, ilgiyle çalışmamı güzelleştiren, bilgi ve tecrübeleriyle çalışmamın her aşamasında beni yönlendiren sayın tez danışmanım Dr. Öğr. Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ'a, çalışmalarım süresince desteğini ve yardımlarını esirgemeyen sayın Doç. Dr. Sevgi MARAKLI'ya, çalışmalarına yardımlarından dolayı Pınar BAYER ALTUNKAYNAK, Öznur GÜNAYDIN ve Ebru EKER KARTAL'a ve Amasya Üniversitesi Merkezi Araştırma Laboratuvarının tüm akademik ve idari personeline teşekkürlerimi sunarım. Yoğun çalışmalarım sırasında bana hep destek olan ve her daim varlıklarıyla beni rahatlatan biricik annem Nuriye GÜL'e, çok sevgili babam Ömer GÜL'e beni der daim motive eden kardeşlerim Tuğba GÜL'e ve Mehmet Hamza GÜL'e ayrıca her zaman yanımda olan ve asla pes etmeme izin vermeyen eşim Ahmet GÜL'e her şey için çok teşekkür ediyorum.

İÇİNDEKİLER

	Sayfa
ÖZET	iv
ABSTRACT.....	v
ÖNSÖZ ve TEŞEKKÜR.....	vi
İÇİNDEKİLER.....	vii
ÇİZELGELER DİZİNİ.....	viii
ŞEKİLLER DİZİNİ	x
RESİM DİZİNİ	xi
SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ.....	xii
1.GİRİŞ	1
2. GENEL BİLGİLER	4
2.1. Ağrı ve Ağrı Tipleri	4
2.2. Analjezik İlaç Grupları.....	5
2.2.1. Opioidler	6
2.2.2. Piralazonlar	7
2.2.3. Kannabooidler	7
2.2.4. Anilidler.....	8
2.2.5. Non-steroid antiinflamatuvar ilaçlar (NSAİİ).....	9
2.3. Genotoksisite ve Genotoksisite Testleri.....	13
2.3.1. Kromozom anormallikleri testi (KA)	15
2.3.2. Kardeş kromatit değişimi testi (KKD).....	16
2.3.3. Mikronükleus testi (MN) (sitokinezi bloklanmış mikronükleus testi (cytokinesis-blocked micronucleus assay = CBMN Assay))	17
2.3.4. Ames testi	18
2.3.5. Comet testi	18

Sayfa

2.3.6. Analjezik ilaç etken maddeleri ile yapılmış genotoksisite çalışmaları...	19
3. MATERYAL METOT.....	21
3.1. Materyal	21
3.1.1. Test materyali	21
3.2. Metot	22
3.2.1. Çalışmada kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi.....	22
3.2.2. Kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kromozomal anormallik (KA) testi.....	23
3.2.3. Kültüre edilmiş insan periferik lenfositlerinde mikronükleus (MN) testi.....	25
3.2.4. İstatistiksel analizler	27
4. BULGULAR.....	28
4.1. Piroksikam Uygulaması	28
4.1.1. Kromozomal anormallik (KA) testi bulguları	28
4.1.2. Mikronükleus (MN) testi bulguları.....	32
4.2. Tenoksikam Uygulaması.....	36
4.2.1. Mikronükleus (MN) uygulaması	39
5. TARTIŞMA	42
6. SONUÇ VE ÖNERİLER.....	54
KAYNAKLAR	57
EKLER.....	70
EK-1.Amasya Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kurul Karar Formu	71
ÖZGEÇMİŞ	72

ÇİZELGELER DİZİNİ

Çizelge	Sayfa
Çizelge 2.1. Analjezik İlaç Grupları	5
Çizelge 2.2. Opioidlerin Sınıflandırılması	6
Çizelge 2.3. Non-Steroid Anti-İnflamatuvar İlaç (NSAİİ) Sınıflandırılması.	10
Çizelge 3.1. Piroksikam ve Tenoksikam için LD50 dozları.	23
Çizelge 4.1. Piroksikam uygulaması ile insan periferel lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler ve frekansları	30
Çizelge 4.2. Piroksikam uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri	32
Çizelge 4.3. Piroksikam'ın insan lenfositlerinde mikronükleus frekansları ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi.....	33
Çizelge 4.4. Tenoksikam uygulaması ile insan periferel lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler ve frekansları	37
Çizelge 4.5. Tenoksikam uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri	38
Çizelge 4.6. Tenoksikam'ın insan lenfositlerinde mikronükleus frekansları ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi.....	41

ŞEKİLLER DİZİNİ

Şekil	Sayfa
Şekil 3.1. Piroksikam'ın yapısal formülü.....	21
Şekil 3.2. Tenoksikam'ın yapısal formülü.....	23
Şekil 4.1. Piroksikam 24 saatlik muamelesinin insan lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi.....	31
Şekil 4.2. Piroksikam 24 saatlik muamelesinin insan periferal lenfositlerindeki hücre başına düşen anormallik frekansı üzerine etkisi.....	31
Şekil 4.3. Piroksikam 24 saat uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri.....	32
Şekil 4.4. Piroksikam ile 48saat muamele edilmiş insan lenfositlerindeki mikronükleus hücre frekansı.....	33
Şekil 4.5. Tenoksikam 24 saatlik muamelesinin insan lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi.....	37
Şekil 4.6. Tenoksikam 24 saatlik muamelesinin insan periferal lenfositlerindeki hücre başına düşen anormallik frekansı üzerine etkisi	36
Şekil 4.7. Tenoksikam 24 saatlik uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri.....	40
Şekil 4.8. Tenoksikam ile 48 saatlik muamele edilmiş insan lenfositlerindeki mikronükleus hücre frekansı.....	41

RESİM DİZİNİ

Resim	Sayfa
Resim 4.1. Piroksikam'ın 24 saatlik muamelesinde 1,88µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen kromatit kırığı.....	34
Resim 4.2. Piroksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 3,75µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen disentrik kromozom.	34
Resim 4.3. Piroksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 3,75µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen fragment.	35
Resim 4.4. Piroksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 0,94µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen kromatit değişimi.	35
Resim 4.5. Tenoksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 10µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen kromozom kırığı.	41

SİMGELER ve KISALTMALAR DİZİNİ

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

Simgeler

Açıklama

µg/ml	Mikrogram/Mililitre
mg/kg	Miligram/Kilogram
mg/ml	Miligram/Mililitre
mg	Miligram
mm	Milimetre
mmHg	Milimetre Civa
M	Molarite

Kısaltmalar

Açıklama

BCS	Biyofarmasötik sınıflandırma
BrDU	Bromodeoksiüridin
KA	Kromozomal anormallik
CHMP	Avrupa ilaç ajansı insani ilaçlar bilimsel komitesi
COX	Siklooksijenaz
DMSO	Dimetil sülfoksit
DNA	Deoksiribonükleik asit
EMA	European Medicines Agency
KKD	Kardeş kromatit değişimi
Mİ	Mitotik indeks

MN	Mikronükleus
MTT	3-4,5-dimetil-tiyazol-difeniltetrazolyum bromür
N	Azot
NBİ	Nükleer bölünme indeksi
NMDA	N-metil-D-aspartat
NSAİİ	Non-steroid antiinflatuar ilaç
RAPD	Rastgele artırılmış polimorfik Dna
PCR	Polimeraz zincir reaksiyonu
SNRI	Serotonin ve noradrenalin geri alım inhibitörleri

1. GİRİŞ

Ağrı Latince’de poena kelimesinin karşılığıdır. Uluslararası Ağrı Çalışmaları Derneği tarafından gerçek ya da potansiyel doku hasarıyla ilişkili veya ilişkili olana benzeyen hoş olmayan bir duyu ve duygusal deneyim şeklinde ifade edilmiştir. Bu tanıma göre ağrı hoş gitmeyen duygusal bir deneyimdir. Bu nedenle ağrı deneyimini değerlendirirken fiziksel olsun ya da olmasın bütün etmenleri değerlendirmeye katmak gerekir (Yazgan, 2020).

Ağrı sınıflandırılmasında genellikle ağrıya sebep olan kaynaklar ve bunların nedenleri söz konusu olmaktadır. Akut, kronik, yüzeysel, derin, yansıyan, fonksiyonel, fizyolojik ve patolojik ağrı tipleri ve her biri için ayrı ayrı tanımlamalar mevcuttur. Örneğin, akut ağrı bedene zarar veren bir tiptir. Kimyasal bir olayın veya mekanik bir durumun sonucu oluşmaktadır. Bir anda başlamakta ve uzun sürmeden sonlanmaktadır. Kronik ağrı tipi ise hastalık iyileşmesine rağmen devam eden ağrıdır (Tuluc ve Tuylu, 2020).

Ağrı eğer tedavi edilemezse birtakım sıkıntılar baş göstermektedir. Bu sıkıntılar fizyolojik fonksiyonları düşürerek düşünme ve iletişim kurma becerilerini olumsuz etkilemektedir. Zihinsel fonksiyonları ve sosyal ilişkileri zayıflatmaktadır. Bunların bir sonucu olarak kişinin hem yaşam kalitesi düşmekte hem de kişi psikolojik bozukluk yaşamaktadır (Göktaş, 2023; Sarıhan, Kadioğlu ve Artıran, 2012). Ağrı tedavi edilmek istendiğinde çeşitli yollara başvurulmaktadır. Bu yollar; ağrı yollarının kesintiye uğratılması, stimülasyon teknikleri, ilaç tedavileri, psikolojik kontrol ve destekleyici tedavi ve son olarak fizyoterapiyi içerir. İlaç ile ağrı tedavisinde kullanılan ilaçlar da yine kendi aralarında çeşitli sınıflandırmalara tabi tutulmaktadır.

İnsanlık tarihi boyunca devam eden yaşantıda ağrı her zaman insanın hayatında yer almıştır. Farklı yaklaşımlarla farklı dönemlerde tedavi edilmeye çalışılmıştır. Yaşanan gelişmeler ışığında ağrı tedavisi multimodal bir hal almıştır. Bu yaklaşım ile ağrıyı yok etmek için ilaç etkileşimleri baz alınmıştır. İlaçlar bir kombin haline getirilerek düşük dozlarda birlikte verilerek tedavi sağlamayı amaçlayan bir yaklaşımdır. Multimodal analjezi lokal, adjuvan analjezikler ve parasetamol gibi grupların yanı sıra non-steroid analjezikleri de barındırmaktadır (Akkaya ve Özkan, 2009; Buvanendran ve Kroin, 2009; O’Neill, ve Lirk, 2022; Şenyüz ve Koçaslı, 2017).

Analjezik kelime anlamı olarak kısaca herhangi bir nedenden kaynaklanan belirli bir ağrı çeşidinin etkisinin azaltılması ya da tedavi edilmesi için başvuru alan ilaç grubunu ifade etmektedir. Analjezikler farklı ağrı gruplarına farklı etken maddelerle çeşitli etkiler göstererek iş görmektedir. Ancak bütün olarak bakıldığında hepsi ağrı hissini azaltılması ya da acı kaybının sağlanması amacıyla kullanılmaktadır. Analjezik ilaç etken maddelerini içeren ilaçlar antibiyotiklerden sonra en sık tercih edilen ilaçların başında gelmektedirler. Reçetesiz satılabilenlerinin de bulunmasından kaynaklı olarak evlerde sıklıkla bulundurulmuş ilaç grupları arasında yer almaktadırlar. Genellikle baş ağrısı ve grip gibi durumlarda kullanımlarına başvurulmaktadır (Kılıc ve Tuylu, 2020).

Genetik toksisite ya da genotoksisite; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploidi gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir. DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasını sağlayan enzimlerle etkileşime giren ve mutasyona neden olan genotoksik maddelerin DNA’da hasar meydana getirmesi veya bazı değişimlere yol açması ise genotoksik etki olarak tanımlanmaktadır (Cheng ve diğerleri, 1996). DNA molekülünde mutasyonlara yol açan ajanlar ya da mutajenler, DNA üzerindeki etkilerini ya doğrudan ya da genomik bilgilere göre sentezlenen proteinlere bağlanarak dolaylı yolla göstermektedirler (Duffaud ve diğerleri, 2007).

DNA hasarında rol alan kilit moleküllerde ve yollardaki bozukluklar ise doku hasarı, yaşlanma, kanser, infertilite ve bazı genetik ve multifaktoryal hastalıklara yol açmaktadır. Genotoksisite ve karsinojenite arasındaki ilişki pek çok çalışmada incelenmiş ve insanlar için karsinojen olan pek çok bileşiğin genotoksik olduğu gösterilmektedir. Kimyasal maddelerin mutajenik etkileri ile karsinojenik potansiyelleri arasında kuvvetli bir ilişkinin olduğunun gösterilmesi, genotoksisite testlerinin endüstri kuruluşları tarafından kimyasal maddelerin karsinojenik risklerinin araştırılmasında tarama testleri olarak kullanılması sonucunu doğurmuştur (Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Fenech, 2020).

İlaç etken maddelerinin genotoksik ve sitotoksik olup olmadığını anlamak için birkaç farklı test mevcuttur. Genotoksisite testleri arasında kromozomal aberasyon testi ve mikronükleus testi gibi testler bulunurken; sitotoksisite belirteçleri arasında mitotik indeks ve nükleer bölünme indeksi hesaplamaları yer almaktadır.

Bu çalışmada yaygın olarak kullanılan Piroksikam ve Tenoksikam adlı analjezik ilaç etken maddelerinin genotoksik ve sitotoksik etkilerini incelemek amaçlanmıştır. Bu amaçla *in vitro* periferik lenfositlerde kromozomal aberasyon ve mikronükleus testleri uygulanmıştır.



2. GENEL BİLGİLER

İlaçlar belirli amaçlarla kullanılan çeşitli kimyasallardır. Sağlığın korunması, bozulan sağlığın düzeltilmesi ve sağlık sıkıntılarından kaynaklanan acı hislerinin azalması amacıyla kullanılmaktadırlar. Sağlık konusunda oldukça büyük bir öneme sahiptirler. Ancak kullanımları konusuna dikkat edilmesi gereken şartlar mevcuttur. Olumlu etkilerinin yanı sıra kullanım şartları dışında bir şekilde alınırse ciddi derecede sorun oluşturabilmektedirler. Bu tür olumsuzlukların önüne geçmek için öncelikle rahatsızlığın doğru tespiti önemlidir. Kullanım şartı da öğrenildikten sonra hekim tarafından belirlenen tedavi şekline uyulmalıdır. İlaç uygunluğu ve güvenilirliği belirlendikten sonra ilaç kullanılabilir (Gelincik, Büyüköztürk, İşsever, Çolakoğlu ve Dal, 2009).

İlaç kullanımının en sık tercih edildiği durumlardan biri ağrıdır. Ağrı vücudun dokulara daha fazla zarar vermesini önlemek için oluşturduğu bir tepkidir. Ağrı tedavi metotlarının başında analjezik kullanımı gelmektedir. Analjezikler, bir diğer isimleriyle ağrı kesiciler acı kaybını sağlamak amacıyla tercih edilen ilaç türlerinin ortak adıdır. Analjezikler Dünya’da en yaygın kullanılan ilaç gruplarından biridir. Kanseri ağrıları, kemik ağrıları, boyun ağrıları ve bel ağrıları olmak üzere belirli ağrıların tedavisinde kullanılmaktadırlar (Kılıc ve Tuylu, 2020).

2.1. Ağrı ve Ağrı Tipleri

Ağrı geniş kapsamlı bir olgu olduğu için gruplandırılması konusunda sürekli değişiklikler yapılmaktadır. Net olarak belirli bir gruplandırılma şekli hala mevcut değildir. Ancak günümüzde genel olarak süresine göre, kaynaklandığı bölgeye göre, mekanizmasına göre, etyolojisine göre, duyu şekline göre ve son olarak bölgesel şekline göre gruplandırılmaktadır.

Süresine göre ağrı, akut ve kronik olmak üzere ikiye ayrılmaktadır. Akut ağrı organ işlevinde anormallik ya da hastalık esnasında yaşanan ağrıları ifade ederken kronik ağrı ise etkisi daha uzun süren (yaklaşık 180 gün) ağrıları kapsamaktadır (Akkaya ve Özkan, 2009; Buvanendran ve Kroin, 2009; Şenyüz ve Koçaşlı, 2017). Kaynağına göre ağrı üç gruba ayrılmaktadır. Bunlar somatik ağrı, visseral ağrı ve sempatik ağrıdır. Somatik ağrı, genel olarak doku zedelenmesi ve kemiklerde meydana gelen çatlak, kırık ya da çıkık

durumlarında seyreden ağrı grubudur. Visseral ağrı, iç organlar ve iç organların etraflarını saran zarların işlevini tam olarak yerine getiremediği hastalıklarda seyreden ağrılardır. Sempatik ağrılar ise daha çok yanma hissinin baş gösterdiği ağrıları ifade etmektedir (Cheng ve diğerleri, 1996; Duffaud ve diğerleri, 2007; O'Neill ve Lirk, 2022).

Mekanizmasına göre ağrılar ise nosiseptik, nöropatik, reaktif, deafferantasyon ve psikosomatik olmak üzere beş gruba ayrılmaktadır. Nosiseptik ağrılar, doku zedelenmesiyle merkezi sinir sisteminin uyarıyı alması ve tepki oluşturmasıyla meydana gelen ağrılardır. Nöropatik ağrılar, sinir sistemindeki lezyonların etkili olduğu bir ağrı grubudur. Reaktif ağrılar, vücudun çeşitli durumlara karşı gösterdiği motor nöron tepkileridir. Deafferantasyon ağrıları, sadece merkezi sinir sistemi değil aynı zamanda periferik sistemde de meydana gelen lezyonların etkili olduğu ağrı grubudur. Hızla tedavi edilmesi gereken bir ağrıdır. Psikosomatik ağrı ise kişinin yaşadığı psikolojik olayları çeşitli yollar değil de ağrı olarak ifade etmesi durumudur (Akkaya ve Özkan, 2009; Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Duffaud ve diğerleri, 2007; Fenech, 2000).

2.2. Analjezik İlaç Grupları

Çizelge 2.1. Analjezik İlaç Grupları (Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Cheng ve diğerleri, 1996; Duffaud ve diğerleri, 2007; Fenech, 2000; Gelincik ve diğerleri, 2009).

ANALJEZİKLER					
OPIOİD	PIRAZOLON	KANNABİOİDLER	ANİLİDLER	NSAİİ (Non Steroid Antiinflatuar İlaçlar)	ATİPİK
Morfin	Ampiron/Aminofenazon	Ajulemik asit	Parasetamol	İndometazin	Bisifadin
Eroin	Metamizol	AM404	(Asetaminofen)	Diklofenak	Klonidin
Fentanil	Fenazon	Kannabidiol	Fenasetin	Naproksen	Siklobenzaprin
Kodain		Kenevir	Propasetamol	Etodolak	Duloksetin
Tramadol		Nabilon		Meloksikam	Flupirtin
Metadon		Tetrahidrokannabinol		Piroksikam	Gabapentin
				Tenoksikam	Glafenin
					Nefopam
					Orfenadrin
					Tebaniklin
					Trazodon
					Zikonotid

Analjezik ilaçlar Çizelge 2.1’ de belirtildiği gibi 6 sınıfa ayrılabilir.

2.2.1. Opioidler

Günlük dilde afyon olarak da bilinen opioidlerin bir diğer isimleri de opiattır ve haşhaş bitkisinden elde edilmektedir (Gümüş, 2020). Ağrı kesici olarak kullanılsa da bazı durumlarda kullanan kişilerde mutluluk ve gevşemeye sebebiyet vermektedirler. Ulaşımı oldukça kolay olan bir ilaç grubu olduğundan bu özellikleri ile de birleşince bu ilacı kullanan kişilerde opiat bağımlılığı denilen bir durum meydana gelmektedir (Brammilla ve Martelli, 2009). Talimatlara uyarak kullanıldıklarında etkin bir sonuç vermektedirler (Kuru ve diğerleri, 2011; Ziypak, 2017). Çizelge 2.2’de opioidlerin sınıflandırılması görülmektedir. Buna göre opioidler üç sınıfa ayrılabilir.

Çizelge 1.2. Opioidlerin Sınıflandırılması (Brammilla ve Martelli, 2009; Kuru ve diğerleri, 2011; Ziypak, 2017).

OPIOİD		
AFYON ve ALKALOİD	YARI SENTETİK AFYON TÜREVLERİ	SENTETİK
Kodein	Asetildihidrokodein	Alfaprodin
Morfin	Benzilmorfin	Anileridin
Afyon	Dezomorfin	Buprenorfin
Laudanum	Dihidrokodein	Butorfanol
Paregorik	Dihidromorfin	Dekstromoramid
	Etilmorfin	Dekstropropoksipfen
	Diamorfin	Dezosin
	Hidrokodon	Fentanil
	Hidromorfinol	Ketobemidon
	Hidromorfon	Levorfanol
	Nikokodein	Metadon
	Nikodikodein	Meptazinol
	Nikomorfin	Nalbufin
	Oxycodone (+parasetamol) ·	Pentazocine
	Oksimorfon	Propoxyphene
	Tebakon)	Propiram
		Pethidine
		Fenazosin

Tüm opioidlerin dozaj ayarlaması, opioid toksisitesi ile kısıtlanabilmektedir. Fakat opioide toleranslı bireylerin yüksek dozu genellikle toleranssız hastalardan daha fazladır. Opioidler çok etkili analjezikler sınıfında yer alsalar bile bazı olumsuz yan etkilere sahip

olabilmektedir (Kourakis ve Dozi-Vassiliades, 1991; Rojas, Lopez ve Valverde, 1999; Synder ve Yeşil, 2001; Vassilides, Mourelatos, Eliopoulos, Schmid, 1975).

Kullanım şartlarının aykırı olmayan bir biçimde tüketildiklerinde opioidler ve diğer merkezi analjezikler sıkıntı oluşturmamaktadır hatta oldukça iyi etki göstermektedir. Fakat bağımlılık ve vücudun ilaca alışması yani toleransı gibi riskler meydana gelebilmektedir (Skoulis, James, Harbison ve Roberts, 1989). Tolerans etkisi, ilacın sık kullanımının etkisinin azalmasına sebep olabileceği şeklinde yorumlanmaktadır. Bu durumu sağlamak güvenli olduğunda toleransa karşı etkinliği sabit tutmak amacıyla dozajın artırılmasına ihtiyaç duyulmaktadır (Ye ve diğerleri, 1989). Bu durumda da kronik ağrıdan şikayetçi olan ve uzun süre bir analjezik kullanması gereken hastalar tarafından istenmeyen bir durumdur (Timocin ve İla, 2015). Opioid toleransı sıklıkla opioid rotasyon tedavisi ile değerlendirilmektedir. Burada yeterli bir analjezik etki almak girişiminde sıkıntı oluşturmeyen dozajların aşılmasını önlemek amacıyla hastaların aldığı ilaç düzenli şekilde çapraz toleranslı olmayan iki ya da daha fazla opioid ilaçla takas edilmektedir (Bernoa ve diğerleri, 2016; Devi ve Polasa, 1987; Guimar~aes da Silvaa ve diğerleri, 2020; Luijten ve diğerleri, 2006; Timocin ve İla, 2015). Opioid toleransı; opioid kaynaklı hiperaljezi ile aynı şey değildir. Bu iki durumun semptomları oldukça benzer görünebilir fakat etki mekanizması aynı değildir (Bernoa ve diğerleri, 2016). Opioidlerin sebep olduğu hiperaljezi, opioidlere maruz kalmanın ağrı durumunu arttırdığı (hiperaljezi) üstelik ağrısız uyaranı ağırlı duruma getirebildiği (allodini) halidir (Sari, 2004; Tayyaba ve diğerleri, 2020).

2.2.2. Piralazonlar

Non-steroid ilaç grubunda bulunan Piralazonlar 2 adet N (Azot atomu) ve 1 adet heterosiklik bileşik içermektedir. Reaktif bölgelere sahip olan biyoaktif bir madde olduğu için sıklıkla ilaç üretiminde kullanılmaktadır. Bu nedenle türevleri de oldukça büyük bir öneme sahiptir (Ömerustaoğlu, 2017).

2.2.3. Kannabooidler

Kannabooidler beyinde kannaboid reseptörleri üzerinde bulunurlar. Bu reseptörler nörotransmitter madde salınımında etkilidir. Bu etki kapsamında farklı kimyasalları içine alan bir gruptur. Bahsedilen bu nörotransmitterler, nöronlar arasında veya herhangi bir sinir

hücresi ile başka herhangi bir hücre arasında olan haberleşmeyi sağlayan kimyasallardır. Kannabooidler kenevirde elde edilmektedir. Bunlara ek olarak kenevirin endüstriyel kullanımı da mevcuttur. Yağ ve lif elde etmek amacıyla Tarım ve Orman Bakanlığı izninde ekimi yapılmaktadır. Bu iznin sebebi aynı zamanda esrarın ham maddesi olmasından kaynaklanmaktadır (Alpaslan ve Uğur, 1992; Ömerustaoğlu, 2017; Sari, 2004).

2.2.4. Anilidler

Nötr ilaçlar olarak da anılmaktadır. Bunun nedeni, karboksilik ilaç işlevselliği içermemeleridir. COX (siklooksijenaz), izozim enzim ailesinden olan bir enzimdir. İltihap ve ağrı gibi durumların tedavisinde inhibe olmaktadır. Bu inhibitör enzim grubu NSAİİ'ler arasında yer almaktadır. Anilidler, COX'lara karşı önleyici aktivitelerinin olmasına karşın oldukça az fonksiyona sahiptirler. Aslında anilid grubundakilerin hiçbir anti-inflamatuvar etkisi olmadığı düşünülmektedir. Yani sadece iltihaplı olmayan bölgelerdeki COX etkinliklerini indüklerler. Bu grup içinde en iyi bilinen ilaç parasetamoldür (Alpaslan ve Uğur, 1992; Balkaya, Kaya, Ata ve Karaca, 2021; Lee ve diğerleri, 2013). Yüksek ateşin düşürülmesinde ve şiddetli ağrıların geçmesi amacıyla kullanılan bir ilaçtır. Genellikle ağrının oldukça yüksek olduğu safhalar yerine daha düşük düzeydeki ağrılar için tercih edilmektedir (A. Azap, Nassar ve N. Azap, 2013; Camu, Van-Lersberghe ve Lauwers, 1994; Rainsford, 1986). Bunların yanı sıra parasetamol, kanser hastalığındaki oldukça yoğun geçen ağrı süreçlerinde opioidlerle beraber kullanılmaktadır (Camu ve diğerleri, 1994; Fardet, Nizard ve Generau, 2002; Rainsford, 1986). Yaygın olarak oral ya da rektal olarak reçete edilmektedir. Ek olarak intravenöz kullanımı da mevcuttur. Etkisi 5 saatten kısa sürmektedir (Şavlı, 2012). Analjezik grubunun içerisinde yer alan hafif analjeziklerdir. Doz aralığı konusunda kullanıma oldukça dikkat edilmesi gereken bir ilaçtır. Kullanıldıktan neredeyse bir saat sonra en yüksek düzeydeki plazma konsantrasyonuna erişmiş olmaktadır. Plazma yarı ömrü dört saatten fazla sürmemektedir (Choy, 2001; Mortelmans ve Rupa, 2005; Şavlı, 2012; Young, 2002). Vücuttan atılmış halinde dahi %3'üne kadarlık kısmı değişime uğramamış olabilmektedir. Analjezik açıdan yorumu yapılacak olursa, yeni nesil analjeziklere kıyasla hafif kalmış durumda bulunsa bile gastrointestinal sistemde yan etkisinin neredeyse hiç bulunmaması, güvenilirliğinin yanı sıra hamilelerde kullanılabilmesi parasetamolun her zaman ön planda olmasını ve geleneksel bir analjezik olarak anılmasına katkı sağlamaktadır (Vural, 2005).

2.2.5. Non-steroid antiinflatuar ilaçlar (NSAİİ)

Non-steroid anti-inflatuar ilaçlar (NSAİİ) sıklıkla hissedilen ağrıyı dindirmek için reçete edilmektedirler. Aynı zamanda iltihaplanma karşıtı ve ateş düşürücü etkileri de bulunmaktadır.

İlk olarak 1820’lerde kolşisin, 1860’larda salisilik asit, 1898’lerde aspirin şeklinde kullanıma sunulmuştur (Zeiger, 2004). Ancak NSAİİ ismi 1949 yılında fenilbutazoninin sentezlenmesi ile birlikte anılmaya başlamaktadır. 1971 yılında Dr. Jhon Wyone çalışmalarında bu grubun etki mekanizması üzerinde araştırmalar yapmış ve ilk siklojenaz emilimini tanımlamıştır. Bunun üzerine Sir ünvanı ve Nobel ödülü almıştır (Avcioğlu, 2019; Zeiger, 2004).

1976 senesinde ise prostoglandin endoperoksit sentetaz enzimi elde edilmiştir. Siklojenaz olarak anılan enzim aslında COX grubu enzimleridir (Young, 2002). Bu bilgiler ışığında NSAİİ etki mekanizmaları hatta yan etkileri üzerinde araştırmalar hız kazanmıştır ve güvenlik profili ile de ilgilenilmiştir (Stopper ve Müler, 1997). Sonraki yıllarda ise COX’un aslında tek bir molekül olmadığı ortaya konmuştur. Birden çok izomerinin farklı işlevleri olduğu kanıtlandıktan sonra klinik araştırmalar farklı bir boyuta geçmiştir. Bu tarz gelişmeler ışığında ilaçlar farklı gruplandırmalara yönlendirilmiştir (Choy, 2001). Kimyasal yapı, enolik asitler ve oksikamlar bu sınıflandırmalardan bir kısmının kendi içinde de sınıflara bölündüğünün kanıtı olmaktadır (Vanparys, Vermeiren, Sysmans ve Temmerman, 1990).

NSAİİ’ler aynı zamanda, çeşitli kanser hücre dizileri üzerine kemopreventif yani kanserden korunma amacıyla doğal kaynakların ve ilaçların kullanılması şeklinde bir etki sergilemektedir (Schmid, 1975). Aynı zamanda da baskılayıcı yani kemosupressif etki de göstermektedir. Anti kanser etkileri protein ve mRNA düzeyinde engelleyici etki göstermektedir. Cu-II kompleksleri yalın ilaçlardan oldukça daha fazla düzeyde antikanser etki sunduğunu göstermektedir (Cheng ve diğerleri, 1996). NSAİİ’ler ctDNA ile etkileşime girdiğinde DNA omurgasında deformasyona sebep olmaktadır. Fosfodiester bağlarında meydana gelen bu bozulma yapısal mutasyonlarla ilişkilendirilmektedir (Duffaud ve diğerleri, 2007).

NSAİİ'ler etkilerini COX enzimleri ile göstermektedir. Araşidonik asitten prostoglandine olan çeviri sonucunda COX enzimlerini selektif olmayan şekilde engelleyerek etki göstermektedir (Himly ve diğerleri, 2003; Mehlisch, 2002). NSAİİ'ler dokularda oluşan hasarın ardından prostoglandin sentezini engellemektedir. Hasarlı dokularda hem ağrının hem de inflamasyonun oluşmaması için bu ilaçlara ihtiyaç duyulmaktadır. NSAİİ grubu analjeziklerin belirgin yan etkileri mevcuttur. Bu gruptaki ilaçların en sık gözlemlenen yan etkisi sindirim sistemi üzerinedir (Akici ve Gelal, 2011; Gelincik ve diğerleri, 2009; Mehlisch, 2002;). Alerjik bir kökene sahip olan hastalıklarda da yan etki göstermektedirler. Buna örnek olarak astım verilmektedir. Astım sürecinde T lenfositleri başta olmak üzere birçok hücresel eleman görev almaktadır. Astım bir inflamasyon hastalığı olarak tanımlandığından NSAİİ grubu ilaçlar bu hastalıkta kullanılmaktadır. NSAİİ grubu ilaçlar lenfositler üzerine etki ederken aynı zamanda astımdan dolayı T lenfositlerinde meydana gelen durumlar bir araya geldiğinde bazı olumsuzluklar meydana gelmektedir. Bu olumsuzluklara örnek olarak bronkospazmın indüklenmesi verilmektedir. Bu ve benzeri durumların önüne geçebilmek için astımda analjezik ilaç kullanım yollarının mekanizmasının iyi bilinmesi ve ona göre analjezik ilaçların seçilerek kullanılması önerilmektedir (Açıcı ve Cankara, 2012). NSAİİ'ler Çizelge 2.3'de gösterildiği gibi 6 sınıfa ayrılabilir (Duffaud ve diğerleri, 2007; Gelincik ve diğerleri, 2009; . Himly ve diğerleri, 2003).

Çizelge 2.2. Non-Steroid Anti-İnflamatuvar İlaç (NSAİİ) Sınıflandırılması ((Duffaud ve diğerleri, 2007; Gelincik ve diğerleri, 2009; . Himly ve diğerleri, 2003).

PROPIYONİK ASİT TÜREVLERİ	OKSİKAMLAR	COX	SALİSATLAR	ASETİK ASİT	ANTALİNİK ASİT	DİĞER
Fenoprofen Flurbiprofen İbuprofen Ketoprofen Naproksen Oksaprozin	Meloksikam Tenoksikam Piroksikam	COX-II selektif inhibitörleri Selekoksib Rofekoksib	Aspirin Benorilat Diflunisal Etenzamid Magnezyum Salisilat Salisin Salisilamid Salsalat Trisalat	Diklofenak İndometazin Ketorolak Sulindak Tolmetin	Meklofenamat Mefenamik asit	Nubumeton

Oksikamlar, romatoit artrit, osteoartrit, akut gut ve akut kas ağrıları tedavisinde kullanılan analjeziklerdir. Kimyasal yapılarından dolayı NSAİİ grubunda yer alırlar. Yarı ömürleri 20-60 saattir. Zayıf asidik oldukları için midede kolay emilimleri olur. Genellikle bir plazma

proteini olan albümine bağlanarak taşınırlar (Yılmaz, Tutar, Yenigün, Özer Şimşek ve Gülmez, 2017).

Bu tez çalışmasında genotoksisitesi değerlendirilen Piroksikam ve Tenoksikam da oksikam grubunda yer almaktadır.

Piroksikam piyasada 0,5 µg/mL konsantrasyonda bulunan, nispeten kuvvetli bir analjezik etkiye olduğundan romatiroit ve ostoit artrit tedavilerinde sıklıkla tercih edilen non-steroid anti-inflamatuar sınıfından biri olan oksikamlar arasında yer alan bir analjeziktir. Beyaz, açık sarı ya da açık kahverengi gibi tonlarda bulunabilen toz şeklindeki bir ilaç etken maddesidir. Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS)'de sınıf 2 olarak kabul görmektedir. Bu nedenle suda çözünürlüğü oldukça düşüktür. Ancak seyreltik haldeki asitler ve bazı organik olan çözücülerde iyi çözünür. Ancak, etanol ve bazik olan çözücülerde daha az çözünmektedir. Analjezik olmasının yanı sıra antipiretik ve anti-inflamatuar etkiye de sahiptir. Sindirimi oldukça kolay olan Piroksikam maaliyeti ucuz ve kolay ulaşılabilir bir ilaçtır. Diğer NSAİİ'lere kıyasla baş ağrısı, baş dönmesi ve depresyon gibi yan etkilerini fazla olmakla beraber faydaları bu olumsuzlukların önüne geçmektedir.

Piroksikam'ın suda çözünürlüğünün oldukça düşük olması bu ilaç etken maddesinin emilimini zorlaştırır. Hem ağrı kesici hem de ateş düşürücü etkileri mevcuttur. 20. yy.'ın başlarından itibaren kullanımı mevcut olan Piroksikam'ın genotoksisitesi henüz tam olarak aydınlatılamamıştır (İslami, Sopyan, Gozali ve Hairunnisa, 2020; Mirza, Miroshnyk, Habib, Brausch ve Hussain, 2010; Shohin ve diğerleri, 2014).

Tenoksikam, piyasada 0,2µg/mL konsantrasyonda bulunur ve sıklıkla sırt ağrıları, leğen kemiği ağrıları, bazı dokularda şişme ve eklem iltihaplanması tedavisinde tercih edilir (Balkaya, Kaya, Filiz ve Karaca, 2021; Özgür ve Özzeybek, 2020; Özkılıç ve diğerleri, 2018). Tenoksikam, Biyofarmasötik Sınıflandırma Sistemi (BCS)'de sınıf 2 olarak kabul görmektedir. Bunun nedeni, suda çözünürlüğünün oldukça düşük olmasıdır.

Tenoksikam non-steroid anti-inflamatuar (NSAİİ) grubunda yer alan analjezik (ağrı kesici), anti-inflamatuar ve trombosit agregasyonunu baskılayan etkiye sahip bir ilaç etken maddesidir.

Tenoksikam, oksikam grubunda yer almaktadır. Tionetiyonin türevi bir ilaç etken maddesidir. Yapılan bir araştırmada Tenoksikam ilaç etken maddesinin kan hücre grubundan biri olan nötrofillerde bulunan peroksidazın aktivitesinin değişmesinde (azalmasında) kofaktör olarak görev aldığı ve bu etkinliğinin anti-inflamatuar bir özellik olduğu gösterilmiştir. Ancak Tenoksikam'ın anti-inflamatuar özelliğinin araştırılmasına yönelik yeterli çalışma bulunmamakla birlikte, Tenoksikam'ın doğrudan COX-II enziminin aktivitesini baskıladığı bilinmektedir. Bu baskılamayı yaparken araşidonik asitten metabolitlerin meydana gelişini önlemektedir (Atlı Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011).

Tüm NSAİİ grupları gibi COX'u inhibe ederek prostoglandin sentezini baskılar. Yani selektif olmayan bir COX-2 inhibitörüdür. Siklooksijenaz-II (COX-II) enzimini inhibe ederek analjezik etki gösterir. COX-II enzimi prostoglandin sentezini inhibe edebilen bir enzimdir. COX-II, iltihap olan bölgede indüklenir. Sonrasında mitojenler, sitokinler ve endotoksinlerce stimüle edilir. Ardından iltihap artar. Bu durumda araşidonik asitten lipooksijenaz yolları ile meydana gelen metabolitlerden lökotrienler, lökositlerin vasküler endotele hızla tutunmasını sağlar. Ancak lipooksijenaz üzerinde tedavi edici şekilde etkin değildir. Fagositöz ve hücre salınımına ek olarak farklı lökositlerin işlevini engellerler ve iltihaplı bölgede bulunan aktifleşmiş oksijen radikalini yok ederek iltihap karşıtı etkide bulunurlar. Reperfüzyon hasarının ne seviyede olduğunu saptayan postkapiller permeabiliteyi yükseltir. İskemi durmaz ise lizozimler hücre nekrozuna sebep olur (Yılmaz ve diğerleri, 2017). Piroksikam ve Tenoksikam aynı zamanda NSAİİ grubu olan COX grubunda yer alan COX II inhibitörleri ile de yakından ilişkilidir.

COX-II selektif inhibitörleri (koksibler) non-steroid anti-inflamatuar ilaçların bir çeşididir ve doğrudan ve inflamasyon ve ağrıdan sorumlu bir enzim olan COX-II'yi inhibe ederek etki gösterirler. COX'u prostaglandinlerin oluşumunda temel enzimdir ve COX inhibisyonu, non-steroid anti-inflamatuar ilaçların etkilerinin birincil mekanizmasıdır. COX enziminin COX-I ve COX-II olmak üzere iki izoformu belirlenmiştir. COX-II inhibitörleri grubunda yer alan ilaçlar NSAİİ sınıfındaki ilaçlardan üretilmektedirler ve bu sınıfın bir üyesi olarak kabul edilirler (Timirci-Kahraman, 2013). COX enzimleri hücrelerde araşidonik asitten, eikosanoidlerin oluşumunda iş gören enzimlerdir. Ayrıca son zamanlarda üçüncü bir izoform olan COX-III keşfedilmiştir. Ancak üzerine yapılan araştırmalar henüz tamamlanmamıştır (Krishna ve Hayashi, 2009; Widel ve diğerleri, 2001).

COX-I ve COX-II ilk etapta bir araya gelerek, kararsız yapıda bulunan prostoglandin PGH2 üretimini sağlamaktadır (Von-Ledebur ve Schmid, 2003). Bir sonraki etapta ise, hücreye spesifik olan kararlı prostoglandinlerin oluşumuna olanak sağlamaktadır. COX-I'in öncelikli görevi tromboksan yani TXA2 enzimi sentezlemektir (Hedde ve Countryman, 1976). Somatik hücrelerin büyük kısmında yer alırlar ve gastrik mukozal korumada etkili görevleri mevcuttur. COX-II'nin öncelikli görevi ise hücrelerin genelinde düşük miktarda bulunarak inflamasyonla ilgili görevlere katılmaktır (Fenech ve Morley, 1986; Registre ve Proudlock, 2016). Sonrasında bu analjezik etkilere COX-II enzimi ile etki ettiği gözlenmektedir. Burada COX-I, COX-II; sırasıyla yapıcı ve uyarılabilir olarak yorumlanabilir (Jain, Singh, Dubey, Maurya, ve Pandey, 2018). COX enzim aktivitesi ile beraber hücre zarı fosfolipidlerinin prostoglandin sentezine giden yolda kontrol altında tutulup bahsi geçen enzimin NSAİİ ile inhibisyonu aracılığıyla prostoglandin sentezinin, lipooksijenaz yolağı ile ise de lökositlerin sentezini engelleyebilmektir (Luijten ve diğerleri, 2006; Tayyaba ve diğerleri, 2020).

Bu çalışmada genotoksik etkisi incelenen iki COX-II selektif inhibitörü olan ve oksikamlar arasında yer alan Piroksikam ve Tenoksikam ile ilgili bazı bilgiler aşağıda verilmiştir.

2.3. Genotoksisite ve Genotoksisite Testleri

Toksikolojinin bir alt dalı olan genetik toksikoloji, organizmanın normal biyolojik işleyişi sırasında veya kimyasal, fiziksel ve biyolojik etkenlere bağlı olarak hücrelerin DNA moleküllerinde meydana gelen değişiklikleri inceleyen bir bilimdir ve çeşitli ajanların ortaya çıkardığı genetik hasarın değerlendirilmesinde önemli bir yere sahiptir (Garewal, Ramsey, Kaugars ve Boyle, 1993).

Genetik toksisite ya da genotoksisite; çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploidi gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir. DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasını sağlayan enzimlerle etkileşime giren ve mutasyona neden olan genotoksik maddelerin DNA'da hasar meydana getirmesi veya bazı değişimlere yol açması ise genotoksik etki olarak tanımlanmaktadır (Cheng ve diğerleri, 1996). DNA molekülünde mutasyonlara yol açan ajanlar ya da mutajenler, DNA üzerindeki etkilerini ya doğrudan ya da genomik bilgilere göre sentezlenen proteinlere bağlanarak dolaylı yolla göstermektedir (Duffaud ve diğerleri, 2007). DNA hasarında rol alan kilit moleküllerde ve yollardaki

bozukluklar ise doku hasarı, yaşlanma, kanser, infertilite ve bazı genetik ve multifaktoryal hastalıklara yol açmaktadır.

İlaçların genotoksik etkilerinin incelendiği testlerle alakalı olarak Ekonomik İş birliği ve Kalkınma Örgütü (OECD)'nün kimyasallar maddelerin test edilmesi amacıyla oluşturduğu yönergelerle önemle dikkat edilmektedir. Belirtilen yönergeler, etken madde piyasaya sürülmek isteniyorsa bazı incelemelerden geçmelidir. Bu incelemeler, bakterilerde gen mutasyon testi, memeli hücrelerinde *in-vitro* kromozomal hasarın sitogenetik açıdan incelenmesi ya da *in-vitro* memeli hücrelerinde gen mutasyonu testi ve son olarak Rodent hematopoietik hücreleri kullanılarak *in-vivo* kromozomal hasar testi uygulanmalıdır (OECD, 2008).

EMA (European Medicines Agency) 2007 yılında Piroksikam'ın mide-bağırsak, cilt güvenilirliği ve kardiyovasküler güvenliğini incelemiş ve sonuçta Avrupa Komisyonu CHMP (Avrupa İlaç Ajansı İnsani İlaçlar Bilimsel Komitesi)'den Piroksikam'ın fayda risk dengesinin tam bir incelemesinin yapılmasını istemiştir. Ancak Piroksikam genotoksitesite için prokaryotikler ile tasarlanmış herhangi bir deney, *in vivo* ya da *in vitro* ortamda memelilerde yapılmış herhangi bir genotoksitesite testi bulunmamaktadır. Tenoksikam genotoksitesite için ise EMA'nın yayınladığı herhangi bir rapor bulunmamaktadır. Aynı zamanda prokaryotlar ve memeliler üzerinde uygulanmış herhangi bir sitotoksitesite/genotoksitesite testi bulunmamaktadır (EMA, 2007).

Literatürde Piroksikam ve Tenoksikam ilaç etken maddeleri hakkındaki genotoksitesite çalışmalarının eksikliği dikkat çekmektedir. Bu tez çalışması Piroksikam ve Tenoksikam ilaç etken maddelerinin insan lenfositlerinde *iv vitro* kromozomal anormallik (KA) ve mikronükleus (MN) testi ile incelemesini içerdiğinden literatürde önemli bir yere sahip olacaktır.

İlaç etken maddeleri de dahil olmak üzere herhangi bir ajanın olası genotoksitesitesini belirlemek için birçok yöntem kullanılmaktadır. Hepsi farklı amaçlarla farklı koşullardaki genotoksitesiteyi hesaplamak amacıyla tasarlanmışlardır. Ancak, bu çalışmada en sık tercih edilen testlere değinilmektedir (OECD, 2008).

2.3.1. Kromozom anormallikleri testi (KA)

Kromozomal anormallikler, genellikle kromozomlarda meydana gelen hataların onarılamamasından kaynaklanmaktadır. Bazı durumlarda ise hem mitoz hem de mayoz bölünme sırasında kromozomların doğru ayrılamamasından kaynaklanmaktadır. Epidemiyolojik araştırmalar, kromozomlarda meydana gelen hataların sıklığındaki artışın hücreleri kansere götürebildiğini göstermektedir (Mamur, Ataseven, Ünal ve Yüzbaşıoğlu, 2018).

Maruz kalınan biyolojik, fiziksel ve kimyasal ajanlar kromozomların ya yapısında ya da sayılarında farklılık oluşturmaktadır. Sayısal farklılıklara poliploidi örnek verilebilir. Gap (boşluk/cep) bu konuda inceleme yapan araştırmacılar açısından anormallik olarak nitelendirilmemektedir. Gap bölgelerin genomdaki spiral çözülme nedeniyle meydana geldiği ve bu sebeple de kromozomun boya almayan parçaları olarak nitelendirildikleri sonucuna varılmıştır. Yapısal farklılıklar ise kromatitlerde meydana gelen kırıklar, kromozomda meydana gelen kırıklar, fragment, disentrik kromozom oluşumu, halka kromozom oluşumu, kardeş kromatitlerde meydana gelen birleşme, translokasyon, inversiyon ve son olarak izokromozomlar şeklindedir.

Kimyasal ile muamelesi interfazın ilk evresinde (G1) meydana gelmişse kromozom tipi anormalliklerden; ikinci evresinde (G2) meydana gelmiş ise bu kez kromatit tipi anormalliklerden; sentez evresinde (S) meydana gelmiş ise her iki tipteki anormalliklerden de bahsedilir (Timoroğlu, 2009).

Asentrik fragmentler ise terminal delesyonlar yani silinmelerden kaynaklanmaktadır. Kromozomu meydana getiren her iki kromatitte de kırılma söz konusu ise kardeş kromatitlerde birleşme oluşabilmektedir. Ek olarak birbirine uzak mesafede bulunmayan kromozomlarda meydana gelen kırıklar ise çeşitli şekillerde bir araya gelerek birleşebilir. Bu durum çeşitli şekillerde ifade edilmektedir. Bunlar, translokasyonlar, disentrik kromozomlar veya inversiyonlardır. Durum biraz daha karmaşık ilerlediğinde ise çeşitli düzenlemelerin meydana getirdiği halkasal kromozomlar oluşabilmektedir (Vanparys, Vermeiren, Sysmans ve Temmerman, 1990).

Bazı genotoksik maddeler, genomda yer alan fosfodiester bağlarının ayrılmasına neden olarak DNA sentezi (S fazı) esnasında meydana gelen hatanın düzeltilmemesine neden olmaktadır. Bu durum ise genotoksik olan maddenin kromozom yapısında bir anormallik oluşturmaktadır.

Birçok farklı hücre grubunda kromozomal anormalliklerin saptanması için kromozomal anormallik testi yapılmaktadır. Kromozomal anormallik (KA) testi Perry ve Evans'ın (1975) Çin Hamster Ovaryum (CHO) hücrelerinde genom düzeyinde meydana gelen değişiklikleri uyardığı belirlenmesinin ardından uygulamaya konulmuş geliştirilmiş bir metoddur. Kromozom adedi ve hücre tipi net bir şekilde bilinen insan lenfosit kültüründe geniş bir uygulaması mevcuttur (Fenech, 2000). Bu test ile kromozomlarda oluşan yapısal ve sayısal değişiklikler değerlendirilebilmektedir. Bu değişiklikler genellikle hücre bölünmesi sırasında meydana gelen hatalardan kaynaklanmaktadır (Evans, In Kilbey, Legator, Nichols, ve Ramel, 1984; Yüzbaşıoğlu, Yılmaz ve Fatma, 2016).

Genom düzeyinde toksik etkilere sahip olan ajanların belirlenmesinde sıklıkla başvuru olan oldukça önemli bir genotoksisite testidir. Belirli bir süre genotoksik açıdan bir ajana maruziyeti bulunan kişilerde bu genotoksik maddenin etkinliğinin ne şekilde olduğunun saptanması için başvuru olan önemli bir testtir (Yüzbaşıoğlu ve diğerleri, 2016).

2.3.2. Kardeş kromatit değişimi testi (KKD)

Kardeş kromatit değişimi (KKD) testi, kromozom yapısını farklılaştırmadan, kardeş kromatitlerin homolog lokusları arasında bulunan DNA segmentlerinin simetrik değişimi temeline dayanan bir testtir (Vanparys ve diğerleri, 1990). KKD testinde, DNA kırıklarını gözlemlenir hale getirmek amacıyla hücre kültürlerine DNA'da timin analogu gibi davranan Bromodeoksiüridin (BrdU) kimyasalı kullanılmaktadır. Bu maddenin hücre döngüsü esnasında kardeş kromatitlerin arasına girmesi mümkün kılarak homolog kromozomlardaki DNA segmentlerinin karşılıklı takası görünür hale getirilmektedir (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2017; Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2022). Bu test; farklı fiziksel ve kimyasal ajanların mutasyon ve kanser oluşturuıcı etkilerini deneysel araştırmalarda indikatör test olarak kullanılmasına ek olarak özellikle kromozomlarda meydana gelen yapısal farklılıkları incelemek açısından da oldukça önemlidir (Atılboz, 2004; Demirel ve Zamani, 2002).

2.3.3. Mikronükleus testi (MN) (sitokinezi bloklanmış mikronükleus testi (cytokinesis-blocked micronucleus assay = CBMN Assay))

Mikronükleus (MN) testi Howell'ın (1986) yaptığı çalışmalarla eritrositlerin içinde saptanmıştır. Howell'in çalışmaları üzerine Jolly (1907) de bazı çalışmalar yapmıştır ve gözlemlediği MN'leri "Howell-Jolly cisimcikleri" olarak adlandırmıştır. Mikronükleuslar, hücre bölünmesi esnasında kromozomların serbest hale geçmesiyle ana çekirdekten bağımsız olan, çekirdek büyüklüğünün ana çekirdeğe oranının 1/3'ten küçük olduğu, dış kısmının çekirdek zarı ile sarılı olduğu yapılardır (Üstüner, 2011). Sitoplazmaları ortaktır ve ana çekirdeğin hemen yakınında bulunur (Ünal, 2011). Mikronükleuslar, hücre bölünmesinin karyokinez aşamasında kinetokor ve iğ ipliklerinde meydana gelen hatalardan, hücre bölünmesinin kontrolünü sağlayan genlerin eksikliklerinden ve son olarak kromozomlarda oluşan tahribat nedeniyle meydana gelmektedir (Bonassi, El-Zein, Bolognesi ve Fenech, 2011). Mikronükleusların meydana gelmesinde bölünmenin hangi evresinde olduğu önemli değildir. Hücre bölünmesi esnasında herhangi bir anda meydana gelebilir (Ünal, 2011).

Mikronükleuslar hücrelerde mitoz bölünme esnasında meydana gelen ve gerçek çekirdeğe bağlı olmayan durumdadırlar. Bütün bir kromozom veya asentrik kromozom parçalarından köken alarak meydana gelmektedirler. İlk etapta 1950 yılında bitki hücrelerinde kromozom hasarı ölçmek için kullanılmış olsalar da sonralarında hayvan hücrelerinde de hasar belirlemek amacıyla tercih edilmişlerdir (Demirel ve Zamani, 2002). Kültüre edilen insan lenfositlerinde kanser oluşumuna sebebiyet veren kimyasal maddelerin tayininde tercih edilmektedirler. İlerleyen çalışmalar bu testin anaploidiye sebebiyet veren ajanların belirlenmesinde de kullanılmasına olanak sağlamaktadır (Demirel ve Zamani, 2002; Ünal, 2011; Üstüner, 2011).

Anoploidiyi tetikleyen ajanlar sentromer kısmında bölünme esnasındaki sıkıntılarda ve iğ ipliği fonksiyon bozukluklarına da sebep olmaktadır (Bonassi ve diğerleri, 2011). Klastojenler ise kromozom kırıkları meydana getirerek mikronükleusların ortaya gelmesine etki etmektedir. Mikronükleus testi sitogenetik açıdan bir deformasyon değerlendirilmesinde ve kromozom analizinde avantaj sağladığı için tercih edilmektedir (Genç, Özcan ve Gelecek, 2002).

Endüstrileşmedeki hıza bağlı olarak artan çevre kirliliği ve maruz kaldığımız kanser yapıcı ajanlar genetik olarak toksik olduğundan ihtiyacımız olan değerlendirmeler bu bahsedilen mikronükleus testi ile yorumlanmaktadır (Raharjo, Pambudi ve Mugiyanto, 2019).

Mikronükleusun belirlenmesinde karyokinezi tamamlanmış ama sitokinezi (Sitokalsin-B ile) engellenmiş çift çekirdek içeren (binükleat) hücreler incelenmektedir. Bunun sebebi binükleat hücrelerin kimyasal ile muamelesinin ardından genotoksisitesi incelenmek istenen bölünme geçirmiş hücreler olmasıdır. Bir mikronükleusun belirlenmesinde 3 kriter mevcuttur (Hutajulu, 2022). MN çapı gerçek çekirdeğin çapının 1/3'ünden küçük olmalıdır. Boya alma yoğunluğu gerçek çekirdek ile aynı seviyede olmalıdır. Yalnızca sitoplazma bölünmesi engellenmiş iki çekirdekli hücrelerde sayılmalıdır (İslami ve diğerleri, 2020).

2.3.4. Ames testi

Ames testi kimyasal maddelerin mutajenik etkilerinin araştırıldığı çalışmalarda kullanılarak (Dkhill, Tohamy ve Gabry, 2011), geçerliliği onaylanan bakteriyel testler arasında yer almaktadır (Abdeen ve diğerleri, 2019; Balkaya ve diğerleri, 2021). Avantajları arasında hızlı olması, maliyetinin düşük olması ve uygulamasının kolay olması vardır (Vanparys ve diğerleri, 1990). Genellikle nokta mutasyonun ve çerçeve kayması mutasyonlarına kimyasalların neden olup olmadığının tespitinde kullanılır (Bonassi ve diğerleri, 2011; Özkan, Kocatürk, Okutan ve Özer, 2021).

2.3.5. Comet testi

Farklı ajanların sebep olduğu bir DNA hasarı varsa bu hasarın ne olduğunun belirlenmesi amacıyla tercih edilen bir testtir. Avantajları arasında, hassas oluşu, hızlı ve güvenli oluşu vardır. Diğer bir ismi de tek hücre jel elektroforezidir. Çoğu memeli hücresinde farklı ajanların baskıladığı DNA hasarı ve tamir sıkıntılarının belirlenmesini hedefleyen araştırmalarda tercih edilir. DNA kırıklarının belirlenmesi temeline dayalı bu test, birçok fiziksel ve kimyasal ajanın spesifik olarak insanlarda sebep olduğu DNA hasarının ve tamirinin belirlenmesini hedefleyen araştırmalarda tercih edilmektedir. DNA kırıklarının tespiti temeline dayanan bu test, çoğu zaman kanser ve kalıtsal hastalık tespitinde kullanılan biyoizlem testi olarak kullanılmaktadır (Avuloğlu-Yılmaz, Yüzbaşıoğlu, Özçelik, Ünal, ve Ersan, 2017; A. Arslan ve E. Arslan, 2007; Yenice, 2005).

2.3.6. Analjezik ilaç etken maddeleri ile yapılmış genotoksisite çalışmaları

Analjezik ilaçlar yararlı kullanımlarının yanı sıra beraberlerinde bazı olumsuzluklar da getirmektedir. Meydana getirdikleri bu olumsuzluklar genom düzeyine kadar ulaşabilmektedir. Bahsedilen bu genom düzeyindeki olumsuzluklar genotoksisite ile ilişkili olabilir (Demirel ve Zamani, 2002). Analjezik ilaç etken maddeleri üzerine yapılan genotoksik çalışmalar değerlendirildiğinde çalışmaların bir kısmı bazı ilaç etken maddelerinin genotoksik olarak olumsuz sonuçlar vermesine karşın bir grup etken maddenin ise herhangi bir olumsuz sonuç vermediği göstermektedir (Bakır ve diğerleri, 2021; Hayes, Hardisty, Harris ve Weber, 2020; Karanfil, 2020; Kılıç, 2018).

Analjezik ilaç kullanımında dikkat edilmesi gereken en önemli unsurlar ilacın alındığı zamanlar ve dozajlarıdır. Bunun yanında ilacın kullanım şekli de vücutta emilim hızını ve vücutta etkisini etkilemektedir. Analjezik ilaçlardan alınan verimi en yüksek seviyede seyrettirmek için kullanılan dozaja ve doz aralığına dikkat edilmektedir. Böylece ağrı kesici özelliğinin daha hızlı ve etkin şekilde oluşmasını sağlamaktadırlar. Bu durum hem dozların daha az olmasını hem de olumsuz etkilerinin daha da aza indirilmesini sağlamaya yaramaktadır (Aktaş Potur ve Toptancı, 2021).

Yapılan araştırmalarda, bazı analjezik ilaç etken maddelerinin genotoksik ve karsinojenik etkilere sahip olduğu tespit edildiğinden beri, bu maddelerin söz konusu etkilerini inceleyen çalışmalar artmıştır. Bu çalışmada genotoksik etkileri araştırılan Piroksikam'ın ve Tenoksikam'ın genotoksisitesinin incelendiği bazı araştırmalar yer almaktadır.

Piroksikam genotoksisitesi ile ilgili yapılan bir çalışmada, ilaç genotoksisitelerinin incelenmesi amacıyla fare, sıçan, maymun, köpek ve son olarak insan karaciğer hücrelerinde *in-vitro* MN testi (50, 1000 ve 1500µg/mL) uygulanmıştır. Sonuçlara bakıldığında Piroksikam'ın MN frekansını artırmadığı ve dolayısıyla herhangi bir genotoksik etki göstermediği sonucuna varılmıştır (Kishino, Hasegawa, Yamoto ve Mori, 2019).

Piroksikam'ın genotoksik etkisi 20-25 g ağırlığındaki sağlıklı farelerde (*Mus musculus*) 0,3mg/kg dozda 24 saatlik muamele ile KA testi ile incelenmiştir. Aynı zamanda mitotik indeks frekansları da değerlendirilerek sitotoksisitesi de incelenmek istenmiştir. Sonuçta

kromozomal anormalliklerin anlamlı düzeyde artmadığı ve mitotik indeks frekansında değişiklik olmadığı gözlenmiştir (Dkhil ve diğerleri, (2011).

RAW 264.7 makrofajlarında, Piroksikam ve lipozomla kaplanmış Piroksikam'ın 0,1; 0,2 ve 0,4 mg/ml konsantrasyonlarda 24 saatlik muamelelerinin sitotoksitesi *in vitro* MTT testi ile değerlendirilmiştir. Prioksikam uygulamalarının hücre canlılığını önemli derecede azaltmadığı gözlemlenirken lipozomla kaplanmış Piroksikam'ın hücre canlılığını en yüksek konsantrasyon olan 0,4mg/ml'de anlamlı düzeyde azalttığı gözlenmiştir (Chiong ve diğerleri, 2013).

Piroksikam ve Tenoksikam ile gerçekleştirilmiş çok fazla genotoksisite çalışması bulunmamaktadır. Ancak başka farklı ilaç etken maddelerinin genotoksik potansiyellerinin araştırıldığı çalışmalar bulunmaktadır. İbuprofenin *in-vivo* KA testi ile farelere oral yola uygulanan 10, 20, 40 ve 60 mg/kg dozlarının genotoksitesi incelenmiştir. Farelerin kemik iliği hücrelerinde bu uygulama sonucunda mitotik indeks değerlerinin 40 ve 60 mg/kg'lık dozlarda azaldığı ve kromozomal anormallik frekanslarının doza bağlı arttığı gözlenmiştir. Sonuçta genotoksik etki gösterdiği bulunmuştur (Rina, Shyam, Pankaj, 2012). Bir başka çalışmada Dexketoprofen trometamol'ün genotoksisite ve sitotoksitesinin 100-1000 µg/mL konsantrasyonlarında düşük ve yüksek konsantrasyonlarının kıyaslanarak sağlıklı insan lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik maruziyetler ile Comet testi ve Mikronükleus (MN) testi ile incelenmesi yapılmıştır. Sonuçta MN testinde 500 ve 750 µg/mL konsantrasyonlarında mikronükleusların baskılandığı ve klastojenik etkiye sebep olduğu gözlenmiştir. Comet testi sonuçlarında ise Dexketoprofen trometamol'ün DNA'da iplik kırıklarına neden olduğu kuyruk uzunluğu ve yoğunluğuna bakılarak tespit edilmiştir. Sonuçta Dexketoprofen trometamol'ün genotoksik olduğu ancak sitotoksik olmadığı sonucuna varılmıştır (Kılıç, 2018).

Başka bir çalışmada ağrı inhibitörü olan amin hidrolaz (FAAH) genotoksitesi insan periferik lenfositlerinde 24 ve 48 saatlik muamelesi KA (75, 150 ve 300 µg/mL) ve MN (450, 900 ve 1800 mg/kg erkek farelerde; 350, 700 ve 1400 mg/kg dişi farelerde) testleri ile incelenmiştir. Sitotoksitesi ise Faz 1 çalışmasıyla FAAH inhibitörü BIA 10-2474'nin mutajenitesinin *E. coli* bakterisi kullanılarak AMES testi uygulamasıyla incelenmiştir. AMES testi negatif sonuç verirken KA ve MN test sonuçları genotoksisite varlığını kanıtlamıştır (Hayes ve diğerleri, 2020).

3. MATERYAL METOT

3.1. Materyal

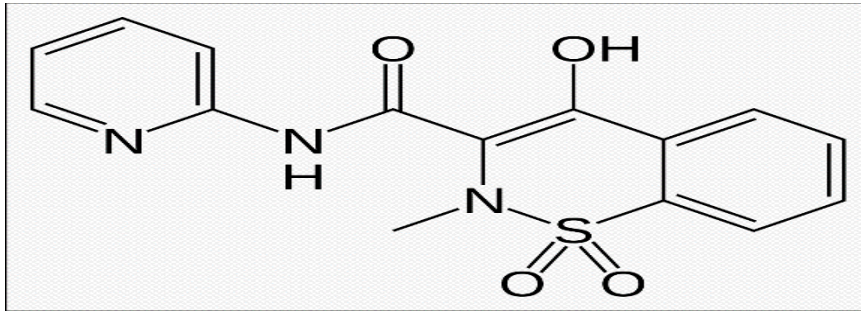
Bu çalışmada analjezik ilaç etken maddeleri olarak kullanılan Piroksikam'ın ve Tenoksikam'ın genotoksik etkileri incelenmiştir. Piroksikam'ın ve Tenoksikam'ın genotoksik etkilerinin değerlendirilmesi amacıyla kültüre edilmiş insan periferik lenfosit hücreleri kullanılmıştır. Bu amaçla iki kadın donörden periferik kan alınmıştır. Donörlerin belirlenmesindeki kriterler şu şekildedir: Hiçbir sağlık probleminin bulunmaması, tütün ürünü ve alkol kullanılmaması, 18-25 yaş aralığında olması ve en az üç ay süre ile herhangi bir genotoksik ajana maruz kalmamış olunması. İlaç etken maddelerinin hazır ticari formları satın alınarak kullanılmıştır.

Bu çalışma Amasya Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Etik Kurulu'nun 3 Haziran 2021 tarihli 86 karar numaralı izni ile gerçekleştirilmiştir (EK-1).

3.1.1. Test materyali

Piroksikam

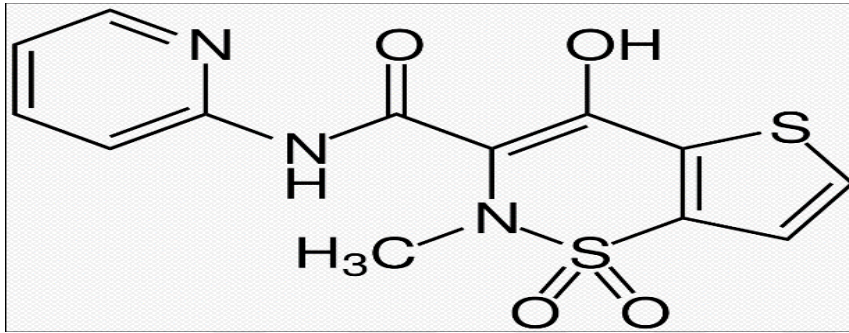
Molekül ağırlığı	: 331,348 g/mol
CAS No	: 36322-90-4 (Sigma-Aldrich)
Yapısal formülü	: Şekil 3.1'de gösterilmiştir.
Kimyasal formülü	: C ₁₅ H ₁₃ N ₃ O ₄ S ₁
Yarılanma süresi	:30-86 saat



Şekil 3.1. Piroksikam'ın yapısal formülü (Zan, 2007).

Tenoksikam

Molekül ağırlığı	: 337,376 g/mol
CAS No	: 59804-37-4 (Sigma-Aldrich)
Yapısal formülü	: Şekil 3.2’de gösterilmiştir.
Kimyasal formülü	: C ₁₃ H ₁₁ N ₃ O ₄ S ₂
Yarılanma süresi	: 30-140 saat



Şekil 3.2. Tenoksikam’ın yapısal formülü (Akata, 2022).

Çalışmada kullanılan diğer kimyasallar

Besiyeri (LymphoPlus, Complete Medium for Peripheral Blood Lymphocytes Cat. No: CY100-100), Mitomisin C (Cas No: 200-008-6), sitokalsin B (Cas No: 14930-96-2), Giemsa (Lot: HX44195604) ve Etallan (Lot: HX16597461) Sigma-Aldrich’den alınmıştır.

3.2. Metot

NSAİİ grubu analjezik ilaç etken maddesi olan Piroksikam’ın ve Tenoksikam’ın genotoksik etkileri iki farklı genotoksisite testi kullanılarak değerlendirilmiştir. Uygulanan testler Kromozomal Anormallik Testi (KA) ve Mikronükleus Testi (MN)’dir.

3.2.1. Çalışmada kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi

Bu çalışmada, hem Kromozomal Anormallik (KA) hem de Mikronükleus (MN) testlerinde kullanılan konsantrasyonların belirlenmesinde o maddenin literatürde geçen deney hayvanlarıyla yapılan çalışmalarda belirlenen LD50 konsantrasyonları referans alınmıştır (Çizelge 3.1) (Erden, 2016; Atkoşar, 2014). Bu konsantrasyonlar baz alınarak çalışmada

kullanılacak konsantrasyonların belirlenmesi amacıyla ön denemeler yapılmıştır. Piroksikam'ın 120, 60, 30, 15, 7,5; 3,75; 1,88; 0,94; 0,47; 0,23 µg/mL'lik konsantrasyonları denenmiş ve sonuçta 3,75; 1,88; 0,94; 0,47; 0,23 µg/mL'lik konsantrasyonlar seçilmiştir. Tenoksikam'ın 40, 20, 10, 5, 2,5, 1,25; 0,63; 0,31 µg/mL'lik konsantrasyonları denenmiş ve sonuçta 10, 5, 2,5, 1,25; 0,63 µg/mL'lik konsantrasyonlar seçilmiştir.

Çizelge 3.1. Piroksikam ve Tenoksikam için LD50 dozları.

İLAÇ ETKEN MADDESİ	CANLI TÜRÜ	UYGULAMA ŞEKLİ	LD 50 DOZU	KAYNAKLAR
PİROKSİKAM	FARE	Oral	317 mg/kg	(Erden, 2016).
	RAT	Oral	216 mg/kg	
TENOKSİKAM	FARE	Oral	279mg/kg	(Atkoşar, 2014).
	RAT	Oral	79 mg/kg	

3.2.2. Kültüre edilmiş insan lenfositlerinde kromozomal anormallik (KA) testi

Kromozomal anormallik (KA) testinin uygulamasında Evans ve arkadaşlarının (1984) metodunun çeşitli revizelerine [86,87] göre deney prosedürü gerçekleştirilmiştir. Belirli kriterlere göre seçilen alkol ve sigara bağımlılığı olmayan, kronik hastalığı bulunmayan 30 yaş altı genç yetişkin, sağlıklı, iki kadın donörlerden kan heparinize edilerek alınmıştır. Heparinize edilmiş kandan DPBS ve Tripsin-EDTA içeren besi yeri bulunan tüplere her bir tüpe 0,2 mL olacak şekilde ekilmiştir. Kültüre başlanmasının ardından 24 saat ve 48 saat sonra Piroksikam ve Tenoksikam ilaç etken maddelerinin yukarıda belirtilmiş olan konsantrasyonlarıyla hücrelere muamele edilmiştir. Öte taraftan distile su negatif kontrol ve 0,20 µg/mL konsantrasyonundaki Mitomisin-C (MMC) ise pozitif kontrol olacak şekilde deneye dahil edilmiştir. Piroksikam için çözücü kontrol olarak 4,81 µg/mL konsantrasyonunda DMSO, Tenoksikam için çözücü kontrol olarak 3,70 µg/mL konsantrasyonunda metanol kullanılmıştır. Kültürün başlamasının ardından 70. saat geçtiğinde ise her bir tüpe 0,06 µg/mL kolşisin çözeltisinden ilave edilmiştir. Bu işlemin amacı hücreleri metafazda tutuklamak için ön işleme tabi tutmaktır. 72. saatin bitiminde ise kültür işlemi sona erdirilmiştir. Bu amaçla öncelikli olarak her bir tüp 1200rpm'de 10 dakika santrifüj edilmiştir. Santrifüj işleminden sonra süpernatant uzaklaştırılmıştır. Ardından kalan kısım üzerine KCl (0.075M) çözeltisi eklenmiştir. Tüpler, KCl çözeltisi ile yaklaşık 30 dakika 37°C'de etüvde inkübasyona bırakılmıştır. 30 dakika sonunda yeniden santrifüj işlemi gerçekleştirilmiştir. Süpernatantın tekrar uzaklaştırılmasının ardından hücreler soğuk

fiksatif (3:1 metanol: asetik asit karışımı) ile fikse edilmiştir. Kültür tüpleri bu soğuk fiksatif karışımı ile +4°C'de 45 dakika süresince bekletilmiştir. Sonrasında bu soğuk fiksasyon işlemi 2 tekrar olacak şekilde yeniden uygulanmıştır. Ardından son kez süpernatant uzaklaştırılmasının sonunda her bir tüpün dibinde kalan hücreler, pipetaj ile homojenize edilmiştir. Böylece homojen hale gelen bir süspansiyon hazırlanmış olmuştur. Öncesinde temizliği sağlanmış olan lamaların şalelere dizilerek -20°C'de buzlukta soğutulmuştur. Soğutmanın ardından bu süspansiyonlar soğutulan temiz lamaların üzerine damlatılarak yayılmıştır. Hazırlanması tamamlanmış olan preparatlar bir gün süresince kurutulmuştur.

Preparatların boyanması

Öncesinde oda sıcaklığında bir gün kurumaya bırakılarak kurumaları sağlanmış preparatların hem kromozomal anormalliklerinin hem de mitotik indekslerinin saptanması amacıyla boyanması gerekmektedir. Boya için öncelikle tampon hazırlamak gerekmektedir. Asidik tampon için $\text{Na}_2\text{HPO}_3 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 1,19 gr tartılarak son hacmi 100mL'ye tamamlanır. Bazik tampon için KH_2PO_4 0,91 gr tartılır ve son hacim 100mL'ye tamamlanır. Asidik tampondan 42mL ve bazik tampondan 38 mL tartılarak behere alınıp üzerine 5mL Giemsa boya (Lot: HX44195604 Sigma-Aldrich) eklenir ve karıştırılır. Ardından preparatlar doğrudan 25 dakika pH'ı 6,8 olan %5'lik Giemsa boyası ile boyanmıştır. Preparatlar boyama işlemi sonrasında saf su ile yıkanmıştır. Üç kez yıkama işlemine tabi tutulan preparatlar 90°'ye yakın bir açı ile yerleştirilerek kurumaya bırakılmıştır. Kurduğundan emin olunan preparatların bulunduğu lamaların üzerine etellan damlatılıp üzerlerine yeni lamalar kapatılmıştır. Bu şekilde preparatlar etellan ile sürekli olarak gözlemlenebilir hale getirilmiştir.

Kromozom anormalliklerinin ve mitotik indeksin saptanması

Kromozom anormalliklerinin belirlenmesinde her bir konsantrasyon için kromozomları güzel gözlemlenebilir şekilde konumlanmış durumda olan totalde 400 metafaz (her bir donörden 200 metafaz olmak üzere) incelenmiştir. İncelenmesi yapılan metafazlar arasındaki anormal hücre yüzdesi ile hücre başına düşen kromozom anormalliklerinin miktarı saptanmıştır.

Mitotik indeksin (Mİ) belirlenmesi esnasında var olan bütün konsantrasyonlar için hazırlanan preparatlardan 2000'er hücre (toplam 4000 hücre) incelenmiştir. Mitotik indeks saptanırken bölünen hücre sayısının totaldeki hücre sayısına kıyası yüzde cinsinden hesaplanmıştır (Cemile, Yüzbaşıoğlu ve Ünal, 2014).

[BH/N] (BH bölünebilen hücrelerin sayısını N ise toplam hücre sayısını ifade etmektedir.) formülü kullanılarak hesaplanmıştır.

3.2.3. Kültüre edilmiş insan periferik lenfositlerinde mikronükleus (MN) testi

Mikronükleus (MN) testi uygulaması ise Fenech ve arkadaşlarının (Fenech, 2020) metodu revize edilerek gerçekleştirilmiştir. Bu amaçla ilk olarak her bir donörden pıhtılaşma olmaması amacıyla heparinize edilerek kan alınmıştır ve içerisinde besi yeri bulunan her bir tüpe 0,2 mL ilave edilmiştir. Ardından bu tüplerin her biri 37°C'de etüvde 72 saat sürecek inkübasyona bırakılmıştır.

Kültürün 24. saatine gelindiğinde kültürdeki hücrelere Piroksikam'ın ve Tenoksikam'ın yukarıda belirtilmiş olan konsantrasyonları ile muamele edilmiştir. Ek olarak negatif kontrol (distile su), pozitif kontrol (0,20 µg/ml MMC) ve çözücü kontrol (Piroksikam için 4,81 µg/ml DMSO, Tenoksikam için 3,70 µg/ml metanol) ile muamele edilmişlerdir. 44. saate gelindiğinde ise sitokalsin-B (5,2 µg/ml) kültüre ilave edilmiştir. Bunun amacı sitokinezi engellemektir. 72. saatin dolmasının ardından her bir tüp 1000 rpm'de santrifüj edilmiş ve süpernatantlar uzaklaştırılmıştır. Arda kalan kısma soğuk olan KCl solüsyonu ile +4°C'de 5 dakika muamele edilmiştir. Tüpler tekrar santrifüj edilerek süpernatant kısmı atılmıştır. Tüplerin herbirine 5'er mL 3:1 oranında metanol: asetik asit ile hazırlanmış olan soğuk fiksatif eklenmiştir. Buzdolabında 15 dakika süresince bekletilmiştir. Fiksasyon aşaması 3 kez tekrar edilmiştir. Son olarak 3. Fiksatife %1'lik formaldehit çözeltisi eklenmiştir. Tüplerin son kez santrifüj edilmesinin ardından tüplerde kalan süpernatant uzaklaştırılmıştır. Arda kalan hücre süspansiyonu pipetaj uygulaması ile homojen hale getirilmiştir.

Öncesinden temizlenerek soğumaya bırakılan lamalar üzerine hazırlanan bu homojen hücre süspansiyonları 15-20cm yükseklikten damlatılarak yayılmaları sağlanmıştır. Hazırlığı tamamlanan preperatların her biri oda sıcaklığında bir gün süresince kurumaya bırakılmıştır.

Preparatların boyanması

Mikronükleus (MN) testi için hazırlığı tamamlanan preparatların her biri Giemsa (%5'lik, pH=6,8) boyası ile 15 dakika süresince boyanmıştır. Distile su serisinde 3 tekrarlı yıkanması sağlanan preparatlar oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Kuruma işleminin ardından lamların üzerine etellan damlatılmıştır. Ardından temiz bir lam ile kapatılarak oda sıcaklığında kurumaya bırakılmıştır. Bu şekilde preparatlar etellan ile daimi hale getirilmişlerdir.

Mikronükleus (MN)'un ve nükleer bölünme indeksi (NBİ)'nin saptanması

Mikronükleusun belirlenmesinde karyokinezi tamamlanmış ama sitokinezi (sitokalsin-B ile) engellenmiş çift çekirdek içeren (binükleat) hücreler incelenmektedir. Bunun sebebi binükleat hücrelerin kimyasal ile muamelesinin ardından genotoksisitesi incelenmek istenen bölünme geçirmiş hücreler olmasıdır. Bu sayede binükleat hücrelerde saptanan anormalliklerin Piroksikam ya da Tenoksikam muamelesinden kaynaklanarak meydana geldiği bilinecektir. Mikronükleusların belirlenmesi için her bir preparattan 2000 adet olmak üzere toplamda her bir konsantrasyon için 4000 adet binükleat sayımı yapılmıştır.

Binükleat içeren hücreler mikronükleusun varlığı ya da yokluğu konusunda incelenmiştir. Eğer mikronükleus olduğu kanısına varılmışsa mikronükleuslu hücreler kaç adet mikronükleus içerdikleri konusunda araştırılmıştır. Hücreler tek mikronükleuslu, çift mikronükleuslu, üç mikronükleuslu veya daha fazla olacak şekilde sınıflandırılıp sayılarak hücre başına düşen MN sayısının (MN/Hücre) hesaplamaları yapılmıştır. Hesaplama için $1x(1MN)+2x(2MN)+3x(3MN+4MN)/N$ formülü kullanılmıştır. Burada N ifadesi incelenen tüm hücrelerin toplam sayısını kastetmektedir (Palus ve diğerleri, 2003).

Nükleer bölünme indeksi (NBİ) saptanırken her bir konsantrasyonda her bir donörden 1000 toplamda ise 2000 hücre sayımı yapılmıştır. Hücreler tek çekirdekli (1N), çift çekirdekli (2N), üç (3N) ya da dört çekirdekli (4N) hücreler şeklinde ayrımları yapılarak sayılmıştır. Sayım sonunda NBİ hesaplaması gerekli formüle uygun bir biçimde yapılmıştır. Formül $1x(1N)+ 2x(2N)+3x(3N+4N)/n$ şeklindedir ve n ile kastedilen sayılan toplam hücre sayısıdır (Cemile ve diğerleri, 2014).

3.2.4. İstatistiksel analizler

Bu çalışmada, kromozom anormallik (KA) testinde yer alan kontrol ve uygulama yapılan her bir konsantrasyon grubundan elde edilen sonuçlara göre hem hücre başına düşen kromozomal anormalliklerin hem de anormal hücre yüzdesinin sonuçları ile MN/hücre, Mİ ve NBİ değerleri z-testi ile analiz edilmiştir. Diğer bir taraftan kontrol grubuna kıyasla önemli değişim olduğu saptanan uygulama grupları için de SPSS 25.0 bilgisayar programı ile regresyon analizi uygulanmıştır. Bunun amacı konsantrasyon ile etki arasındaki ilişkinin değerlendirilmesidir (Cemile ve diğerleri, 2014).



4. BULGULAR

4.1. Piroksikam Uygulaması

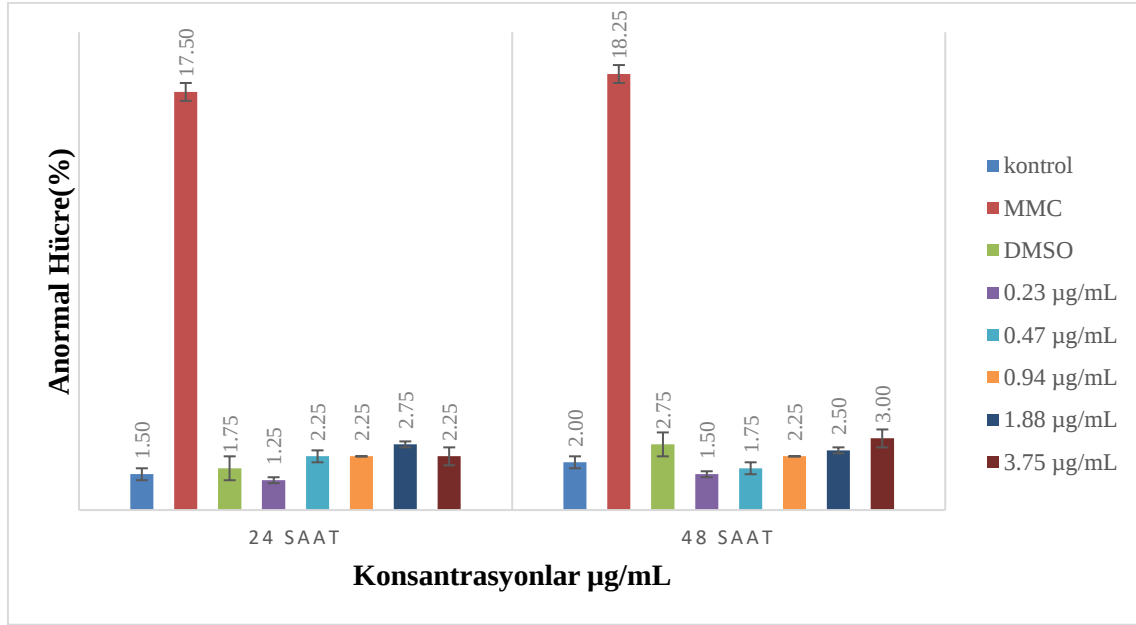
4.1.1. Kromozomal anormallik (KA) testi bulguları

Kültüre edilmiş insan lenfositlerine Piroksikam'ın 24 ve 48 saat süreyle muamele edilmesi sonucu tespit edilen yapısal anormallikler kromatit kırığı (%29,82), kromozom kırığı (%25,44), kardeş kromatidlerde birleşme (%9,65), disentrik kromozom (%15,79), fragment (%4,39) ve kromatit değişimi (%14,91)'dir (Çizelge 4.1). Piroksikam uygulaması sonucu sayısal anormalliğe rastlanmamıştır. Tüm sonuçlar Çizelge 4.1'de verilmiş olup Piroksikam muamelesinin hem 24 hem de 48 saatlik uygulamalarında anormal hücre yüzdesini kontrole göre herhangi bir konsantrasyonda anlamlı oranda artırmadığı görülmüştür. Benzer şekilde hücre başına düşen anormallik sayısının da hem kontrol hem de çözücü kontrole göre yine herhangi bir konsantrasyonda istatistiksel olarak artmadığı görülmektedir (Çizelge 4.1, Şekil 4.1 ve Şekil 4.2).

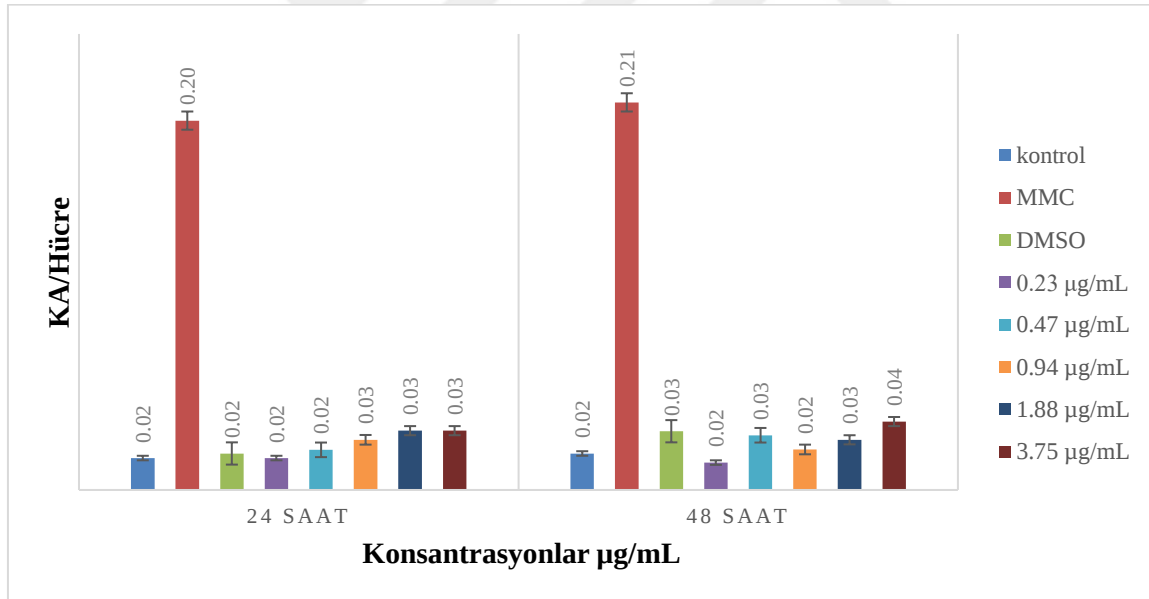
Çizelge 4.1. Piroksikam uygulaması ile insan periferik lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler ve frekansları

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler							Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Ktk	Kzk	kbb	Ds	Ktd	F			
Kontrol	24	0.00	5	-	-	-	2	-	1.50±0.60	0.0175±0.0489	
MMC	24	0.20	6	2	1	6	65	1	17.50±1.8	0.2025±0.2213	
DMSO	24	4,81 (µl/mL)	1	1	1	2	3	-	1.75±0.64	0.0200±0.0700	
		0.23	1	2	-	2	1	1	1.25±0.54	0.0175±0.0489	
		0.47	1	2	-	3	3	-	2.25±0.73	0.0220±0.0700	
		0.94	2	3	1	3	1	1	2.25±0.73	0.0275±0.0700	
		1.88	3	4	1	3	1	1	2.75±0.81	0.0325±0.0860	
		3.75	4	4	3	2	-	-	2.25±0.73	0.0325±0.0860	
Kontrol	48	0.00	3	1	1	-	2	1	2,00±0.70	0.0200±0.0700	
MMC	48	0.20	3	2	1	8	69	2	18.25±1.9	0.2125± 0.2236	
DMSO	48	4,81 (µl/mL)	2	4	1	-	5	1	2.75±0.81	0.0322±0.0860	
		0.23	2	2	-	1	1	-	1.50±0.60	0.0150±0.0489	
		0.47	3	4	1	1	2	1	1.75±0.64	0.0300±0.0860	
		0.94	3	3	1	-	2	-	2.25±0.73	0.0222±0.0700	
		1.88	3	3	2	2	1	-	2.50±0.77	0.0275±0.0700	
		3.75	4	2	2	1	5	1	3,00±0.84	0.0375±0.0860	
Kromozomal											
Anormallik			29,8	25,4	9,65	15,79	14,91	4,39			
Yüzdesi			2	4							

Ktk: kromatit kırığı, Kzk: kromozom kırığı, Kkb: kardeş kromatitlerde birleşme, Ds: disentrik kromozom, Ktd: kromatit değişimi, F: fragment, SH: standart hata, KA: kromozomal anormallik



Şekil 4.1. Piroksikam 24 ve 48 saatlik muamelesinin insan lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi



Şekil 4.2. Piroksikam 24 ve 48 saatlik muamelesinin insan periferik lenfositlerindeki hücre başına düşen anormallik frekansı üzerine etkisi

Piroksikam mitotik indeksi her iki uygulama süresinde de kontrol ve çözücü kontrole göre en yüksek iki konsantrasyonda (1,88 ve 3,75 $\mu\text{g/mL}$) anlamlı oranda düşürmüştür. Bu düşüş konsantrasyona bağlı olarak gerçekleşmemiştir 24 saat için $r=-0,14$, 48 saat için $r=-0,24$) (Çizelge 4.2, Şekil 4.3).

Çizelge 4.2. Piroksikam uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri

Test maddesi	Uygulama		Mİ
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/mL)	Mİ±SH %
Kontrol	24	0,00	6,78 ± 0,40
Çözücü kontrol (DMSO)	24	4,81 (µl/mL)	6,53 ± 0,39
MMC	24	0,20	3,25 ± 0,28
Piroksikam	24	0,23	6,88 ± 0,40
		0,47	6,48 ± 0,39
		0,94	5,75 ± 0,37
		1,88	5,25 ± 0,35**a
		3,75	2,53 ± 0,25***c
Kontrol	48	0,00	6,68 ± 0,39
Çözücü kontrol (DMSO)	48	4,81 (µl/mL)	6,28 ± 0,38
MMC	48	0,20	3,00 ± 0,27
Piroksikam	48	0,23	6,55 ± 0,39
		0,47	6,23 ± 0,38
		0,94	5,68 ± 0,37
		1,88	5,20 ± 0,35** a
		3,75	3,18 ± 0,28*** c

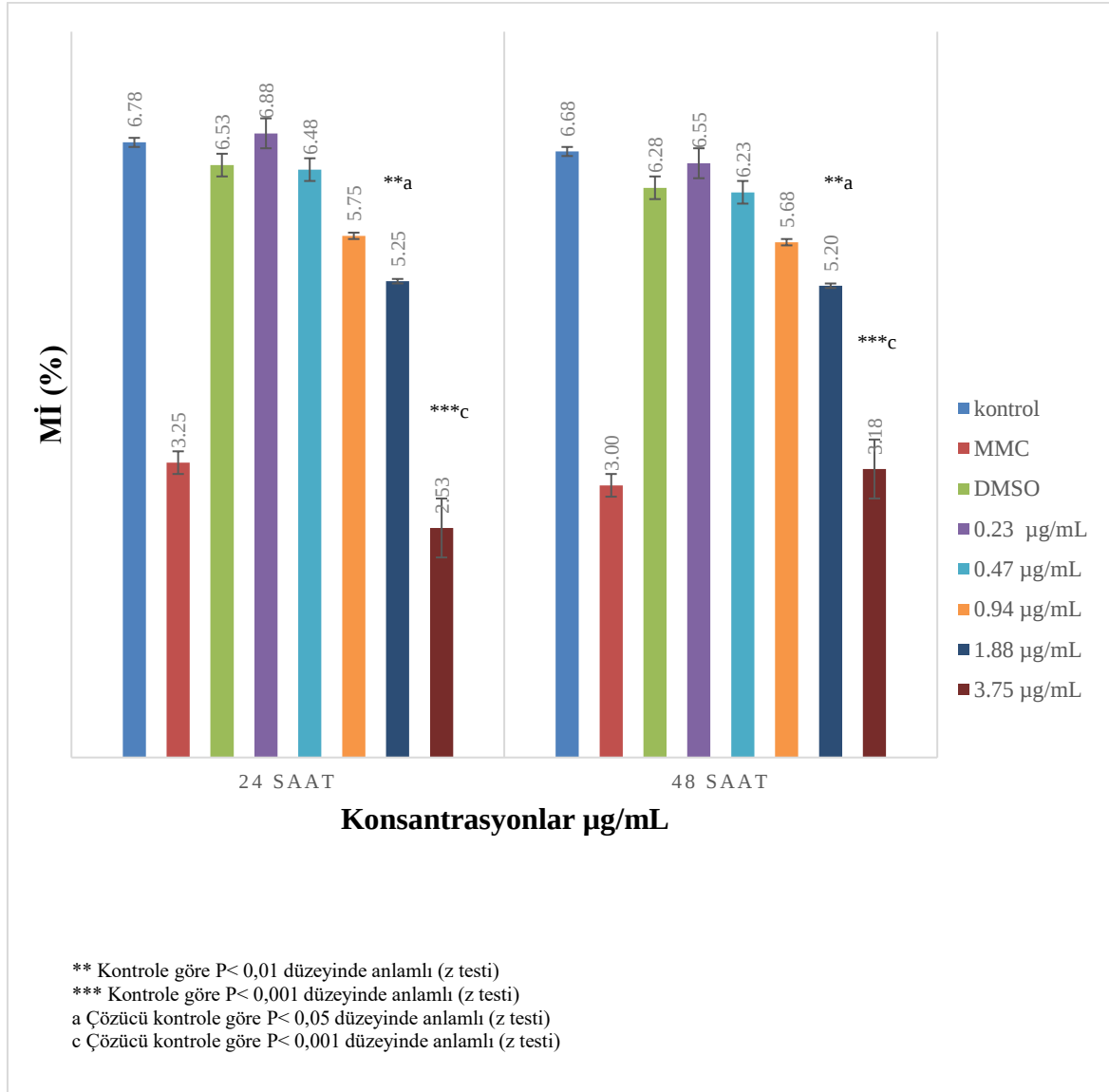
Mİ: mitotik indeks, SH: standart hata.

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

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

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

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



Şekil 4.3. Piroksikam 24 ve 48 saat uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri

4.1.2. Mikronükleus (MN) testi bulguları

Piroksikamın insan periferik lenfositlerinde belirtilen konsantrasyonlarda meydana getirdiği MN'lere ilişkin bulgular Çizelge 4.3.'deki gibidir. Buna göre Piroksikam MN frekansını en yüksek üç konsantrasyonunda (0,94; 1,88 ve 3,75 $\mu\text{g/mL}$) kontrole kıyasla artırmıştır. Görülen bu artış konsantrasyonla kuvvetli korelasyon göstermektedir ($r=0,96$). Çözücü kontrole göre MN frekansında herhangi bir istatistikî farklılık tespit edilmemiş, ek olarak Piroksikam uygulaması NBI değerlerinde de bir değişikliğe sebep olmamıştır.

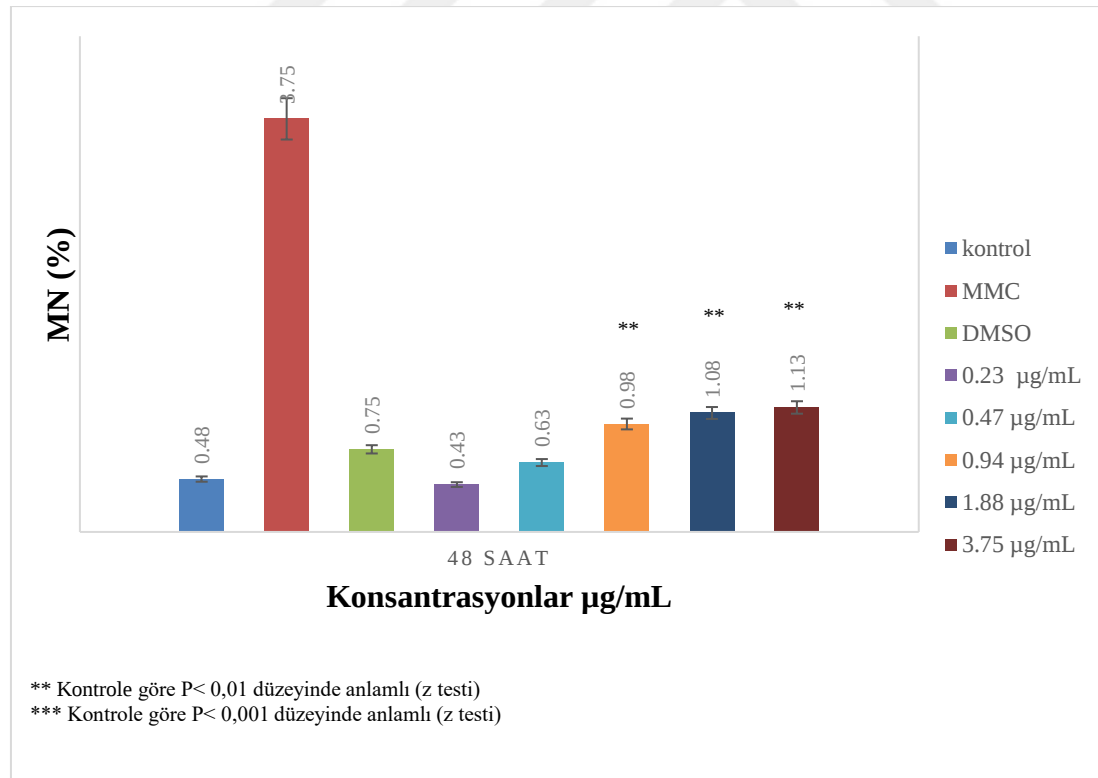
Çizelge 4.3. Piroksikam'ın insan lenfositlerinde mikronükleus frekansları ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi

Test maddesi	Uygulama		Sayılan binükleat hücre sayısı	BN hücreler içinde mikronükleus frekansları			MN $\pm$ SH (%)	Nükleer Bölünme İndeksi (NBI) $\pm$ SH
	Süre (saat)	Konsantrasyon ($\mu\text{g/mL}$)		(1)	(2)	(3)		
Kontrol	48	0.00	4000	19	-	-	0.48 $\pm$ 0.11	0.73 $\pm$ 0.19
MMC	48	0.20	4000	138	-	-	3.45 $\pm$ 0.30	0.67 $\pm$ 0.18
DMSO	48	4,81($\mu\text{l/mL}$)	4000	30	-	-	0.75 $\pm$ 0.14	0.69 $\pm$ 0.18
			4000	18	-	-	0.43 $\pm$ 0.10	0.75 $\pm$ 0.19
		0.23	4000	25	-	-	0.63 $\pm$ 0.12	0.76 $\pm$ 0.19
		0.47	4000	39	-	-	0.98 $\pm$ 0.16**	0.74 $\pm$ 0.19
		0.94	4000	43	-	-	1.08 $\pm$ 0.16**	0.74 $\pm$ 0.19
		1.88	4000	45	-	-	1.13 $\pm$ 0.17***	0.77 $\pm$ 0.19
		3.75						

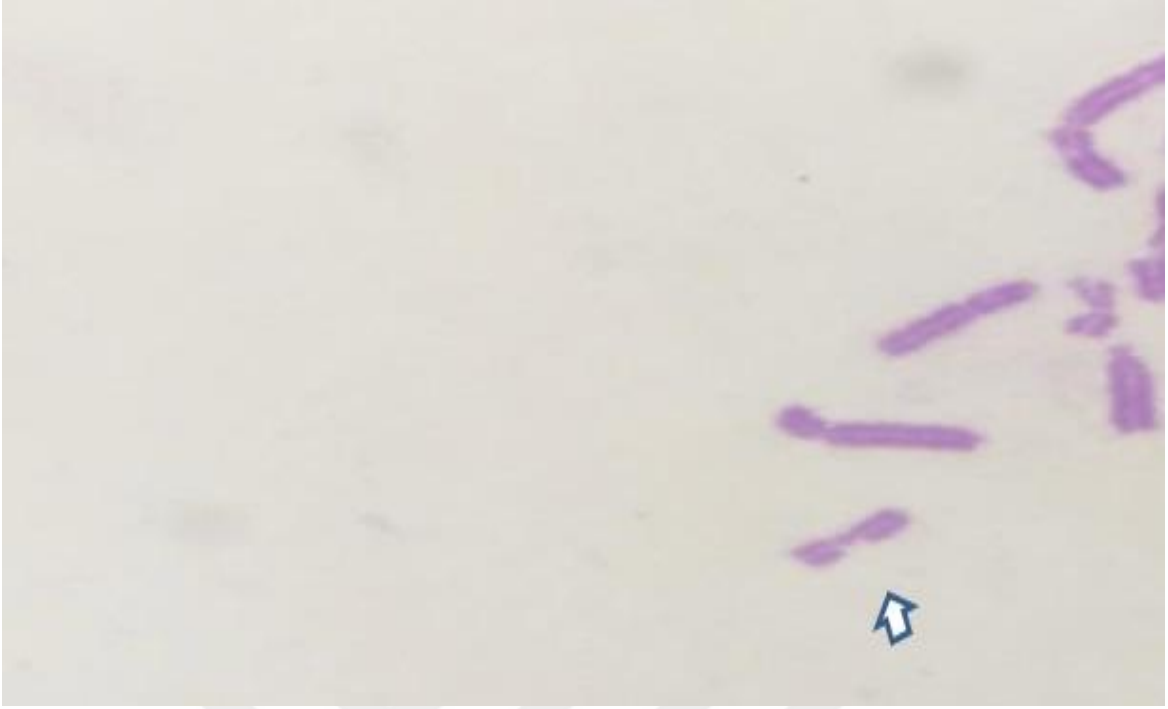
MN: mikronükleus SH. standart hata, BN: binükleat

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

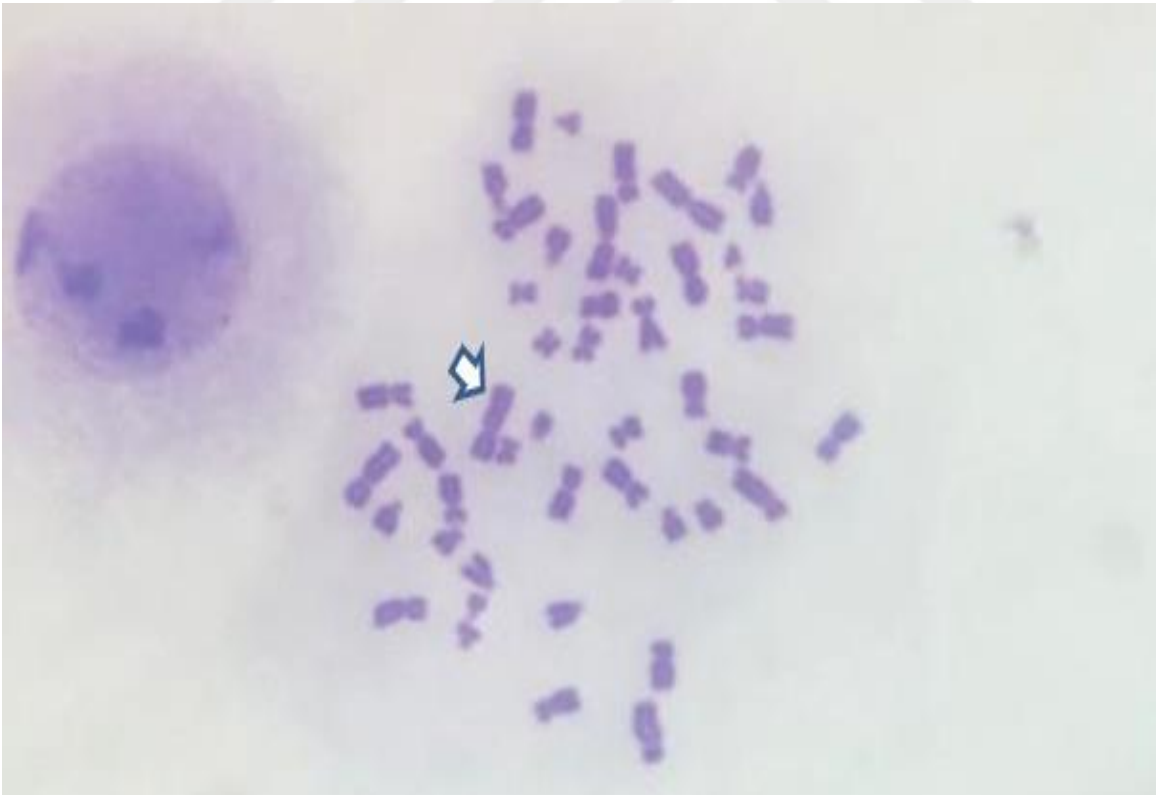
*** Kontrole göre $P < 0,001$ düzeyinde anlamlı (z testi)



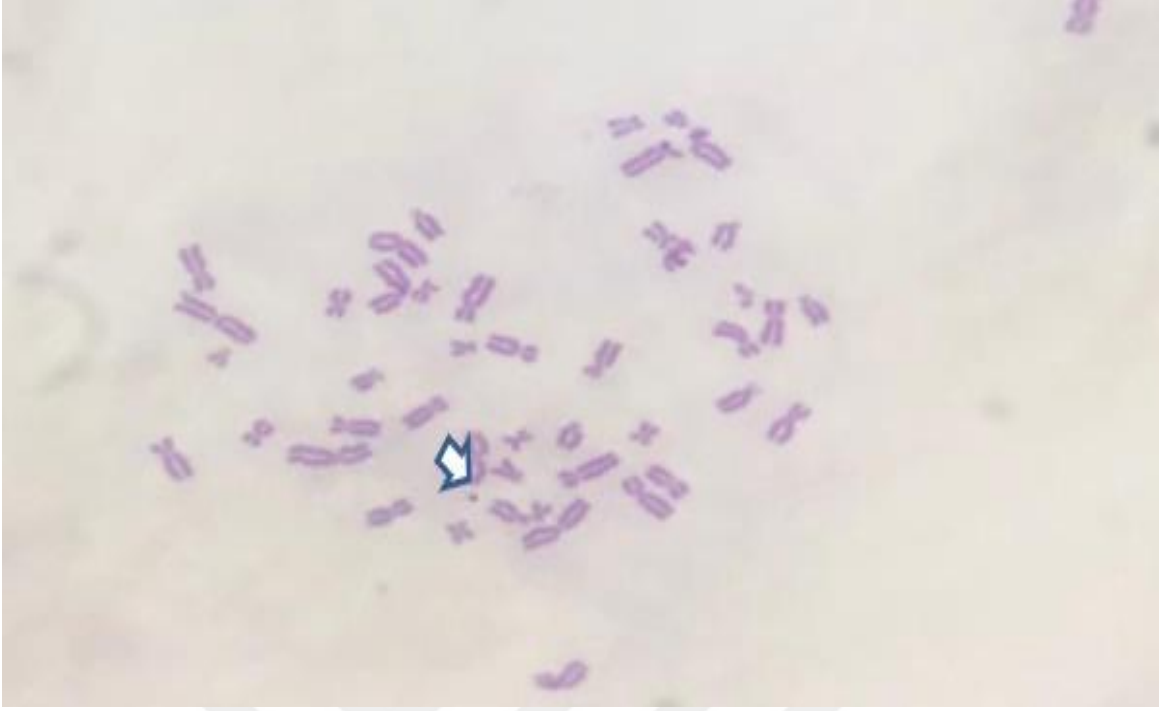
Şekil 4.4. Piroksikam ile 48saat muamele edilmiş insan lenfositlerindeki mikronükleus hücre frekansı



Resim 4.1. Piroksikam'ın 24 saatlik muamelesinde 1,88µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen kromatit kırığı.



Resim 4.2. Piroksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 3,75µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen disentrik kromozom.



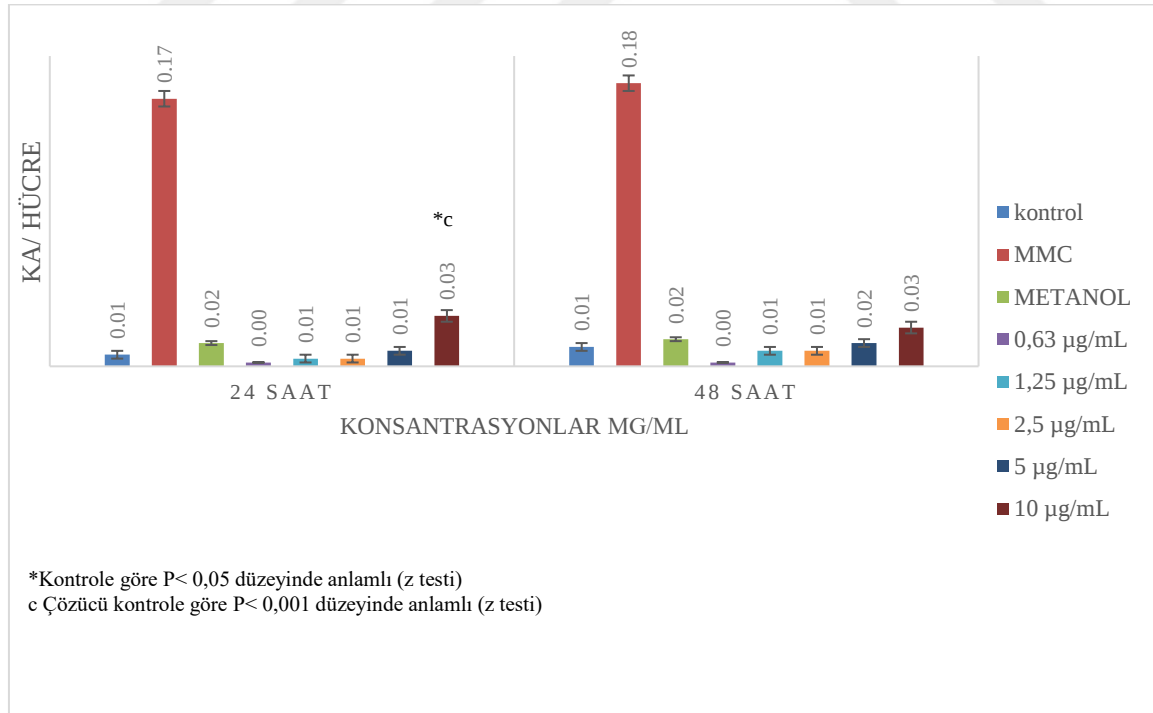
Resim 4.3. Piroksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 3,75µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen fragment.



Resim 4.4. Piroksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 0,94µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen kromatit değişimi.

4.2. Tenoksikam Uygulaması

Kültüre edilmiş insan lenfositlerine Tenoksikamın 24 ve 48 saat süreyle muamele edilmesi sonucu tespit edilen yapısal anormallikler görülme sıklığına göre sırasıyla kromatit kırığı (%34), kromozom kırığı (%26) kardeş kromatidlerde birleşme (%24), disentrik kromozom (%8), fragment (%6) ve kromatit değişimi (%2)'dir (Çizelge 4.4). Tenoksikam uygulaması sonucu sayısal anormalliğe rastlanmamıştır. Tüm sonuçlar Çizelge 4.4'de verilmiş olup Tenoksikam muamelesinin 24 saatlik uygulamada anormal hücre yüzdesini kontrole göre yalnızca en yüksek konsantrasyonda (10 µg/mL) anlamlı oranda artırdığı görülmüştür. Benzer şekilde hücre başına düşen anormallik sayısının da hem kontrol hem de çözücü kontrole göre yine yalnızca en yüksek konsantrasyonda (10 µg/mL) istatistiksel olarak önemli derecede arttığı görülmektedir. Söz konusu bu artışlar konsantrasyona bağlı olarak gerçekleşmiştir (24 saat için anormal hücre yüzdesi ve hücre başına düşen anormallik $r=0,80$). Buna karşın 48 saatlik Tenoksikam uygulaması hiçbir konsantrasyonda, hücre başına düşen kromozomal anormallik frekansını ve anormal hücre yüzdesini anlamlı oranda etkilememiştir (Çizelge 4.4, Şekil 4.5 ve Şekil 4.6).



Şekil 4.5. Tenoksikam 24 ve 48 saatlik muamelesinin insan periferik lenfositlerindeki hücre başına düşen anormallik frekansı üzerine etkisi

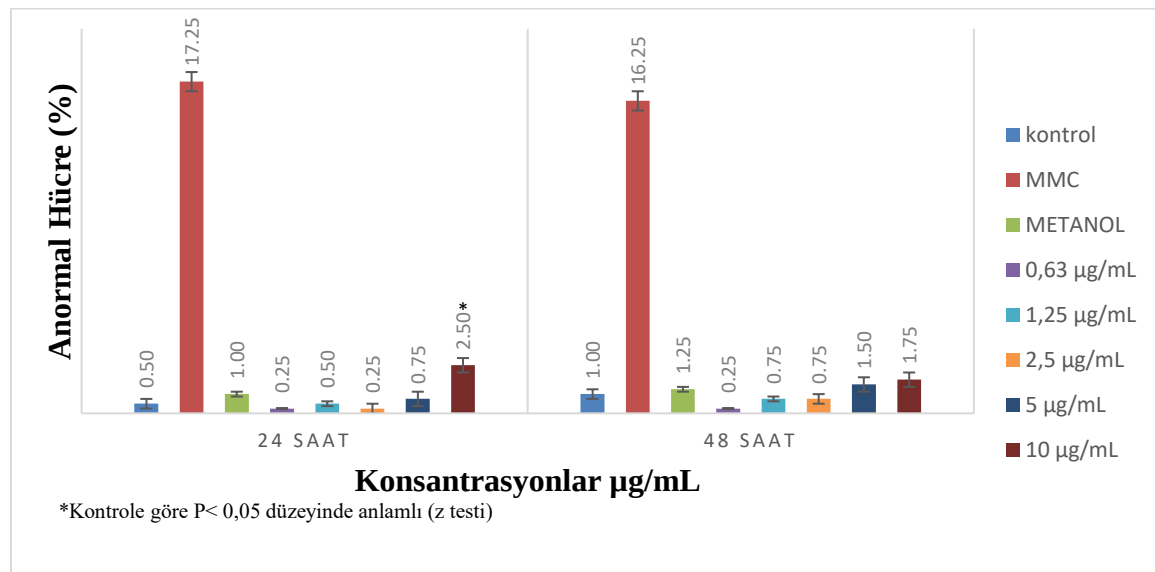
Çizelge 4.4. Tenoksikam uygulaması ile insan periferik lenfositlerinde oluşan kromozomal anormallikler ve frekansları

Test maddesi	Uygulama		Anormallikler							Anormal hücre ± SH (%)	KA/Hücre ± SH
	Süre (saa)	Konsantrasyon (µg/mL)	Ktk	Kzk	Kkb	Ds	Ktd	F			
Kontrol	24	0.00	3	-	-	-	-	-	0.50 ±0.353	0.0075±0.0043	
MMC	24	0,20	31	18	10	11	-	3	17.25±1.890	0.1825±0.0193	
Metanol	24	3,70	3	-	-	3	-	-	1,00 ±0.498	0.0150±0.0061	
		(µl/mL)	-	1	-	-	-	-	0.25 ±0.250	0.0025±0.0025	
		0.63	-	2	-	-	-	-	0.50 ±0.353	0.0050±0.0035	
		1.25	-	-	1	1	-	-	0.25 ±0.250	0.0050±0.0035	
		2.50	1	2	1	-	-	-	0.75 ±0.431	0.0100±0.0048	
		5,00	6	2	1	1	-	3	2.50 ±0.781*	0.0325±0.0089*c	
10,00											
Kontrol	48	0.00	3	1	1	-	-	-	1,00±0.498	0.0125±0.0055	
MMC	48	0,20	37	10	21	5	-	-	16.25±1.840	0.1825 ±0.0193	
Metanol	48	3,70 (µl/mL)	-	-	-	2	5	-	1.25±0.550	0.0175±0.0065	
		0.63	-	-	1	-	-	-	0.25±0.062	0.0025±0.0024	
		1.25	1	1	2	-	-	-	0.75±0.431	0.0100±0.0350	
		2.50	1	1	1	1	-	-	0.75±0.431	0.0100±0.0350	
		5,00	2	2	2	-	-	-	1.50±0.607	0.0150±0.0060	
		10,00	3	2	3	1	1	-	1.75±0.429	0.0250±0.0078	
Kromozomal Anormallik			34,00	26,00	24,00	8,00	2,00	6,00			
Yüzdesi (%)											

ktk: kromatid kırığı, kzk: kromozom kırığı, kkb: kardeş kromatidlerde birleşme, ds: disentrik kromozom, ktd: kromatit değişimi, f: fragment, SH: standart hata, KA: kromozomal anormallik

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

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



Şekil 4.6. Tenoksikam 24 ve 48 saatlik muamelesinin insan lenfositlerindeki anormal hücre yüzdesi üzerine etkisi

Tenoksikam 24 saatlik uygulama süresinde mitotik indeksi kontrole göre en düşük konsantrasyon hariç (0,63 µg/mL) diğer tüm konsantrasyonlarda azaltmıştır ancak bu azalış konsantrasyona bağlı değildir ($r=-0,31$). Çözücü kontrole göre ise en yüksek üç konsantrasyonda mitotik indeks önemli oranda düşmüştür.

48 saatlik muamelesinde ise benzer şekilde en düşük konsantrasyon (0,63 µg/mL) hariç diğer tüm konsantrasyonlarda mitotik indeks kontrole göre önemli düşüş göstermiştir. Ancak çözücü kontrole göre ise sadece en yüksek konsantrasyonda anlamlı azalış söz konusudur. Mİ değerlerindeki düşüşün konsantrasyonla ilişkisi ise zayıftır ($r=-0,42$) (Çizelge 4.5, Şekil 4.7).

Çizelge 4.5. Tenoksikam uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri

Test maddesi	Uygulama		Mİ
	Süre (saat)	Konsantrasyon (µg/ml)	Mİ±SH %
Kontrol	24	0,00	7,00 ± 0,40
Çözücü kontrol (Metanol)	24	3,70 (µl/mL)	6,68 ± 0,39
MMC	24	0,20	3,40 ± 0,29
Tenoksikam	24	0,63	6,50 ± 0,39
		1,25	5,80 ± 0,37*
		2,50	5,58 ± 0,36**a
		5,00	5,23 ± 0,35**b
		10,00	3,63 ± 0,30***c
Kontrol	48	0,00	7,25 ± 0,41
Çözücü kontrol (Metanol)	48	3,70 (µl/mL)	6,38 ± 0,39
MMC	48	0,20	3,90 ± 0,31
Tenoksikam	48	0,63	6,25 ± 0,38
		1,25	5,88 ± 0,37*
		2,50	5,60 ± 0,36**
		5,00	5,48 ± 0,36**
		10,00	4,20 ± 0,32*** c

Mİ: mitotik indeks, SH: standart hata

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

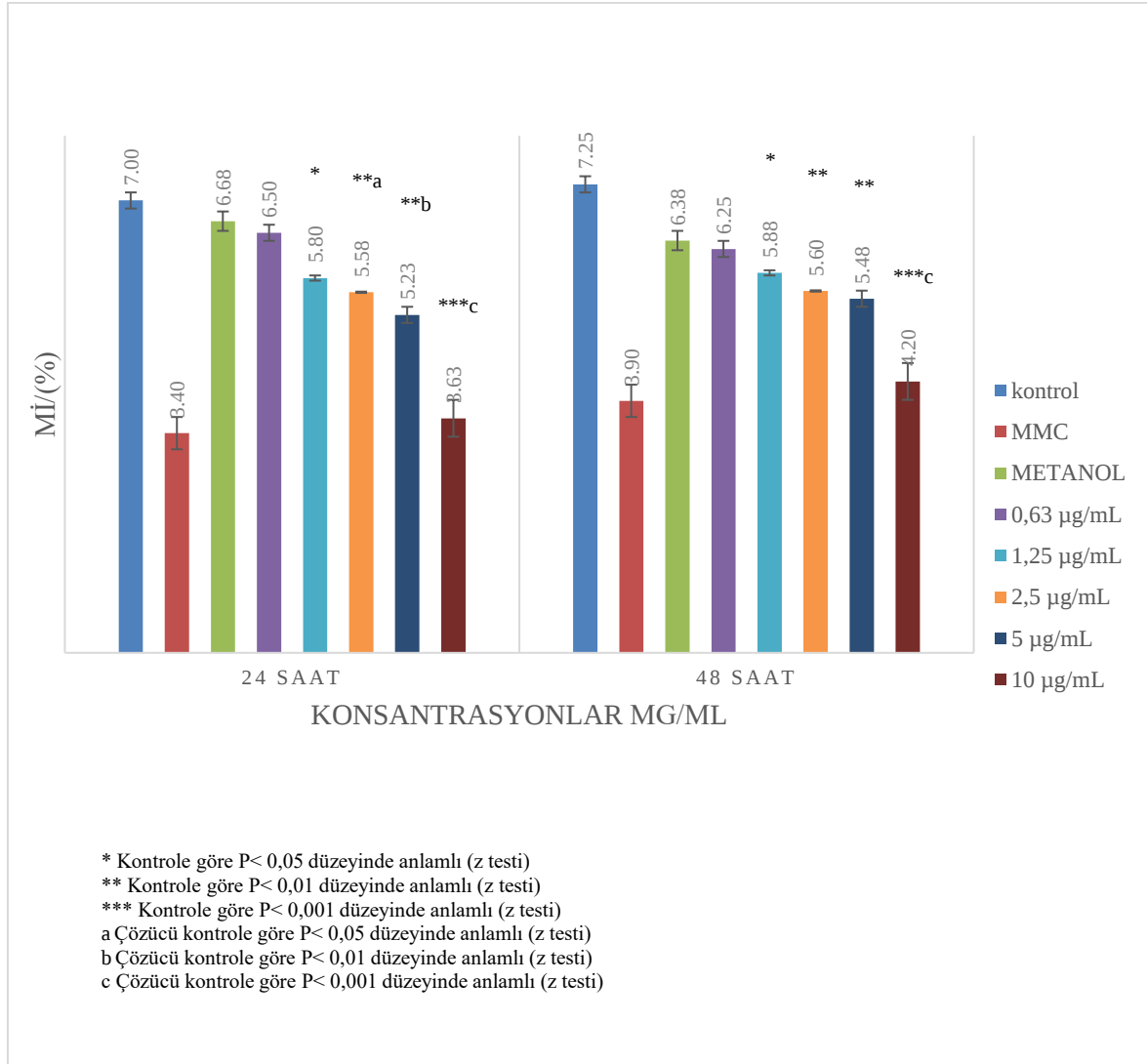
** Kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)

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

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

b Çözücü kontrole göre $P < 0,01$ düzeyinde anlamlı (z testi)

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



Şekil 4.7. Tenoksikam 24 ve 48 saatlik uygulaması sonucu lenfositlerde görülen mitotik indeks değerleri

4.2.1. Mikronükleus (MN) uygulaması

Tenoksikamın insan periferik lenfositlerinde mikronükleus testi ile genotoksitesinin incelendiği çalışmanın sonuçları Çizelge 4.6.'daki gibidir. Buna göre Tenoksikam, kullanılan mikronükleus sıklığını kontrole göre en yüksek üç konsantrasyonunda (2,5; 5 ve 10 µg/mL), çözücü kontrole göre ise sadece en yüksek konsantrasyonunda istatistiki olarak önemli derecede artırmıştır (Çizelge 4.6, Şekil 4.8). Gözlenen bu artışlar konsantrasyona bağlı gerçekleşmiştir ($r = 0,95$). Ek olarak Tenoksikam uygulamasının NBI değerlerini etkilemediği tespit edilmiştir (Çizelge 4.6).

Çizelge 4.6. Tenoksikam'ın insan lenfositlerinde mikronükleus frekansları ve nükleer bölünme indeksi üzerine etkisi

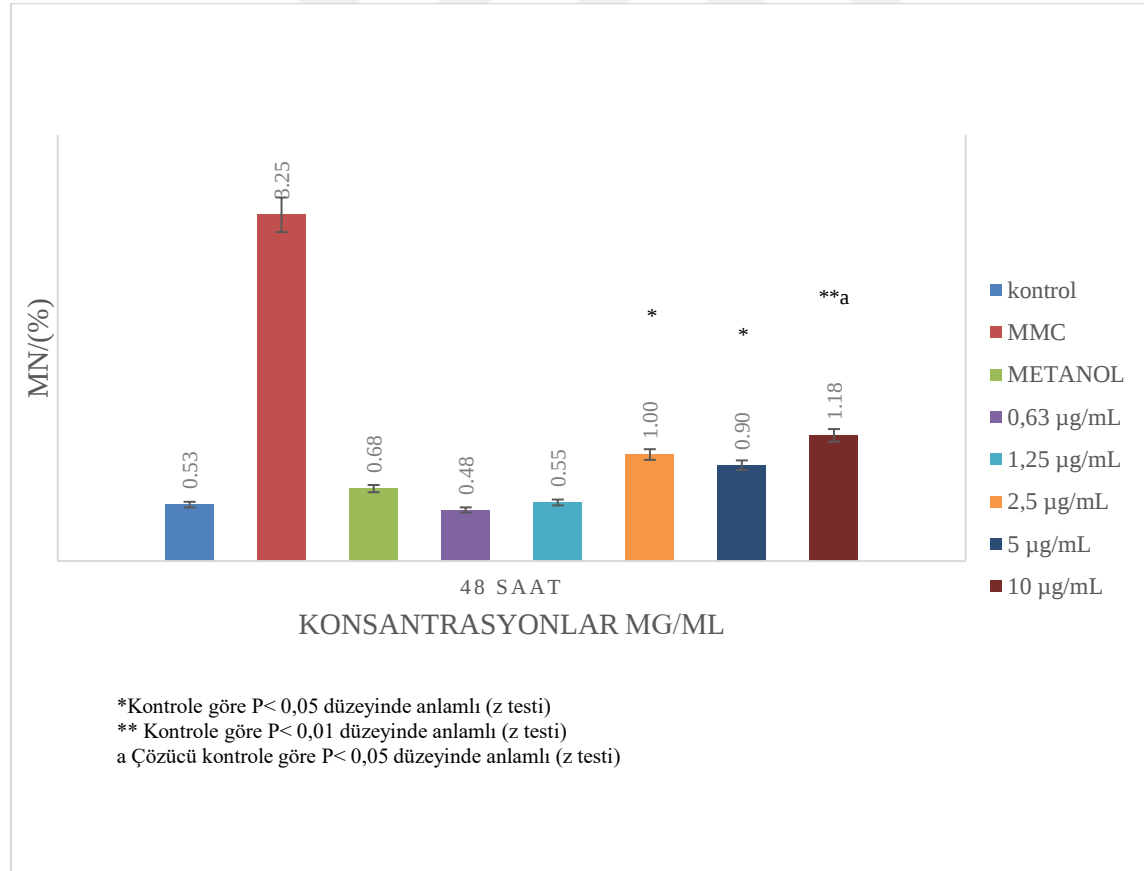
Test Maddesi	Uygulama		Sayılan	BN hücreler				Nükleer	
	Süre	Konsantrasyon	binükleat	içinde			MN ± SH	Bölünme	
	(saat)	(µg/mL)	hücre sayısı	mikronükleus			(%)	İndeksi (NBI) ±	
				frekansları				SH	
				(1)	(2)	(3)			
Kontrol	48	0.00	4000	21	-	-	0.53 ± 0.11	0.71 ± 0.18	
MMC	48	0.20	4000	130	-	-	3.25 ± 0.28	0.65 ± 0.18	
Metanol	48	3,70 (µl/mL)	4000	27	-	-	0.68 ± 0.13	0.70 ± 0.18	
			0.63	4000	19	-	-	0.48 ± 0.11	0.67 ± 0.18
			1.25	4000	22	-	-	0.55 ± 0.12	0.69 ± 0.18
			2.50	4000	40	-	-	1.00 ± 0.16*	0.66 ± 0.18
			5,00	4000	36	-	-	0.90 ± 0.15*	0.66 ± 0.18
		10,00	4000	47	-	-	1.18 ±0.17**a	0.73 ± 0.19	

MN: mikronükleus, SH: standart hata, BN: binükleat

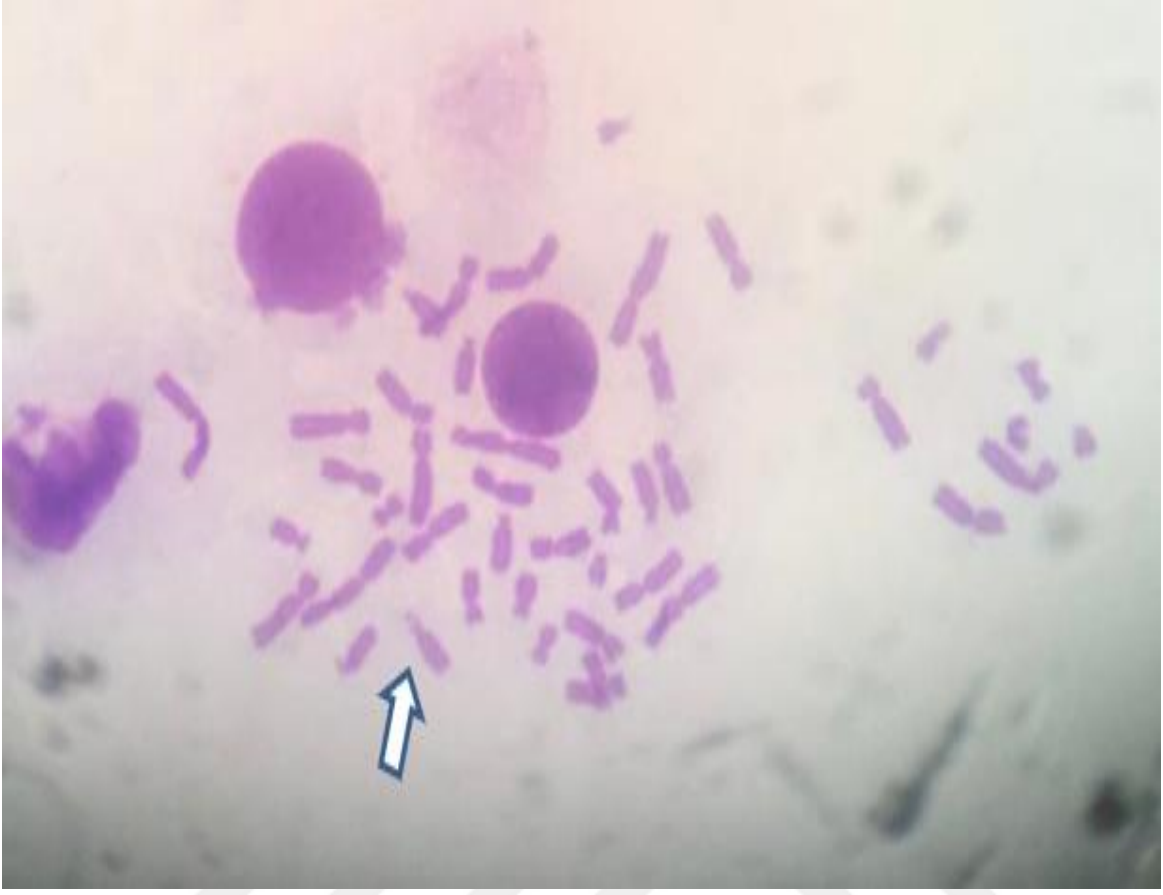
*Kontrolle göre P< 0,05 düzeyinde anlamlı (z testi)

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

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



Şekil 4.8. Tenoksikam ile 48 saatlik muamele edilmiş insan lenfositlerindeki mikronükleus hücre frekansı



Resim 4.5. Tenoksikam'ın 48 saatlik muamelesinde 10µg/mL konsantrasyonunda 100X büyütme ile gözlemlenen kromozom kırığı.

5. TARTIŞMA

İlaç kullanımı insanlık tarihi kadar geniş bir zaman dilimini kapsamaktadır. Farklı zaman dilimlerinde farklı coğrafyalarda ve yine farklı etken maddeler baz alınarak hazırlanmış ilaçlar yine çeşitli hastalıkların tedavisi için tercih edilmiştir. İlk zamanlardan günümüze değin uzanan bu süreçte ilaçlar ve hastalıklar arasındaki ilişkiler incelenmiştir. Son yüzyıllarda ise hastalıklar ve bu hastalıkların tedavisi için kullanılan ilaçlar kategorize edilmiştir. Ancak bu kategorizasyon henüz tam anlamıyla sabitlenememiştir. Bunun sebebi hem yeni hastalıkların ve yeni etken maddelerin keşfi hem de bir etken maddenin birkaç farklı yolda etkin oluşundan kaynaklanmaktadır (Arslan, Keskin Arslan, Koç, Sözmen ve Kaplan, 2020; Çelik, Arslan, Ramazan, Tunç ve Yıldız, 2021; Işık, Dalgıç, Okuyan ve Yıldırım, 2020; Kartlaşmış ve Dikmen, 2021; Kemer ve Ergün, 2021). Son yüzyılda ilaç kullanımının daha da arttığı gözlemlenmektedir. Bunun sebebi olarak öncesinde tedavisi mümkün görülme-yen hastalıkların tedavi yöntemlerinin keşfinden kaynaklanmaktadır. Aynı zamanda yapılan çalışmalar sonucunda ilaçların güvenli doz aralıklarının belirlenmesi de bu konuda oldukça önem arz etmektedir. Hangi ilaç etken maddesinin hangi doz aralığında kullanılması gerektiği bilindiğinde ilaçların reçete edilebilirliğinin hızla arttığı gözlemlenmiştir (Bakır ve diğerleri, 2021; Gomez, 2016; Gökçimen ve Malas, 2003 ; Hayes ve diğerleri, 2020; Karanfil, 2020; Kılıç, 2018; Rina ve diğerleri, 2012).

İlaç etken maddesi kavramı kısaca belirli bir kimyasalın belirli bir hastalığın tedavi sürecinde hastalığın inhibe edilmesi, hastalığın ilerleyiş hızının azaltılması veya hastalığın tamamen sonlanmasını sağlayan maddeler olarak özetlenmektedir. Dünya Sağlık Örgütü ilaç etken maddelerini tanımlarken insanın yararına kullanılmasını vurgulamaktadır. Bu yarar uğruna fizyolojik sistemleri ve patolojik durumları değiştirebilen etkilerinin varlığını ifade etmektedir (Sarıhan ve diğerleri, 2012). İlaçların kullanım alanları araştırıldığında oldukça farklı alanda çeşitli etken maddelerce oluşturulmuş farklı ve fazla sayıda sonuca rastlanılmıştır. Kullanım alanlarına göre incelendiğinde tedavi edici özellikleri, kimyasal yapılarına ve uygulama şekillerine göre tercih edildiği gözlenmiştir. Tedavi edici niteliklerle üretilip piyasaya sürülmeleri amaçlansa da her zaman her ilacın kullanımı olumlu sonuçlanmamaktadır. Bazı ilaçlar kısa vadede olumlu sonuçlar verseler bile bazı istenmeyen etkilere sebep olabilmektedir. Bu tür etkiler yan etkiler olarak adlandırılmaktadır. İlaçların tedavi edici etkilerine ek olarak yaşanan baş dönmesi, mide bulantısı, çeşitli ağrılar ve

hamilelik sürecinde fetüsü etkileyen olumsuzluklar olarak kısaca özetlenmektedir. Ancak ilacı kullanan her bireyde yan etkiler aynı düzeyde seyretmemektedir. Kişiden kişiye ilacın reçetesinde belirtilen yan etkiler ve bu etkilerin boyutları değişebilmektedir. İlaçların yan etkileri üzerine yapılan çalışmalar değerlendirildiğinde ise olumsuzlukların hücresel boyutta kadar indiği gözlenmektedir. Araştırmalar incelendiğinde bazı ilaçların genotoksik, sitotoksik veya karsinojenik etkilere sebep olduğu kanıtlanmaktadır (Sarihan ve diğerleri, 2012; Bakır ve diğerleri, 2021; Gomez, 2016; Gökçimen ve Malas, 2003; Karanfil, 2020).

Kalıtım materyalimizin direkt ya da indirekt olarak etkilendiği bazı durumlar vardır. Bu durumlara kimyasal ajanlar sebebiyet vermektedir. Kimyasal ajanların kalıtım materyalinde direkt ya da indirekt etkilere sebebiyet verdiği kişilerde genotoksik ve sitotoksik hasarlar oluşabilmektedir (Koçana, Toprak, Yaşa, Hekimoğlu ve Tokdemir, 2019). Aynı ya da benzer hasarlar bu kişilerden kalıtsal olarak diğer döllere aktarılmaktadır. Kimyasallar kanser oluşumu ve daha birçok olumsuz etkiye sebep olmaktadır. İşte bu ve benzeri nedenlerle sıklıkla reçete edilen Piroksikam'ın ve Tenoksilam'ın genotoksik, mutajenik ve karsinojenik etkiye sahip olup olmadıklarının saptanması oldukça önemlidir.

İlaçların belirli amaçlarla tasarlandıktan sonra piyasaya sürülmeden önce bazı testlerden geçmesi gerekmektedir. Bu testlerin başında genotoksisite testleri gelmektedir. Genotoksisite testleri herhangi bir ajanın genom düzeyinde meydana getirdiği hasarı yani genotoksisiteyi belirlemek amacıyla uygulanır.

Genotoksisite kavramı herhangi bir fiziksel, biyolojik veya kimyasal ajanın neden olduğu kromozom veya DNA yapısında, miktarında ya da gen anlatımında oluşan hasarı ifade etmektedir. Genotoksik etken DNA'nın kendini kopyalaması esnasında görevli olan enzimlerle etkileşen kimyasal bir ürün olarak da nitelendirilmektedir. Genotoksik etki sonucunda DNA yapısında meydana gelen değişimler kromozom ya da kromatit kırığı, kardeş kromatitlerde birleşme, kromatit değişimi, fragment ve poliploidi oluşumu ve son olarak disentrik kromozom olarak gözlemlenmektedir. Gen yapısında, miktarında ya da anlatımında meydana gelen hasar ya da hasarların tespit edilmesi için genotoksisitenin değerlendirilmesi gerekmektedir. Bu amaçla farklı testler ile ilaç etken maddeleri üzerinde araştırmalar yapılmaktadır. Genetik materyalin paketlenmiş hali olan kromozomda genotoksik maddenin oluşturmuş olduğu hasarın tespitinin değerlendirilmesi hedeflenmektedir. Kromozomal Anormallik (KA) testi değerlendirilmesinde ise

kromozomda ya da kromozomu oluşturan kardeş kromatitlerde meydana gelen her türlü değişim ve bu değişimlerin yapısı ve sayısı saptanmaktadır (Arslan ve diğerleri, 2020; Işık ve diğerleri, 2020; Kartlaşmış ve Dikmen, 2021; Koçana ve diğerleri, 2019; Rina ve diğerleri, 2012).

Eğer yapılan çalışmalar neticesinde sonuç pozitif olarak değerlendirilirse bu durum incelemesi yapılan maddenin genotoksik olduğu anlamını taşımaktadır. Eğer sonuç negatif olarak değerlendirilmiş ise bu durum incelemesi yapılan maddenin herhangi bir genotoksik etkiye sahip olmadığı anlamını taşımaktadır (Arslan ve diğerleri, 2020; Çelik ve diğerleri, 2021; Işık ve diğerleri, 2020; Kartlaşmış ve Dikmen, 2021; Koçana ve diğerleri, 2019; Satoh, Hatanaka, Yamamoto, Kuro-O ve Sofuni, 2002; Yirmibeş, 2020).

Bu çalışmada ilaç etken maddesi olarak kullanılan Piroksikam ve Tenoksikam'ın *in-vitro* genotoksik etkilerini belirlemek için belirli genotoksisite testleri uygulanmıştır. Bu testler Mikronükleus (MN) testi ve Kromozomal Anormallik (KA) testleridir. Bu testler ile Piroksikam'ın ve Tenoksikam'ın insan lenfositleri üzerinde genotoksik etkisi incelenmiştir.

Sonuçta, piroksikamın kromozomal anormallik oluşumunu indüklediği ancak mikronükleus oluşumunu 0,94; 1,88 ve 3,75 µg/mL konsantrasyonlarında indüklediği görülmüştür. Nükleer bölünme indeksi (NBİ) hem Piroksikam hem de Tenoksikam için değişmemiş ve herhangi bir etki göstermemişlerdir. Mitotik indeks değerlerinde ise Piroksikam'ın hem 24 hem de 48 saatlik uygulamalar sonucunda en yüksek iki konsantrasyonda (1,88 ve 3,75 µg/mL) hem kontrole hem de çözücü kontrole göre anlamlı düşüş gözlenmiştir. Tenoksikam'ın kromozomal anormallik oluşumunu yalnızca en yüksek konsantrasyonda (10 µg/mL) anlamlı oranda artırdığı görülmüştür. Mikronükleus oluşumunu ise 2,5; 5 ve 10 µg/mL'lik konsantrasyonlarda indüklediği gözlenmiştir. Ek olarak mitotik indeks değerlerinde 24 saatlik uygulamada hem kontrole göre (1,25; 2,5; 5, 10 µg/mL) hem de çözücü kontrole göre (2,5; 5, 10 µg/mL), 48 saatlik uygulamalarda hem kontrole göre (1,25; 2,5; 5, 10 µg/mL) hem de çözücü kontrole göre (10 µg/mL) önemli azalış gözlenmiştir.

Kromozomal anormallikleri, DNA insersiyonlarını, DNA kırılmalarını ve çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen gen mutasyonlarını içermektedir. Genellikle mayoz ve mitoz bölünmeyi takiben hücre bölünmesi sırasında meydana gelen hatalardan

kaynaklanmaktadır. Kromozom anormallikleri, çekirdek, kromozom ve DNA yapısında meydana gelen DNA eklentileri, DNA kırıkları, gen mutasyonları, kromozom anormallikleri, klastojenite ve anöploidi gibi hasarları kapsayan genel bir terimdir. DNA veya genomun kopyasının çıkarılmasını sağlayan enzimlerle etkileşime giren ve mutasyona neden olan genotoksik maddelerin DNA’da hasar meydana getirmesi veya bazı değişimlere yol açması ise genotoksik etki olarak tanımlanmaktadır (Cheng ve diğerleri, 1996). DNA molekülünde mutasyonlara yol açan ajanlar ya da mutajenler, DNA üzerindeki etkilerini ya doğrudan ya da genomik bilgilere göre sentezlenen proteinlere bağlanarak dolaylı yolla göstermektedir (Duffaud ve diğerleri, 2007).

DNA’da meydana gelen kromozom anormalliklerin saptanmasında mitoz hazırlık aşaması olan interfazın G2 fazı oluşan hasarların belirlenmesi konusunda oldukça önemlidir. Çünkü bu fazda oluşan hasar yine bu fazda tamir edilecektir. İnterfazın diğer fazlarında (G1, S) meydana gelen kırıklar (hem kromozomda hem de kromatitlerde meydana gelebilir), mitoz ve mayoz bölünmeleri süresince herhangi bir anda meydana gelebilmektedir. Bu kırıklardan kaynaklı olan hasarın derecesi bölünmenin hangi fazında meydana geldiği ile ilişkilidir. (G0 ya da G1 fazında meydana gelmesi kromozom kırıkları oluşturur. S ya da G2 fazında meydana gelmesi ise kromatitlerde kırık oluşturur.) Oluşan bu kırıklar ile ilgili olarak, G1 fazında yalnızca tek bir kromatitte bir kırık meydana getirdiği, S fazına geçilirse, metafaz evresinin hemen ardından her iki kromatitte birden kırık meydana gelmesine sebep olur. Böylece, kromozom kırığı modelini meydana getirir. Ek olarak meydana gelen kırıklarda herhangi bir birleşme durumu söz konusu değilse bir asentrik fragment ile bir delesyonlu kromozom meydana geldiği gözlemlenir. Oluşan bu asentrik parçalar metafaz evresinde kaybolabilirler. Anafazda ise mikronükleusları meydana getirebilirler (Satoh ve diğerleri, 2002; Yirmibeş, 2007).

Tüm bu durumların dışında hiçbir dış etkene maruz kalma olmaksızın kromozomlarda kırık oluşumu gözlenebilmektedir. Aynı şekilde dış etkene maruziyet bulunmamasına karşın herhangi bir mutajenden etkilenmeden kromozom kırıkları ya da genom üzerinde birtakım mutasyonlar oluşabilmektedir. Ek olarak herhangi bir kimyasal madde de genomda hasar oluşumunu tetikleyebilmektedir. Kırıkların ister tek bir kromatitte isterse tüm bir kromozomda meydana gelmesi araştırmacıların kanser riskini belirlemesi konusunda oldukça yardımcı olmuştur. Fakat araştırmacılar tek bir kromatitte değil de bir kromozomda oluşan kırıkların kanser riskinin belirlenmesinde daha etkin olduğunu düşünmektedir

(Bonassi ve diğerkleri, 2011; Hagmar ve diğerkleri, 2004; Norppa, Bonassi, Hansteen, Hagmar ve Strömberg, 2006; Widel ve diğerkleri, 2001).

DNA hasarında rol alan kilit moleküllerde ve yollardaki bozukluklar ise doku hasarı, yaşlanma, kanser, infertilite ve bazı genetik ve multifaktoryal hastalıklara yol açmaktadır. Genotoksisite ve karsinojenite arasındaki ilişki pek çok çalışmada incelenmiş ve insanlar için karsinojen olan pek çok bileşiğin genotoksik etkiye sahip olduğu gözlemlenmektedir (Hagmar ve diğerkleri, 2004).

Çalışmada genotoksik etkileri araştırılan Piroksikam ve Tenoksikam ilaç etken maddelerinin en çok sebep olduğu anormalliğin kromatit kırığı oluşumu olduğu görülmektedir. Piroksikam ve Tenoksikam'ın sebebiyet verdiği diğerk anormallikler kromozom kırığı, kardeş kromatitlerde birleşme, disentrik kromozom, fragment ve kromatit değişimidir.

Bu tez çalışmasında Piroksikam ve Tenoksikam için herhangi bir sayısal anormallik gözlenmemiştir.

Mitotik İndeks (MI) farklı kimyasal ajanların sitotoksisitesini değerlendirmek için kullanılır. Mitoz bölünme süreci ile ilgili bilgi edinmek amacıyla tercih edilen bir parametredir (Ginzkey ve diğerkleri, 2014). Sitotoksisiteye sebep olan çoğu kimyasal ajanın varlığı mitotik indeks değerlerinin düşüşüne sebebiyet vermektedir. Mitotik indekste bu düşüşün sebebi olarak hücrelerin mitoz bölünmesini başlatan G2 fazının engellenmesi, DNA'nın kendini eşlemesi için gerek duyulan ve iğ iplikleri meydana getiren enzimlerin baskılanması gösterilebilir (Yılmaz, Ünal, Aksoy, Yüzbaşıoğlu ve Çelik, 2008). Mitotik indeksin, hücrede hasar oluşturan etkilerin incelenmesinde mitoz bölünmede meydana gelen değişikliklerin incelenmesi için kullanılan duyarlı bir belirteç olduğu savunulmaktadır. Mitotik indekste oluşan düşüş, hücrenin bölünme özelliğini yitirmesinden, hücrenin ölümüne sebebiyet veren etmenlerin varlığından kaynaklanmaktadır (Topaktaş ve Rencüzoğulları, 2010:125). Hücrelerde kimyasal ajan ile muamele sonucunda bazı değişimler meydana gelmektedir. Bu değişim incelendiğinde değişimlerin birbirinden farklı hatalar olduğu görülmektedir. Örneğin bu değişimler, hücre çekirdeğinde hücre bölünmesinin karyokinez aşamasında kinetokor ve iğ ipliklerinde meydana gelen hatalardan kaynaklanabilmektedir. Ayrıca hücre bölünmesinin kontrolünü sağlayan genlerin eksikliklerinden ve kromozomlarda oluşan tahribat nedeniyle meydana gelme durumları da mevcuttur. Bu değişimler herhangi bir

nedenle gerçekleşmiş ise gerçek çekirdeğe ek olarak daha ufak yapıda başka minik çekirdekler saptanabilmektedir. Mikronükleus (MN) testi değerlendirilirken bu mikro çekirdeklerin yapısı ve sayısı incelenmektedir. Bu sebeple, Mikronükleus testi (MN), fiziksel, biyolojik ya da kimyasal ajanların meydana getirdiği genotoksisitenin, mutajenik etkilerinin saptanmasında kullanılan, istatistiksel analizi oldukça kolay, insan periferik kan lenfositlerinde, yanak mukozası ve kemik iliği gibi çeşitli tipteki hücrelerde çalışabilen bir testtir. Bu sebeple kansere neden olan maddelerle etkileşime girmiş kişilerde, kansere yakalanma ihtimalinin saptanması için kullanılmaktadır. Ayrıca ilaç ya da gıda sanayide ilaç etken maddesi ya da katkı maddelerinde, tıpta radyoterapi ek olarak buna benzer fiziksel, biyolojik veya kimyasal çoğu etkenin incelenmesi için uygulanmaktadır (Choy, 2001:30; Jain ve Sorbhoy, 1988; Savage, 1993).

Mikronükleusların meydana gelmesinde genomda meydana gelen hasarlar etkilidir. Bu hasarların oluşmasında ise klastojenik, mutajenik ya da karsinojenik olan etmenler önemlidir. Mikronükleus oluşumu farklı sebeplerden kaynaklanabileceği gibi kendiliğinden de olabilmektedir. Herhangi bir nedenle oluşan mikronükleusta, genom boyunca herhangi bir yerde meydana gelmiş olan hasarların tamir edilemeyişi ya da tamir edilse bile tam anlamıyla tamirin gerçekleşmemesi neden olabilmektedir. Ayrıca özel proteinler olan kinetokorlarda ya da kromatitleri birleştiren sentromerlerde ya da sentrozom organelinden köken alan iğ ipliklerinde oluşan mutasyonlar yine mikronükleus oluşumuna neden olabilmektedir. Ancak DNA'da oluşan bu hataların tamirinden sorumlu genlerde de hatalar oluşabilmektedir. Böyle bir durumda hataların tamiri mümkün olmayacağı için mikronükleus oluşum frekansında artışın olması beklenen bir sonuçtur (Choy, 2001:32; Fenech, 1993).

Genotoksisite çalışmalarına ek olarak hücre düzeyinde meydana gelen hataların incelendiği sitotoksisite göstergeleri de mevcuttur. Nükleer bölünme indeksi sitotoksisite belirteçlerinden bir tanesidir. Nükleer bölünme indeksi incelemesinde öncelikle bazı hücrelerin sayısı belirlenmektedir. Sayısı belirlenen hücreler tek çekirdekli, çift çekirdekli, üç ve dört çekirdekli hücrelerdir. Tek çekirdekli hücrelerin sayısı bölünemeyen hücreleri temsil eder ve en düşük nükleer bölünme indeksi değeri (1) olarak kabul görmektedir. Eğer bütün hücreler bir bölünme yaşamışsa çift çekirdekli hücreler sayılmaktadır. Nükleer bölünme indeksi değeri 2 olarak değer görmektedir. Ancak hücreler daha fazla sayıda bölünme yaşamışsa, çift çekirdekten daha fazla çekirdek içeren hücreler sayılmaktadır. Bu

durumda nükleer bölünme indeksi değerlerinin 2'den daha yüksek bir değerde olacağını ifade etmektedir (Chiong ve diğerleri, 2013).

Bu çalışmada Piroksikam'ın ve Tenoksikam'ın nükleer bölünme indeksini etkilemediği saptanmıştır.

Analjezik etkisinden dolayı kullanımı mevcut olan Tenoksikam'ın ve Piroksikam'ın genotoksisitesi ve sitotoksisitesi etkinliğinin incelendiği çalışmaların sayısı oldukça azdır. Fakat farklı diğer ilaç etken maddelerinin genotoksisitesi ve sitotoksisitesi etkinliğinin incelendiği çalışmalar mevcuttur.

İbuprofenin genotoksisitesini incelemek amacıyla fare kemik iliği hücrelerinde *in vivo* kromozomal anormallik testi yapılmıştır. Bu amaçla 10, 20, 40 ve 60 mg/kg dozlarında ibuprofen 24 ve 48 saatlik uygulamalar için farelere oral yolla verilmiştir ve bu ilaç etken maddesinin yüksek dozlarda kromozomal anormalliklerini indüklediği gözlenmiştir. Ek olarak mitotik indeks değerlerinin doza bağlı azaldığı tespit edilmiştir. Söz konusu sonuçlar ibuprofenin yüksek dozlarda genotoksik etkili olabileceğini göstermiştir (Rina ve diğerleri, 2012).

Bu tez çalışmasında Piroksikam ve Tenoksikam için başka bir analjezik olan İbuprofen kadar yüksek konsantrasyonlar kullanılmamıştır. Ancak yine de benzer şekilde her üç etken madde de düşük konsantrasyonlarda genotoksik değildir.

Bir çalışmada non-steroid anti-inflamatuar ilaçlardan biri olan ve hem analjezik hem de antipiretik etkisinden dolayı kas ve kemik ağrılarında sıklıkla tercih edilen Deksketoprofen trometamol etken maddesinin 750, 1000 µg/mL ve daha yüksek konsantrasyonlarda *in-vitro* insan lenfositlerinde oluşturduğu genotoksik etki incelenmek istenmiştir. Bu amaçla MN, comet ve RT-PCR uygulamaları yapılmıştır. Test sonuçları değerlendirildiğinde her bir test için Deksketoprofen trametamol etken maddesinin DNA iplik kırılmaları ve diğer genom boyutundaki hasarlardan dolayı genotoksisiteye sebep olduğu tespit edilmiştir. Ancak ileri çalışmalarla desteklenmesi gerektiği belirtilmiştir (Kılıç, 2018).

Bir başka çalışmada, ağrı inhibitörü olan amin hidrolaz (FAAH) ile yapılan Faz 1 çalışmasıyla FAAH inhibitörü BIA 10-2474'nin mutajenitesinin *E. coli* bakterisi

kullanılarak AMES testi ile, genotoksisitesi 24 ve 48 saatlik KA testi ile (75, 150 ve 300 µg/mL) ve sitotoksisitesi farelerde MN (450,900 ve 1800 mg/kg erkek farelerde; 350, 700 ve 1400mg/ kg dişi farelerde) testi ile incelenmiştir. Sonuçta AMES testinde herhangi bir mutajenite gözlenmezken, KA ve MN artmıştır (Hayes ve diğerleri, 2020). Genotoksik açıdan incelemesi yapılan bazı maddelerin genotoksik etkiler sergilemesi bu alanda henüz genotoksisitesi aydınlatılmamış ilaçlar ile ilgili deneylerin yapılmasının hızlanmasını destekler niteliktedir.

Başka bir araştırmada, Flurbiprofen'in toksik etkileri değerlendirilmek istenmiştir. Araştırmada insan servikal hücreleri ve insan karaciğer kanser hücrelerinde kullanılarak (5, 10, 25, 50, 100 200, 250, 500, 750, 1000, 1500, 2000, 2500 ve 3000 µM konsantrasyonlarında) 24, 48 ve 72 saat muameleler Comet testi uygulanarak değerlendirilmiştir. Uygulama sonucu verilerine göre genotoksisitenin konsantrasyon artışıyla doğru oranda arttığı sonucuna varılmıştır (Bakır ve diğerleri, 2021).

Başka bir çalışmada ise analjezik ilaç etken maddesi olan Dipiron'un genotoksik etkisi incelenmek istenmiştir. Bu amaçla, Afrika yeşil maymunu olan *Cercopithecus aethiops*' un Vero hücrelerinde üç farklı konsantrasyonda hem 24 hem de 48 saatlik muameleler Comet testi ile incelenmiştir. Her bir hücre grubundan 450 µl numune alınıp %4, %8 ve %16 konsantrasyonlarda uygulamalar yapılmıştır. Sonuçta Dipiron'un herhangi bir genotoksik etkisi olmadığı gözlenmiştir (Gomes, 2016). Bir diğer çalışmada Dipiron'un genotoksisitesi ve diğer başka etken maddeler olan doksorubisin, sisplatin ve siklofosfamid ile etkileşimlerinin meydana getirebileceği genotoksisite incelenmek istenmiştir. Bu amaçla, genotoksisiteyi değerlendirmek için 24 saatlik muameleler comet testi (12 ve 24mg/kg) ile incelenmiştir. Sitotoksisitenin incelenmesi için ise 24, 48 ve 72 saatlik muameleler MN testi (12 ve 24 mg/kg) ile incelenmiştir. Sonuçta Dipiron'un diğer ilaçlarla etkileşiminin toksik etkilerini azalttığı yorumu yapılmıştır (Berno ve diğerleri, 2016).

Bir çalışmada Metamizol'un genotoksisitesi ve sitotoksisitesi incelenmek istenmiştir. Bu amaçla, Afrika Yeşil Maymun'u kırmızı böbrek hücreleri olan Vero hücrelerinde Metamizol'un 24 ve 48 saatlik muameleleri MTT testi (0,65;1,25; 2,5, 5, 10, 20 mM) ile sitotoksik açıdan incelenmiştir. Genotoksisitesi ise Metamizol'un 24 ve 48 saatlik muamelelerini Comet (0,65; 1,25; 2,5 ve 5 mM) testi ile incelenmiştir. Sonuçta Metamizol hücre canlılığı doza bağlı olarak azaltmıştır ve genotoksik olan hücreleri önemli ölçüde

arttırmıştır. Comet ve MTT testlerinin sonuçlarına göre Metamizol hem sitotoksik hem de genotoksiktir yorumu yapılmıştır (Gomes ve diğerleri, 2021).

Analjezik etkilerinden dolayı kullanılan elmalarda bulunan fenolik bir bileşik olan Floridzin (Phl) doğal bileşiğinin 125, 250 ve 500 µg/mL dozlarında insan lenfositlerinde genotoksitesite araştırılmıştır. Araştırmada genotoksitesite testleri olan MN ve KA testleri uygulanmıştır. Sonuçta Phl'nin genotoksitesiteyi engellediği sonucuna varılmıştır. MMC ve Phl kompleksinin DNA'da meydana gelen genotoksik etkiyi azalttığı gösterilmiştir (Islas-Flores ve diğerleri, 2017).

Dreissena polymorpha tatlı sularda yaşayan bir midyedir. Analjezik bir ilaç olan Diklofenak'ın (DCF) potansiyel genotoksitesitesinin incelenmesi için Dreissena polymorpha'nın üzerinde in-vivo MN testi (0.3, 1 ve 2 nM) uygulanmıştır. En yüksek dozda anlamlı düzeyde MN frekansı artmıştır (Parolini, Binelli ve Provini, 2011).

Rocuronium bromür'ün genotoksitesitesi insan lenfosit hücrelerinde *in vitro* KA ve KKD testleri ile incelenmiştir. Çalışmada Rocuronium bromür'ün, 24, 60, 80 ve 100 µg/mL konsantrasyonlarında 24 ve 48 saatlik muameleleri incelenmiştir. Sonuçlara bakıldığında her iki saatlik muamelede de konsantrasyona bağlı olarak kromozomal anormallik frekansını artırdığı ancak KKD testinde değişiklik olmadığı gözlenmiştir. MN oluşumu konsantrasyona bağlı artmıştır. Ancak NBİ (nükleer bölünme indeksi) değişmemiştir (Çelikkol, 2021; Taşkın, 2015). Bu tez çalışmasında da benzer bir sonuç gözlenmiştir. Tenoksikam ilaç etken maddesinin KA testinde yalnızca en yüksek konsantrasyonda hafif genotoksik olduğu gözlemlenirken 2,5, 5 ve 10 µg/mL konsantrasyonlarda mikronükleus oluşumu gözlenmiştir. Ancak nükleer bölünme indeksinde herhangi bir anlamlılık saptanmamıştır.

Bir ilaç etken maddesi olan kurkuminin MCF7, MDA, MB231 ve 184A1 hücre hatlarında (5, 10, 20 ve 40 µg/mL) 24 saatlik muamelesi sonucu olası genotoksitesitesi Comet testi ile sitotoksitesitesi ise 24 saatlik muamelede (5, 10, 20, 30, 40, 50, 60, 70, 80, 90 ve 100 µg/mL) MTT testi ile incelenmiştir. Sonuçta, kurkuminin bu hücre hatlarında DNA hasarını artırdığı ve hücre canlılığını azalttığı gözlenmiştir (Bozali, Guler ve Celikten, 2022).

Antikanser özelliği olan cyclophosphamide (CP), ifosfamide (IF), 5-fluorouracil (5-FU) ve cisplatin (CDDP) isimli ilaçların genotoksitesiteleri incelenmek istenmiştir. Bu amaçla CP için

12, 120; IF için 10, 100; 5-FU için 0,09; 0,9 ve CDDP için 0,6 ve 6 µg/L dozlarda 24 ve 72 saatlik muameleleri ile comet testi uygulanmıştır. Genotoksik açıdan tüm ilaçların comet testi sonucuna göre DNA'da kırık oluşumunu artırdığı gözlenmiştir. Sitotoksitenin değerlendirilmesi için ise aynı ilaçlara aynı dozlarda 72 saatlik muameleler ile MTT testi uygulanmıştır. Ancak hücre canlılığında önemli ölçüde azaltan bir değişim gözlenmemiştir (Novak, Zegura, Modic, Heath ve Filipic, 2017).

Sitotoksik etki, hücrelerin ölümüne neden olan bir etki şeklinde nitelendirilmektedir. Herhangi bir kimyasal maddenin sitotoksik etkiye sahip olup olmadığının tespiti için sitotoksiste çalışmalarına başvurulmaktadır. Sitotoksiste, araştırması yapılan kimyasal maddenin konsantrasyonuna ve bu kimyasala maruz kalınan süresine bağlı olacak şekilde hücrelere çeşitli seviyelerde hasar vermektedir. Mitotik indeks (MI) ve nükleer bölünme indeksi (NBI), hücre siklusunun kinetiği, hücre bölünmesi ve sitotoksiste belirteçleri olarak tanımlanmaktadır. Ayrıca *in-vitro* hücre bölünmesine çoğu kimyasalın etkileri hakkında araştırmacılara bilgi sunmaktadır. Bunun sebebi MI ve / ya da NBI'da oluşan azalmalar hücre siklusunun ilerlemesinin önlenmesi ve kapasitenin düşürülmesini gösterir (Riss ve Moravec, 2004; Şekeroğlu, Aksoy ve A. Şekeroğlu, 2017).

Dipiron ya da metamizol, düşük finansal maliyeti sebebiyle en çok kullanılan ağrı kesicilerdendir. Ayrıca çoğu ülkede, kullanımı sonucunda bildirilen ciddi agranülositoz vakaları nedeniyle dipiron satışı yasaklanmıştır. Yapılan bir çalışmada söz konusu ilacın genotoksik ve sitotoksik etkileri incelenmiştir. MTT testinde dipirona maruz kalan hücrelerin (Vero hücreleri) canlılığında önemli azalma ve hasar endeksinde önemli bir artış gösterilmiştir. Ayrıca Comet testinde görülen artmış DNA hasarı dipironun hem genotoksik hem de sitotoksik bir ilaç olduğunu göstermiştir (Gomez ve diğerleri, 2021; Kartal, 2015).

Genotoksik olabileceği düşünülen flurbiprofenin etkisini araştırmak amacıyla *in vivo* kromozom anormallik testi uygulanmıştır. Ek olarak, RAPD-PCR ile de polimorfik bantların etkilenip etkilenmediği test edilmiştir. Çalışmada, sıçanlara üç farklı dozda flurbiprofen ile muamele edilmiştir. Sonuçta flurbiprofen sıçanların kemik iliği hücrelerinde kromozomal anormalliğe neden olamadığı, RAPD-PCR ile de polimorfik bantların etkilenmediği gözlemlenmiştir (Azarnezhad, Samadian, Jaymand, Sobhani ve Ahmadi, 2020). Ayrıca test edilen madde toplam oksidan ve antioksidan durumunu değiştirmemiş ve bu nedenle oksidatif stres üzerinde önemli bir artışa neden olmamıştır. Bununla birlikte, flurbiprofen

mitotik indekste düşüşe neden olmuştur Özet olarak, flurbiprofenin önemli bir genotoksik etkiye sebep olmasa da sıçan kemik iliği hücrelerinde sitotoksositeye neden olduğu belirtilmiştir (Timocin ve İla, 2020).

Bitkiler tarafından sentezlenen terpenlerin bazıları analjezik etkiye sahiptir. Yapılan bir çalışmada guaiazulen ve abietik asit terpenlerinin genotoksitesi araştırılmak istenmiştir. Bu amaçla insan periferik lenfositlerinde in-vitro mikronükleus (MN) testi (25,50,100,200ppm) ile genotoksitesi değerlendirilmiştir. Sonuçlara bakıldığında her iki analjezik etkili terpenin de MN frekansını konsantrasyona bağlı olarak yükselttiği gözlenmiştir. Bu da guaiazulen ve abietik asitin genotoksik etkiye sahip olduklarını göstermiştir (Çelik ve Uysal, 2020). Bu durum oksikam grubunda olsun ya da olmasın analjezik etkisi bulunan diğer etken maddelerin de genotoksik etkisinin incelenmesi gerektiğinin bir göstergesidir. İncelenen literatürde terpenler üzerine yapılan çalışmaların sayısı azdır ancak ileri çalışmalarda farklı terpenlerde toksisite gözlenebilir.

Analjezik ilaçlardan olan Tramadol'ün genotoksitesinin incelenmek amacıyla bir çalışmada yapılmıştır. Bu amaçla 15 gün süresince oral yolla albino farelere (*Mus musculus*) Tramadol verilmiştir. 15 gün sonunda farelerden periferik kan alınarak comet testi (25 mg/kg, 50 mg/kg ve 75 mg/kg) uygulaması yapılmıştır. Sonuçta konsantrasyona bağlı olarak hasarın arttığı ve hasarların tamirinin azaldığı gözlenmiştir. Bu durum araştırmacılara, Tramadol'den kaynaklanan hasarların onarımının ya uzun süre alabileceği ya da onarım henüz gerçekleşmeden hücrede genotoksositeye ek olarak sitotoksitenin de meydana gelebileceğini düşündürmüştür (Ali ve diğerleri, 2020). Yapılan bir çalışmada, *Piper amalago* (Piperaceae)'nin genotoksitesi incelenmek istenmiştir. Bu amaçla dişi Wistar ratlarda comet (17,5, 175 ve 1750 mg/kg), MN testi (100, 200 ve 300 mg/kg) uygulanmıştır. Sonuçta biyokimyasal parametrelerde değişiklik gözlenirse bile net olarak genotoksosite ya da mutajenitenin varlığı kanıtlanamamıştır. Çünkü Comet parametreleri ve MN değişmemiştir. Bu amaçla analjezik etkisinden kaynaklı uzun süreli kullanımında oldukça dikkat edilmesi gerektiği vurgulanmıştır (Stein ve diğerleri, 2022).

Bir diğer araştırmada, seçici COX II inhibitörü olan Enfliksib'in genotoksitesi incelenmek istenmiştir. Bu amaçla, Ames testi (1667 ve 5000 µg/plaka) ile mutajenite, kromozomal anormallik (CA) testi (3,9; 7,8; 15,6; 31,2; 62,5; 125, 250, 500 ve 1000 µg/mL) ile genotoksiste ve mikronükleus (MN) testi (50,500, 1000 ve 2000 mg/kg) ile sitotoksiste

24 ve 48 saatlik maruziyetler ile incelenmiştir. Sonuçta herhangi bir toksisiteye sahip olmadığı sonucuna varılmıştır (Guzman, Homedes ve Salichs, 2022).

NSAİİ grubu bir ilaç olan Meloksikam'ın genotoksitesi incelenmek istenmiştir. Bu amaçla, farelerde aynı konsantrasyonlarda (1mg/kg) mikronükleus ve comet testi uygulaması yapılmıştır. Sonuçta, Meloksikam'ın farelerde toksik etki oluşturmadağı sonucuna varılmıştır (da Silva ve diğerleri, 2022).

Vernonia condensata analjezik etkisinden dolayı sıklıkla Brezilya'da kullanılan bir bitkidir. Bir araştırmada bu bitkinin genotoksitesi incelenmek istenmiştir. Bu amaçla 24 ve 72 saatlik maruziyetlerde mikronükleus testi ile 1500, 3000, 6000 ve 1200 µg/mL konsantrasyonlarında incelenmiştir. Aynı zamanda sitotoksik etkisi mitotik indeks frekansı ile incelenmiştir. Sonuçta, en düşük konsantrasyon hariç hem genotoksik hem de sitotoksik etki gösterebileceğı ve bu nedenle düşük miktarlarda tüketilmesi gerektiğı sonucuna varılmıştır (Silva ve diğerleri, 2020).

Hem Piroksikam hem de Tenoksikam için herhangi bir ilaç etkileşimi uygulaması yapılmamıştır. İleri çalışmalarla her iki etken madde için de farklı ilaç etkileşimleri değerlendirilebilir ve hangi kombinasyonların genotoksik ya da sitotoksik olabileceğı aydınlatılabilir.

Bu tez çalışmasında analjezik ilaç etken maddeleri arasında yer alan Piroksikam ve Tenoksikam etken maddelerinin genotoksik etkileri kromozomal anormallik ve mikronükleus testleri uygulanarak araştırılmıştır. Her iki etken maddenin de farklı test sistemlerinde konsantrasyon arttıkça genotoksik etki görülme riskinin yükseldiğı tespit edilmiş olup benzer sonuçlar sitototoksisite için de geçerlidir. Ancak elde edilen veriler topluca değerlendirildiğinde Piroksikam ve Tenoksikam'ın hafif bir genotoksik etki sergilediğini belirtmek mümkündür.

Piroksikam ilaç etken maddesi kromozomal anormallikleri indüklememiştir. Ancak mikronükleus oluşturmuştur. İki test sonucu arasındaki fark vardır. Bu fark, testlerin mekanizmalarından kaynaklanmaktadır. KA testi genom boyunca meydana gelebilen hasarların tespiti için uygulanmaktadır. Eğer kromozom düzeyinde kırılmalar mevcut ise bu durum DNA'nın her iki zincirinde de tamiri mümkün olmamış hasarlar var anlamına

gelmektedir. Kromozom değil de kromatit düzeyinde bir kırılma mevcut ise bu durum kromatitlerde meydana gelen hataların onarılmaya çalışılması ancak onarımın yanlış olmasından kaynaklanmaktadır. Kromozomlarda meydana gelen ve tamir edilemeyen hasarların sayısı arttıkça KA frekansı da artmaktadır. Bu durum artmış kanser riskinin de bir göstergesidir. Mikronükleuslar, mitoz bölünme esnasında tam ya da asentrik kromozom parçalarından köken alan yapılardır. Hücrenin gerçek çekirdeği değildirler. Ancak gerçek çekirdek ile aynı sitoplazma içinde yer alırlar. Mikronükleus oluşumunu gözlemlemek için bu testte telofaz aşamasına geçilmeden mitoz bölünme durdurulmakta ve meydana gelen hatalar incelenmektedir. Hücre döngüsünü esnasında kromozomlara iğ ipliklerine tutunmasını sağlayan kinetokorlarda ya da doğrudan iğ ipliklerinde meydana gelen hatalar tamir edilemediğinde hücre canlılığını koruyamamaktadır. Ayrıca bu durum hücre döngüsü esnasında meydana geldiği için hücrenin herhangi bir elemanında meydana gelen hatalar hücreyi öldürmektedir. Ek olarak oluşan hataların tamirinden sorumlu genlerde de hatalar meydana gelebilmektedir. Bu durum da aynı şekilde hücrenin sağlıklı bölünmesi mümkün olmadığından hücrenin ölümü ile sonuçlanabilmektedir. Testlerin mekanizmaları arasındaki bu fark, Piroksikam ilaç etken maddesi hücrelerde, kromozom boyutunda kromozomal anormallikleri indüklememiş olsa da hücre boyutunda mitotik aygıtlarda, iğ ipliklerinde ya da iğ iğliği oluşumundan sorumlu sentrozomda ve sentrozomdan köken alan sentriollerde meydana gelen hataların onarılamamasından kaynaklı MN frekansını artırmış olabilir. Ayrıca tamir mekanizmalarındaki hatalar da onarılamamış olabilmekle beraber hücre kendiliğinden de canlılığını yitirmiş olabilmektedir (A.Şekeroğlu ve Şekeroğlu, 2011; Fenech, 2000; Kirsch-Volders, Elhajouji, Cundari ve Van Hummelen, 1997; Schmid, 1975).

6. SONUÇ VE ÖNERİLER

En ufak bir ağrıda bile tüketilen ağrı kesiciler insan hayatında önemli bir yere sahiptir. Dünyada her gün milyonlarca insan ağrı kesici tüketmektedir. Ağrı kesicilerin sık kullanımı vücuda zarar verilebilir. Yaşanan hasar DNA hasarına yol açabilmektedir. Bu da zararın gelecek nesilleri de etkileyebileceği anlamını taşımaktadır. Bu nedenle ağrı kesicilerin genotoksik etkilerinin iyi bilinmesi gerektiğinden dezavantajları çalışmalarla belirlenmiştir. Dezavantajların olumsuzluklarını aza indirmek için gerekli önlemler alınmaktadır. Bu amaçla güvenli bir doz aralığı belirlenmektedir. Uzun süreli kullanımdan kaçınılması konusunda reçetelere not düşülmektedir. Son zamanlarda artan sağlık sorunları ile ilişkileri belirlenmektedir (Kuru ve diğerleri, 2011).

Her ne kadar güvenli doz aralığında piyasaya sürülseler de analjezik ilaçların bilinçsiz ve uzun süreli kullanımı insan sağlığını tehlikeye atmaktadır. Analjezik ilaçların canlıların genomu üzerine etkilerinin belirlenmesi yaşam kalitesi yönünden oldukça önemlidir. Analjezik ilaç etken maddelerinin meydana getirdiği genotoksik etkilerin hafife indirgenmesi için yapılan araştırmalarla güvenli aralığı belirlenen dozlarda kullanımı sağlanmaktadır. Ancak belirli güvenli aralığında kullanılsalar dahi yıllar içinde canlı vücudunda biriken bu etkiler olumsuz bir hal almaktadır. Bu durum yaşam kalitesi ve sağlığını kötü yönde etkilemektedir.

Analjezik ilaç etken maddelerinin genom üzerindeki etkilerini incelemek için yapılan çalışmalar, analjezik etken maddelerinin genomda meydana getirdiği hasarları belirleyerek bu hasarlara karşı önlem almayı hedeflemektedir. Bu çalışmada NSAİİ grubu ilaç etken maddeleri olan Piroksikam ve Tenoksikam'ın insan lenfosit hücrelerindeki genotoksik ve sitotoksik etkisi araştırılmıştır. Araştırmada kullanılan KA ve MN testleri hücrelerin klastojenik aktivitelerini değerlendirmek ve genom düzeyinde herhangi bir toksik etkinin varlığının olup olmadığının incelenmesi için kullanılmıştır. Yürütülen tez çalışmamız Tenoksikam ve Piroksikam ilaç etken maddelerinde genotoksikiteyi incelemeyi amaçlamıştır. Bu amaçla insan periferik kan lenfositleri kullanılarak hem MN hem de KA testleri uygulanmıştır. Farklı testler birbiri ile aynı sonucu vermeseler bile yüksek konsantrasyonlarda genotoksik etkinin varlığından söz edilebilir. Sonuçta her iki maddenin de zayıf bir genotoksik etki gösterdiği tespit edilmiştir.

Bu çalışma ile rutinde sıklıkla tercih edilen NSAİİ grubunda yer alan Piroksikam ve Tenoksikam etken maddelerinin insan kromozomlarında oluşturabileceği genotoksik etkiler hakkındaki literatürdeki boşluk kapanması hedeflenmiştir. Elde edilen verilerin yine benzer araştırmalarla desteklenmesi ve daha ileri incelemelerle daha fazla bilimsel veri elde edilmesi ilaç kullanımı hakkında bilinçlenme için önem arz etmektedir.

Analjezik ilaçlarla ilgili literatürler incelendiğinde sıklıkla moleküler çalışmaların yapıldığı görülmektedir. Yapılan bu moleküler çalışmalar analjezik ilaçların sitotoksik, apoptotik ve genotoksik olup olmadıklarını tespit etmek amacıyla tercih edilmiştir. Bazı diğer çalışmalar ise bu moleküler süreçlerin mekanizmalarının ne şekilde işlediğini tespit etmeyi amaçlamıştır. Literatüre bakıldığında henüz çoğu analjezik ilacın sitotoksik, genotoksik ve apoptotik etkisi tam olarak incelenmemiş ve aydınlatılamamış olduğu görülmektedir. Ama yine de bu alanda yapılan çalışmaların sayısının son zamanlarda arttığı gözlenmektedir. Ancak mekanizmaların daha kapsamlı incelenmesine ve daha çok aydınlatıcı çalışmaya ihtiyaç duyulmaktadır. Tenoksikam ve Piroksikam ile ilgili çalışmaların incelenmesinin yanı sıra benzer ilaç etken maddeleri de inceleyen çalışmalar değerlendirildiğinde bu tez çalışmasında gözlemlediğimiz sonuçlara yakın sonuçlar bulunmaktadır. Ancak kapsamlı çalışmaların sayısının oldukça az olduğu görülmektedir. Genotoksisite hakkındaki çalışmalar incelendiğinde ilgili çalışmaların sayısının azlığı oldukça dikkat çekici düzeydedir. Bundan ötürü detaylı ileri çalışmalara önem verilmesi önerilmektedir.

KAYNAKLAR

- Abdeen, A., Abou-Zaid, O.A, Abdel-Maksoud, H.A, Aboubakr, M., Abdelkader, A., Abdelnaby, A., et all. (2019). Cadmium overload modulates piroxicam-regulated oxidative damage and apoptotic pathways. *Environmental Science and Pollution Research*, 26(24), 25167-25177.
- Akata, D. (2022). *Aminopiridid ve Florasulam Herbisitlerinin Gambusia holbrooki (Girard, 1859) üzerindeki genotoksik potansiyelinin balık mikronükleus testi ile belirlenmesi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Trakya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Edirne.
- Akici, A. ve Gelal, A. (2011). Birinci basamakta nonsteroid antiinflatuar ilaçların akılcı kullanımı. *Türkiye Klinik Journal Family Med-Special Topics*, 2, 61-70.
- Akkaya, T. Ve Özkan, D. (2009). Cerrahi Sonrası Kronik Ağrı. *Ağrı*, 21(1),1-9.
- Aktaş Potur, E. Ve Toptancı, Ş., (2021, 4-5 June). *Parasetamol İçeren Ağrı Kesici İlaçların Bulanık AHP ve Bulanık COPRAS Bütünleşik Modeli ile Değerlendirilmesi*. 4th International Conference on Data Science and Applications (ICONDATA'21), İstanbul.
- Ali, T., Rafiq, M., Mubarik, MS, Zahoor, K., Asad, F., Yaqoob, S., et all. (2020). Genotoxicity and repair capability of Mus musculus DNA following the oral exposure to Tramadol. *Saudi Journal of Biological Sciences*, 27 (1), 12-17.
- Alpaslan, C. ve Uğur, D.A. (1992). Preoperatif Tek Doz Tenoksikamin Postoperatif Ağrı Üzerine Etkisi. *Gazi Üniversitesi Diş Hekimliği Dergisi*, 9(2), 113-120.
- Arslan, A. ve Arslan, E. (2007). Karyosistematik de C-bantlama (Konstitütif heterokromatin)'nın Önemi. *Dergipark*, 2(29), 121-126.
- Arslan, M., Keskin Arslan, E., Koç, E. M., Sözmen, M. K. ve Kaplan, Y. C. (2020). Altmış beş yaş ve üzeri kişilerde kırılgnalık ile ilaç kullanımı ve polifarmasi arasındaki ilişki. *Haseki Tıp Bülteni*, 58, 33-41.
- Aşcı, H., ve Cankara, F. N. (2012). Astımda analjezik (NSAİİ) kullanımı. *Medical Journal of Suleyman Demirel University*, 19(3), 111-119.
- Atılboz, N. G. (2004). Lise 1. Sınıf Öğrencilerinin Mitoz ve Mayoz Bölünme Konuları İle İlgili Anlama Düzeyleri ve Kavram Yanılgıları. *Gazi Üniversitesi Gazi Eğitim Fakültesi Dergisi*, 24(3).
- Atkoşar, Z. (2014). *Tenoksikam'ın Elektroanalitik ve bazı yöntemlerle Miktar Tayini*.Yayınlanmamış Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Eskişehir.
- Atlı Şekeroğlu, Z. ve Şekeroğlu, V. (2011). Genetik Toksisite Testleri. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4 (3), 221-229.

- Avcioğlu, M. (2019). *Ratlarda indometazin ile oluşturulan gastrik ülserde hypericum perforatum ekstraktının gastroprotektif etkisi*. yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Aydın Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D. ve Ünal, F. (2017, 11-13 Ekim). *Investigating Genotoxic Effect of Sweetener Xylitol Using Sister Chromatid Exchange Test*. 2nd International Gazi Symposium Series, Ankara.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D. ve Ünal, F. (2022). Investigating In Vitro Genotoxic Effects of Sweetener Xylitol. *Kahramanmaraş Sütçü İmam Üniversitesi Tarım ve Doğa Dergisi*, 25(6), 1315-1325.
- Avuloğlu-Yılmaz, E., Yüzbaşıoğlu, D., Özçelik, AB, Ünal, F. ve Ersan, S. (2017). İnsan Periferik Lenfositlerinde 3-Metil-5-(4 Karboksikloheksilmetil)-Tetrahidro-2h-1, 3, 5-Tiyadizin-2-Tion Genotoksitesinin Comet Testini Kullanarak İncelenmesi. *Türk İş/Çevre Tıbbı ve Güvenliği Dergisi*, 2(1,1), 181-181.
- Azap, A., Nassar, A. and Azap, A.N. (2013). Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing I(kappa)B kinase-dependent NF-kappaB activation. *Molecular*, 21(10),1321.
- Azarnezhad, A., Samadian, H., Jaymand, M., Sobhani, M. and Ahmadi, A. (2020). Toxicological profile of lipid-based nanostructures: are they considered as completely safe nanocarriers?. *Critical reviews in toxicology*, 50(2), 148-176.
- Bakır, E., Çal, T., Aydın Dilsiz, S., Canpınar, H., Eken, A. ve Ündeğer Bucurgat, Ü. (2021). Assessment of the cytotoxic, genotoxic, and apoptotic potential of flurbiprofen in HeLa and HepG2 cell lines. *Journal of biochemical and molecular toxicology*, 35(6), 1-11.
- Balkaya, A, Kaya, F, Ata, F, Karaca, Ü. (2021). Postoperatif Ağrı Kontrolünde Preemptif ve Postoperatif Tek Doz Tenoksikam Uygulamasının Etkinliğinin Karşılaştırılması. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 47 (1), 97-104.
- Balkaya, A.N., Kaya, F.N., Filiz, A. T. A., ve Karaca, Ü. (2021). Postoperatif Ağrı Kontrolünde Preemptif ve Postoperatif Tek Doz Tenoksikam Uygulamasının Etkinliğinin Karşılaştırılması. *Uludağ Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 47(1), 97-104.
- Becker, D.E. and Phero, J.C. (2005). Drug therapy in dental practice: Nonopioid and opioid analgesics. *Anesthesia Progress*, 52, 140-149.
- Berno, C. R., de Toledo Rós, B., da Silveira, I. O. M. F., Coelho, H. R., Antonioli, A. C. M. B., Beatriz, A., et al. (2016). 4-Aminoantipyrine reduces toxic and genotoxic effects of doxorubicin, cisplatin, and cyclophosphamide in male mice. *Mutation Research/genetic Toxicology And Environmental Mutagenesis*, 805, 19-24.
- Bonassi, S., El-Zein, R., Bolognesi, C. and Fenech, M. (2011). Micronuclei Frequency İn Peripheral Blood Lymphocytes and Cancer Risk: Evidence From Human Studies. *Mutagenesis*, 26(1): 93-100.

- Bozali, K., Guler, E. M. and Celikten, M. (2022). Investigation of the effect of curcumin on cytotoxicity, genotoxicity, and apoptosis on breast cancer cells. *World Cancer Respiration Journal*, 9, 2149.
- Brammilla, G. and Martelli, A. (2009). Genotoxicity and carcinogenicity studies of analgesics, anti-inflammatory drugs and antipyretics. *Pharmacological Research*, 60,1-17.
- Buvanendran, A. and Kroin, J. (2009). Multimodal analgesia for controlling acute postoperative pain. *Curr Opin Anesthesiol*, 22, 588-593.
- Camu, F., Van-Lersberghe, C. and Lauwers, M.H. (1994). Cardiovascular risks and benefits of perioperative nonsteroidal anti-inflammatory drug treatment. *Drugs*, 44(5),42-57.
- Cemile, E., Yüzbaşıoğlu, D. ve Ünal, F. (2014, 23-27 Haziran). Bir Antidiyabetik İlaç Etken Maddesi Olan Sitagliptin in In Vitro Genotoksik Etkilerinin Comet Testiyle İncelenmesi 22. Ulusal Biyoloji Kongresi, Eskişehir.
- Cheng, T.J., Christiani, D.C., Xu, X., Wain, J.C., Wiencke, J.K. and Kelsey, K.T.(1996). Increased Micronucleus Frequency İn Lymphocytes From Smokers With Lung Cancer. *Mutat Respiration*, 349,43-50.
- Chiong, H. S., Yong, Y. K., Ahmad, Z., Sulaiman, M. R., Zakaria, Z. A., Yuen, K. H., et all. (2013). Cytoprotective and enhanced anti-inflammatory activities of liposomal piroxicam formulation in lipopolysaccharide-stimulated RAW 264.7 macrophages. *International Journal of Nanomedicine*, 1245-1255.
- Choy, W. N. (2001). *Genetic Toxicology and Cancer Risk Assessment* (Birinci baskı). New York: CRC Press.
- Çelik, H. ve Uysal, H. (2020). Abietik asit ve guaiazulen terpenlerinin “sekonder metabolit” genotoksik potansiyellerinin in vitro mikronükleus testi ile belirlenmesi. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 13(2), 1-10.
- Çelik, İ.N., Arslan, F.K., Ramazan, Tunç. ve Yıldız, İ. (2021). İlaç Keşfi ve Geliştirilmesinde Yapay Zekâ. *Journal of Faculty of Pharmacy of Ankara University*, 45(2), 400-427.
- Çelikkol, I. (2021). *Micromeria Fruticosa Bitkisinin Antienflamatuvar, Analjezik Ve Antispazmodik Aktiviteleri Ile Sitotoksik Ve Genotoksik Etkilerinin Değerlendirilmesi*. Yayınlanmamış Doktora Tezi, Marmara Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, İstanbul.
- da Silva, J.C.G., Dallegrave, E., Rodrigues, G.Z.P., Bigolin, C., Neumann, T.M.S.D.O., Schuster, A.C., et all. (2022). Repeated dose of meloxicam induces genotoxicity and histopathological changes in cardiac tissue of mice. *Drug and Chemical Toxicology*, 45 (2), 822-833.
- Demirel, S. and Zamani, A. (2002). MN Tekniği ve Kullanım Alanları. *Genel Tıp Dergisi*, 12(3), 123-7.

- Devi, P.S. and Polasa, H. (1987). Evaluation of the anti-inflammatory drug indomethacin, for its genotoxicity in mice. *Mutation Research*, 188, 343-347.
- Dkhil, MA, Tohamy, A. ve Gabry, MS (2011). Chromosomal aberrations induced in bone marrow cells of mice due to the administration of the non-steroidal anti-inflammatory drug, Piroxicam. *African Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 5(1), 98-103.
- Duffaud, F., Orsiere, T., Villani, P., Pelissier, A.L., Volot, F. and Favre, R. (2007). Comparison Between Micronucleated Lymphocytes Rates Observed In Healthy Subject And Cancer Patients. *Journal of Mutagenesis*, 12,227-31.
- Erden, S. M. (2016). *Bazı Antienflamatuar İlaç Etken Maddelerinin Spektroskopik Yöntemlerle İyonlaşma Sabitlerinin Tayini*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Selçuk Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Konya.
- European Medicines Agency. (2007). “Questions and answers on the review of piroxicam”, EMEA/264578, London, 21-26.
- Evans, H.J., In Kilbey, B.J., Legator, M., Nichols, W., Ramel, C. (1984). Human peripheral blood lymphocytes for the analysis of chromosome aberrations in mutagen tests. Handbook of Mutagenicity Test Procedures, Amsterdam, *Elsevier Sciences*, 2,405–427.
- Fardet, L., Nizard, J. and Generau, T.(2002). Non-selective and selective non-steroidal anti-inflammatory drugs, administration in pregnancy and breast feeding. *La Presse medicale*, 31(31), 1462-1468.
- Fenech, M. (1993). The cytokinesis-block micronucleus technique and its application to genotoxicity studies in human populations. *Environmental Health Perspectives*, 101(3), 101-107.
- Fenech, M. (2000). The In Vitro Micronucleus Technique. *Mutation Respiration*, 455,81-95.
- Fenech, M. and Morley, A.A. (1986). Cytokinesis-Block Micronucleus Method In human Lymphocytes: Effect Of In Vivo Agening And Dose X-İrradiation. *Mutat Respiration*,161,193-8.
- Garewal, H.S., Ramsey, L., Kaugars, G. and Boyle, J. (1993). Clinical Experience With The Micronucleus Assay. *Cellular Biochemictry*, 17, 206-12.
- Gelincik, A., Büyüköztürk, S., İşsever, H., Çolakoğlu, B. ve Dal, M. (2009). Analjezik intoleransında parasetamol ve propifenazonun yeri. *Asthma Allergy Immunology/Astim Allerji Immunoloji*, 7(1), 32-38.
- Genç, A., Özcan, A., Ve Gelecek, N. (2002). Evre II rotator manşet yaralanmalarının tedavisinde piroksikam fonoforez uygulamasının etkinliği. *Artroplastı Artroskopik Cerrahi (Yeni Adı: Eklem Hastalıkları ve Cerrahisi)*, 13(1), 23-26.

- Ginzkey, C., Steussloff, G., Koehler, C., Burghartz, M., Scherzed, A., Hackenberg, S., et al. (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.
- Gomes, L. M. (2016). *Avaliação in vitro dos efeitos genotóxicos e citotóxicos do fármaco dipirona sódica (Metamizol Sodium) em linhagem de rim de macaco verde africano (VERO)* (Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Belém).
- Gomes, LM, Moysés, DA, Nascimento, HF, Mota, TC, Bonfim, LT, Cardoso, P.C., et al. (2021). In vitro maruz bırakılan Afrika yeşil maymun böbrek (Vero) hücre hattında ilaç dipiron sodyumun genotoksik ve sitotoksik etkileri. *Naunyn-Schmiedeberg'in Farmakoloji Arşivleri*, 394, 1529-1535.
- Gökçimen, A. and Malas, M. (2003).Nonsteroidal anti-inflamatuvar ilaçların gebelikteki toksisiteleri ile ilgili literatürlerin gözden geçirilmesi. *Süleyman Demirel Üniversitesi Tıp Fakültesi Dergisi*, 10(3), 50-53.
- Göktaş, B. (2023). *Fibromiyalji sendromu tanısı almış kadınların tedavisinde bütünleyici travma tedavi modelinin (rittm) karma yöntem ile değerlendirilmesi* . Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Maltepe Üniversitesi Lisansüstü Eğitim Enstitüsü, İstanbul.
- Guimarães da Silva, J.C., Dallegrave, E., Rodrigues, G.Z.P., Bigolina, C., Neumann, T.M.S.O., Schuster, A.C., et al. (2020). Repeated dose of meloxicam induces genotoxicity and histopathological changes in cardiac tissue of mice. *Drug And Chemical Toxicology*, 239, 2755.
- Guzman, A., Homedes, J. and Salichs, M. (2022). Evaluation of the Genotoxic Potential of the Selective COX-2 Inhibitor Enflicoxib in a Battery of in vitro and in vivo Genotoxicity Assays. *Drug Research*, 72(03), 163-170.
- Gümüş, H. (2020). Haşhaş, Afyon, Opioidler, Opiatlar Tarihi. *Kebikec: İnsan Bilimleri İçin Kaynak Arastırmalı Dergisi*, (49).
- Hagmar, L., Strömberg, U., Bonassi, S., Hansteen, I. L., Knudsen, L. E., Lindholm, C., et al. (2004). Impact Of Types Of Lymphocyte Chromosomal Aberrations On Human Cancer Risk Results From Nordic and Italian Cohorts. *Cancer Research*, 64(6), 2258-2263.
- Hayes, A. W., Hardisty, J. F., Harris, S. B. and Weber, K. (2020). The absence of genotoxicity of a novel fatty acid amide hydrolase inhibitor, BIA 10–2474. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 111, 104556.
- Heddle, J.A. and Countryman, R.I. (1976). The Production Of Micronuclei From Chromosome Aberration In Irradiated Cultures Of Human Lymphocytes. *Mutat Respiration*, 41, 321-32.

- Himly, M., Jahn-Schmid, B., Pittertschatscher, K., Bohle, B., Grubmayr, K. and Ferreira, F. (2003). IgE- mediated immediate-type hypersensitivity to the pyrazolone drug propyphenazone. *Journal Allergy Clin Immunol*, 111, 882-888.
- Hutajulu, B. J. B. (2022). *Formulasi dan Uji Penetrasi Secara In Vitro Sediaan Nanoemulsi Piroksikam*. Doctoral dissertation, Universitas Sumatera Utara, Medan-Malaysia.
- Islas-Flores, H., Manuel Gómez-Oliván, L., Galar-Martínez, M., Michelle Sánchez-Ocampo, E., SanJuan-Reyes, N., Ortíz-Reynoso, M., et al. (2017). Cyto-genotoxicity and oxidative stress in common carp (*Cyprinus carpio*) exposed to a mixture of ibuprofen and diclofenac. *Environmental Toxicology*, 32 (5), 1637-1650.
- Işık, M. N., Dalgıç, N., Okuyan, B. ve Yıldırım, Z. Y. (2020). Hastanede yatan pediatrik hastalarda ilaç tedavisinin incelenmesi: klinik eczacı önerileri. *Cocuk Enfeksiyon Dergisi*, 14(4), 237-243.
- İslami, A., Sopyan, I., Gozali, D., and Hairunnisa, H. (2020). Review Modifikasi Kelarutan Piroksikam. *Jurnal Ilmiah Farmako Bahari*, 11(1), 89-102.
- Jain, A. K. and Sorbhoy, R. K. (1988). Cytogenetical Studies On The Effects Of Some Chlorinated Pesticides. *Cytologia*, 53, 427-436.
- 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 Mutagenicity: Assays and Applications. *London. Academic Press*, 69-92.
- Karanfil, A. (2020). *Parasetamol ile oluşturulmuş deneysel karaciğer toksisitesi modelinde dekspantenol ve tokoferolün olası koruyucu etkisi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Adnan Menderes Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Aydın.
- Kartal, A. (2015). *Benzil Benzoatın Sitotoksitesinin İn Vitro Koşullar Altında Araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Hacettepe Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Kartlaşmış, K. ve Dikmen, N.(2021). Nükleobazların Demetilasyonu ve Güncel Gelişmeler. *Arşiv Kaynak Tarama Dergisi*, 30(3), 158-165.
- Kemer, S. ve Ergün, H. (2021). İlaç Sınıflandırmaları ve Yüksek Riskli İlaç Kavramının Sağlık Çalışanları Tarafından Bilinirliği ve Meslek İçi Uygulamalarındaki Yeri. *Türkiye Klinikleri Tıp Bilimleri Dergisi*, 41(1), 51-62.
- Kılıç, M. ve Tuylu, B. A. (2020). An in vitro investigation of genotoxic effects of dexketoprofen trometamol on healthy human lymphocytes. *Drug and Chemical Toxicology*, 43(2), 174-181.
- Kılıç, M. (2018). *Dexketoprofen Trometamol'un genotoksik etkilerinin insan lenfosit hücrelerinde in vitro yöntemlerle araştırılması* (Doktora Tezi, Anadolu Üniversitesi).
- Kirsch-Volders, M., Elhajouji, A., Cundari, E. and Van Hummelen, P. (1997). The in vitro micronucleus test: a multi-endpoint assay to detect simultaneously mitotic delay,

- apoptosis, chromosome breakage, chromosome loss and non-disjunction. *Mutation Research/Genetic Toxicology and Environmental Mutagenesis*, 392(1-2), 19-30.
- Kishino, Y., Hasegawa, T., Yamoto, T. and Mori, K. (2019). Species differences in micronucleus induction of the clastogenic compounds associated with drug metabolic profile. *The Journal of Toxicological Sciences*, 44(10), 701-709.
- Koçana, C. Ç., Toprak, S.F., Yaşa. B., Hekimoğlu, H. ve Tokdemir, S. S. (2019). Cell free DNA and genomastasis. *Experimed*, 9(2), 69-74.
- Krishna, G. and Hayashi, M. (2009). In Vivo Rodent Micronucleus Assay: Protocol, Conduct And Data Interpretation. *Mutat Respiration*, 455, 155-66.
- Kuru, T., Yeldan, İ., Zengin, A., Kostanoğlu, A., Tekeoğlu, A., Akbaba, Y. A., et all. (2011). Erişkinlerde ağrı ve farklı ağrı tedavilerinin prevalansı. *Ağrı*, 23(1), 22-27.
- Lee, S.J., Bai, S.K., Lee, K.S., Namkoong, S., Na, H.J., Ha, K.S., et all. (2003). Astaxanthin inhibits nitric oxide production and inflammatory gene expression by suppressing I(kappa)B kinase-dependent NF-kappaB activation. *Molecular Cell*, 1681,97-105.
- Luijten, M., Speksnijder, E.N., Alphen, N., Westerman, A., Heisterkamp, S.H., Benthema, J., et all. (2006). Phenacetin acts as a weak genotoxic compound preferentially in the kidney of DNA repair deficient Xpa mice. *Mutation Research*, 596,143-150.
- Mamur, S., Ataseven, N., Ünal, F. ve Yüzbaşıoğlu, D. (2018). Gıdalarda koruyucu katkı maddesi olarak kullanılan sodyum benzoat ve potasyum sorbat karışımının genotoksik eşiğin mikronükleus testi ile belirlenmesi. *Balıkesir Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü Dergisi*, 20 (2), 235-245.
- Matthiesen, T., Wöhrmann, T., Coogan, T.P. and Uragg, H. (1998). The experimental toxicology of tramadol: an overview. *Toxicology Letters*, 95 (1), 63-71.
- Mehlich, D.R. (2002).The efficacy of combination analgesic therapy in relieving dental pain. *The Journal of the American Dental Association*, 133,861-871.
- Mirza, S., Miroshnyk, I., Habib, M.J., Brausch, J.F. and Hussain, M.D. (2010). Enhanced Dissolution and Oral Bioavailability of Piroxicam Formulations: Modulating Effect of Phospholipids. *Pharmaceutics*, 2(4), 339–350.
- Mortelmans, K. and Rupa, S.D. (2005). Current Issues In Genetic Toxicology Testing For Microbiologists, *Apply Microbiology*, 56,379-401.
- Norppa, H., Bonassi, S., Hansteen, I.L. Hagmar, L. and Strömberg, U. (2006). Chromosomal Aberrations and SCE As Biomarkers Of Cancer Risk. *Mutatiton Research*, 600 (1-2), 37-45.
- 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.

- O'Neill, A. and Lirk, P. (2022). Multimodal Analgesia. *Anesthesiology Clinics*, 40(3), 455-468.
- Organization for Economic Co-operation and Development (OECD). (2008). OECD Guidelines for the Testing of Chemicals, *Health Effects*, 4: 471–486.
- Ömerustaoğlu, H. (2017). *5-Pirazolon-Üre Türevli Schiff Bazlarının Sentezi ve Karakterizasyonu*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Ordu Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ordu.
- Özgür, Y. Ve Özzeybek, S. D. (2020). Rat Alt Ekstremitte İskemi Reperfüzyon Hasarının Tenoksikam ile Önlenmesi. *Akdeniz Tıp Dergisi*, 6(3), 418-423.
- Özkan, H.D., Kocatürk, Ö., Okutan, P.A. ve Özer, S.Y. (2021). Genel Anestezi Altında Yapılan Kanal Tedavilerinde Parasetamol ve Tenoksikamın Postoperatif Ağrı ve Kurtarma Analjezi İhtiyacı Üzerine Etkisi: Retrospektif Bir Çalışma/Genel Anestezi Altında Tamamlanan Kok Kanal Tedavilerinde Parasetamol ve Tenoksikamın Postoperatif Ağrı Düzeyi ve Kurtarma Analjezisi Gereksinimi Uzerine Etkisinin Değerlendirilmesi: Retrospektif Bir Arastırma . *Meandros Tıp ve Diş Dergisi*, 22 (3), 282-291.
- Özkılıç, R., Kuru, T., İpek, S., Keskin, E., Işık, C. ve Kaya, Y. E. (2018). Diz osteoartritinde intraartiküler hyalüronik asit ve tenoksikamın ağrı ve diz eklem fonksiyonları üzerine etkilerinin karşılaştırılması. *Acta Medica Alanya*, 2(3), 149-158.
- Palus J., Rydzynski K., Dziubaltowska E., Wyszynska K., Natarajan AT. And Nilsson R. (2003). Genotoxic effects of occupational exposure to lead and cadmium. *Mutation Research*, 540, 19–28.
- Parolini, M., Binelli, A. ve Provini, A. (2011). Assessment of the Potential Cyto–Genotoxicity of the Nonsteroidal Anti-Inflammatory Drug (NSAID) Diclofenac on the Zebra Mussel (*Dreissena polymorpha*). *Biology ,Water, Air and Soil Pollution*, 217, 589-601.
- Raharjo, S. T., Pambudi, D. B. and Mugiyanto, E. (2019, January). Pengaruh Penambahan Ekstrak Daun Sirsak (*Annona muricata* L.) Terhadap Profil Farmakokinetika Piroksikam. *In Prosiding University Research Colloquium*, 420-427.
- Rainsford, K.A. (1986). Structural damage and changes in eicosanoid metabolites in the gastric mucosa of rats and pigs induced by anti-inflammatory drugs of varying ulcerogenicity. *International Journal of Tissue Reactions*, 8(1),14-17.
- Registre, M. and Proudlock, R. (2016). The in vitro chromosome aberration test. In R. Proudlock (Ed.), *Genetic Toxicology Testing, A Laboratory Manual*. North Carolina. *Academic Press*.
- Rina, T., Shyam, S. P. and Pankaj, T. (2012). Genotoxicity of ibuprofen in mouse bone marrow cells in vivo. *Drug and Chemical Toxicology*, 27, 940-951.

- 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.
- Rojas, E., Lopez, M.C. and Valverde, M. (1999). Single cell gel electrophoresis assay: methodology and applications. *Journal Chromatography Biomedical Science* 722(1-2), 225-254.
- Sarihan, E., Kadioğlu, E. Ve Artıran İğde, F. (2012). Kanser Ağrısı, Tedavi Prensipleri ve Dünya Sağlık Örgütü Ağrı Basamak Tedavisi. *Nobel Medicine* ,8(1), 5-15.
- Sari, R. (2004).Peninhatan Loju Disolusi Piroksicam Dengan Sistem Dispersi Padat Piroksicam. *Airlangga Journal of Pharmacy*, 4(1).
- Satoh, T., Hatanaka, M., Yamamoto, K., Kuro-O, M. and Sofuni, T. (2002). Application Of Mfish For The Analysis Of Chemically-Induced Chromosomal Aberrations: A Model For The Formation Of Triradial Chromosomes. *Mutation Research/Fundamental And Molecular Mechanisms Of Mutagenesis*, 504(1), 57-65.
- Savage, J. R. (1993). Update On Target Theory As Applied To Chromosomal Aberrations. *Environmental and Molecular Mutagenesis*, 22(4), 198-207.
- Schmid, W. (1975). The Micronucleus Test. *Mutation Respiration*, 31, 9-15.
- Shohin, I.E., Kulinich, J.I., Ramenskaya, G.V., Abrahamsson, B., Kopp, S. and Langguth, P. (2014). Biowaiver monographs for immediate release solid oral dosage forms: piroxicam. *Journal of Pharmaceutical Sciences*,103(2), 367–377.
- Silva, W.C., Machado, P.H.A., Santos, B.S., Ribeiro, T.P, Rocha, E.C., Coneglian, A., et all. (2020). Cytotoxicity and genotoxicity of Vernonia condensata Baker aqueous extracts in an Allium cepa test system and C2C12 cell culture. *Indian Journal of Traditional Knowledge (IJTK)*, 19 (4), 692-701.
- Skoulis, N.P., James, R.C., Harbison, R.D. and Roberts, S.M. (1989). Depression of hepatic glutathione by opioid analgesic drugs in mice. *Toxicology Applied Pharmacol*, 99(1), 139-147.
- Stein, J., Jorge, B. C., Reis, A. C. C., Radai, J. A. S., da Silva Moreira, S., Fraga, T. L., et all. (2022). Evaluation of the safety of ethanolic extract from Piper amalago L.(Piperaceae) leaves in vivo: Subacute toxicity and genotoxicity studies. *Regulatory Toxicology and Pharmacology*, 129, 105118.
- Stopper, H. and Müller, O.S. (1997). Micronuclei As A Biological Endpoint For Genotoxicity: A Minireview. *Journal of Toxicology In Vitro*, 11(5), 661-667.
- Synder, R.D. and Yeşil, J.H. (2001). A review of the genotoxicity of marketed pharmaceuticals *Mutation Research*, 488(2), 151-169.
- Şavlı, E. (2012). Gebelikte parasetamol kullanımı. *Journal of Experimental and Clinical Medicine*, 29(2), 91-94

- Şekeroğlu, V., Aksoy, M. and Atlı Şekeroğlu, Z. (2017). Cytogenetic Alterations İn Human Lymphocyte Cultures Following Exposure To Ofloxacin. *Drug And Chemical Toxicology*, 40(2), 140-145.
- Şenyüz, K. Y. ve Koçaşlı, S. (2017). Cerrahi sonrası ağrıda multimodal analjezi ve hemşirelik yaklaşımı. *Sağlık Akademisyenleri Dergisi*, 4(2), 90-95.
- Taşkın, S. (2015). *Farklı konsantrasyonlardaki asetilsalisilik asitin lenfosit hücre kültürü ortamında genotoksisite ve oksidatif durum üzerine etkilerinin araştırılması/Effects of acetylsalicylic acid on genotoxicity and oxidative status at different concentrations on lymphocytes in in vitro conditions*. Doktora Tezi, Harran Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü. Şanlıurfa.
- Tayyaba, A., Maleeha, R., Mubarik, M.R., Zahoor, K., Asad, F., Yaqoob, S., et al. (2020). Genotoxicity and repair capability of Mus musculus DNA following theoral exposure to Tramadol, *Saudi Journal of Biological Sciences*, 20, 12-17.
- Timirci-Kahraman, Ö. (2013). COX-1 Enzimi ve Endotel Disfonksiyon Arasındaki İlişki. *Deneyisel Tıp Araştırma Enstitüsü Dergisi*, 3(5).
- Timocin, S. and İla, H.B. (2020). Hypericum Perforatum Ekstraktının Sıçanlarda Genotoksik ve Antigenotoksik Potansiyelinin In Vivo Araştırılması. *Deneyisel ve Uygulamalı Tıp Bilimi*, 1 (2), 36-44.
- Timocin, T. and İla, H.B. (2015). Investigation of flurbiprofen genotoxicity and cytotoxicity in rat bone marrow cells. *Drug and Chemical Toxicology*, 38(3), 355-360.
- Timoroğlu, İ. (2009). *Trichlorfon ve Phorate İnsektisitlerinin İnsan Lenfositlerinde Genotoksik Etkileri*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Gazi Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Ankara.
- Topaktaş, M. ve Rencüzoğulları, E. (2010). *Sitogenetik* (Üçüncü baskı). Ankara: Nobel Yayınevi.
- Ünal, D. (2011). *Farklı Oranlarda Laktitol ve Sakkaroz İlavesiyle Hazırlanan Tekirdağ Peynir Helvalarının Bazı Özelliklerinin Belirlenmesi*. Yüksek Lisans Tezi, Namık Kemal Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Tekirdağ.
- Üstüner, D. (2011). Kromozom Kırıkları ve Mikronükleus-Apoptoz Bağlantısı. *TÜBAV Bilim Dergisi*, 4(1): 64-69.
- Vanparys, P., Vermeiren, F., Sysmans, M. and Temmerman, R. (1990). The Micronucleus Assay As A Test For The Detection Of Aneugenic Activitiy. *Mutation Respiration*, 244, 95-103.
- Vassilides, N., Mourelatos, D., Eliopoulos, P., Kourakis, A. and Dozi-Vassiliades, J. (1991). Enhanced genotoxicity by melphalan and hyperthermia in chronic heroin addicts. *Forensic Science Interview*, 50(2), 269-726.

- Von-Ledebur, M.M. and Schmid,W. (2003).The Micronucleus Test:Methodological Aspects. *Mutat Respiration*, 19,109-117.
- Vural, N. (2005). *Toksikoloji*. Ankara Üniversitesi Eczacılık Fakültesi Yayınları, Ankara.
- Widel, M., Kolosza, Z., Jedrus, S., Lukaszczyk, B., RaczekZwierzycka, K. and Swierniak, A. (2001). Micronucleus Assay In Vivo Provides Significant Prognostic Information In Human Cervical Carcinoma: The Updated Analysis. *International Journal of Radiat Biology*,77, 631-6.
- Widel, M., Kolosza, Z., Jedruu, S., Lukaszczyk, B., Raczek-Zwierzycka, K. And vwierniak, A. (2001). Micronucleus Assay In Vivo Provides Significant Prognostic Information In Human Cervical Carcinoma; The Updated Analysis. *International Journal of Radiation Biology*, 77 (5), 631-636.
- Yazgan, K. (2020). *Ratlarda ammi visnaga L.(diş otu) özütünün ağrı üzerindeki etkisinin hot plate ve tail flick testleriyle araştırılması*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi, Kırıkkale Üniversitesi Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Kırıkkale.
- Ye, K., Keshava, N., Shanks, J., Kapp, J.A., Tekmal, R.R. and Petros, J. (1998). Opium alkaloid noscapine is an antitumor agent that arrests metaphase and induces apoptosis in dividing cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 95(4), 1601-1606.
- Yenice, B. (2005). *Ty2 Retrotranspozonu Transkripsiyonunun Düzenlenmesine Kromatin Modifiye Edici Faktörlerin Etkilerinin Analizi*. Yayınlanmamış Yüksek Lisans Tezi. Uludağ Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Bursa.
- Yılmaz, İ., Tutar, N., Yenigün, S., Özer Şimşek, Z. ve Gülmez, İ. (2017). Deri Yama Testi ile Doğrulan Tenoksikamin Neden Olduğu Fiks İlaç Erüpsiyonu. *Asthma Allergy Immunology/Astım Allerji Immunoloji*, 15(3), 162-164.
- Yılmaz, S., Ünal, F., Aksoy, H., Yüzbaşıoğlu, D. and Çelik, M. (2008). Cytogenetic Effects Of Citric Acid and Benzoic Acid On Allium Chromosomes. *Fresenius Environmental Bulletin*, 17(8 A), 1029-1037.
- Yirmibeş, K. M. (2007). İnsandaki Genetik Hastalıklar. *MİSED (Türk Eczacılar Birliği Yayını/Meslek İçi Sürekli Eğitim Dergisi)*, 19–20, 5–15.
- Young, R.R. (2002). Genetic toxicology. *Journal of Toxicology*, 173, 103-21.
- Yüzbaşıoğlu, D., Yılmaz, E. A. ve Fatma, Ü. (2016). Antidepresan İlaçlar ve Genotoksisite. *Tübvav Bilim Dergisi*, 9(1), 17-28.
- Zan, Ü. (2007). *Esmeron (Rocuronium bromür)un insan periferik lenfositlerinde in vitro genotoksik etkileri*. Yüksek lisans tezi, Çukurova Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü, Adana.

Zeiger, E. (2004).History And Rationale Of Genetic Toxicology Testing: An İmpersonal, And Sometimes Personal. *Journal of Environmental Molecular Mutagen*, 44, 363-371.

Ziypak, E. (2017). *Ekstrakorporeal şok dalga litotripsi analjezisinde transkutanöz elektriksel sinir stimölasyonu ile iki sedo-analjezik ilaç kombinasyonunun karşılaştırılması*. Uzmanlık Tezi, Atatürk Üniversitesi Tıp Faköltesi Anesteziyoloji ve Reanimasyon Anabilim Dalı, Erzurum.





EKLER

EK-1. Amasya Üniversitesi Girişimsel Olmayan Klinik Araştırmalar Etik Kurulu Kurur Karar Formu.

T.C.

AMASYA ÜNİVERSİTESİ

GİRİŞİMSEL OLMAYAN KLİNİK ARAŞTIRMALAR ETİK KURULU KURUL KARAR FORMU

Toplantı Tarihi	Toplantı Sayısı	Karar No
03 Haziran 2021	6	86

KARAR NO 86:

Amasya Üniversitesi Amasya Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu Bilgisayar Teknolojileri/Sağlık Bilgi Sistemleri Teknikerliği Bölümü Dr.Öğr.Üyesi Ece AVULOĞLU YILMAZ'ın yürütücülüğünde olan ve Yardımcı Araştırmacı olarak yer alan Amasya Üniversitesi Fen Bilimleri Enstitüsü'nde öğrenim gören Biyoloji Anabilim Dalı Yüksek Lisans öğrencisi Hümeysra GÜL'ün işbirliğinde, Amasya Üniversitesi Amasya Teknik Bilimler Meslek Yüksekokulu ve Merkezi Araştırma Uygulama Laboratuvarı Uygulama ve Araştırma Merkezi Müdürlüğü'nde yapılması öngörülen **“Analjezik İlaç Etken Maddeleri Olan Piroksikam ve Tenoksikam’ın Genotoksik Etkilerinin Araştırılması”** konulu tez çalışması, Kurul tarafından proje araştırma etiği yönünden değerlendirildi ve incelendi.

Söz konusu tez çalışmasının yürütülmesinin ve uygulanmasının etik olarak uygun olduğuna katılanların oybirliğiyle karar verildi.

		KABUL	RED
BAŞKAN	Prof. Dr. İlkey ÖZTÜRK ÇALI	İMZA	
BAŞKAN	Dr. Öğr. Üyesi Bedirhan Sezer ÖNER	İZİNLİ	
YARDIMCISI			
RAPORTÖR	Dr. Öğr. Üyesi Eylem TOPBAŞ	İMZA	
ÜYELER	Dr. Öğr. Üyesi Safiye ÖZKAN	İMZA	
	Dr. Öğr. Üyesi Fatma Zeynep ÖZEN	İMZA	
	Dr. Öğr. Üyesi Aylin ÇAPRAZ	İMZA	
	Dr. Öğr. Üyesi Abdulkadir ÇAKMAK	İMZA	
	Dr. Öğr. Üyesi Burak YAZGAN	İMZA	
	Dr. Öğr. Üyesi Nurdan KARPUS DEMİR	İMZA	

ÖZGEÇMİŞ

Kişisel Bilgiler

Adı-Soyadı : Hümeysra GÜL

Bilimsel Faaliyetler (Yayınlar,Bildiriler, Katıldığı Projeler

Gül. H. Avuloğlu-Yılmaz E. (2022, 4-6 June). *Determination of possible genotoxic effect of analgesic drug active ingredient tenoxicam using chromosomal aberration assay*. 8th International Mardin Artuklu Scientific Researches Conference. Mardin, Turkey.

Gül. H. Avuloğlu-Yılmaz E. Maraklı. S. (2022, 18-20 May). *One of the important epigenetic players, Y RNAs*. 2th International Biology Congress Held in Kyrgyz-Turkish Manas University, Bishkek, Kyrgyz Republic.