

**T. C.  
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**SAĞLIKLI BİREYLERDEN ALINAN PERİFERİK KANDA  
İN-VİTRO KOŞULLARDA ATORVASTATİNİN ETKİLERİ**

**Biyolog Başak ASLANELİ ÇAKMAK**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**



**İSTANBUL, 2011**

**T. C.  
İSTANBUL BİLİM ÜNİVERSİTESİ  
SAĞLIK BİLİMLERİ ENSTİTÜSÜ  
TIBBİ BİYOLOJİ VE GENETİK ANABİLİM DALI**

**SAĞLIKLI BİREYLERDEN ALINAN PERİFERİK KANDA  
İN-VİTRO KOŞULLARDA ATORVASTATİNİN ETKİLERİ**

**Biyolog Başak ASLANELİ ÇAKMAK**

**Tez Danışmanı  
Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ**

**YÜKSEK LİSANS TEZİ**

**İSTANBUL, 2011**

## BEYAN

Bu tez çalışmasının kendi çalışmam olduğunu, tezin planlanmasından yazımına kadar bütün safhalarda etik dışı davranışımın olmadığını, bu tezdeki bütün bilgileri akademik ve etik kurallar içinde elde ettiğimi, bu tez çalışmayla elde edilmeyen bütün bilgi ve yorumlara kaynak gösterdiğimi ve bu kaynakları da kaynaklar listesine aldığımı, yine bu tezin çalışılması ve yazımı sırasında patent ve telif haklarını ihlal edici bir davranışımın olmadığı beyan ederim.

Başak ASLANELİ ÇAKMAK



# İÇİNDEKİLER

	Sayfa No
1. ÖZET.....	1
2. SUMMARY.....	2
3.GİRİŞ VE AMAÇ.....	3
4. GENEL BİLGİLER.....	4
4.1. STATİNLER.....	4
4.1.1. Statin Çeşitleri.....	4
4.1.2. Statinlerin Etkime Özellikleri.....	5
4.1.3. Statinlerin Pleotropik Etkileri.....	6
4.1.3.1. Vasküler İnflamasyonu Azaltıcı Etkisi.....	6
4.1.3.2. Antiinflamatuar Etkisi.....	6
4.1.3.3. Endotel Fonksiyonlarını Düzeltici Etkisi.....	7
4.1.3.4. Antitrombotik Etkisi.....	7
4.1.3.5. Plak Stabilitesi Üzerine Etkisi.....	7
4.1.3.6. LDL Oksidasyonu Üzerine Etkisi.....	8
4.1.3.7. Düz Kas Hücrelerinin Çoğalması Ve Göçü Üzerine Etkisi.....	8
4.1.3.8. Antioksidan Etkisi.....	8
4.1.4. Statinlerin Kimyasal ve Fonksiyonel Etkisi.....	9
4.1.4.1. Statinlerin Farmakokinetik Özellikleri.....	9
4.1.4.2. Statinlerin Etki Mekanizmaları.....	11
4.1.5. Statinlerin Yan Etkileri.....	12
4.1.5.1. Hepatik Yan Etkiler.....	12
4.1.5.2. Miyopati.....	12
4.2.ATORVASTATİN'İN TERATOJENİK ETKİSİ.....	13
4.3. KROMOZOM, KROMOZOM İNSTABİLİTESİ ve KROMOZOM KIRIK SENDROMLARI.....	15
5. MATERYAL ve YÖNTEM.....	18
5.1. GEREÇ.....	18
5.1.1. Örnekler.....	18
5.1.2. Çözeltiler.....	18
5.1.2.1. Perifer Kanı Lenfosit Kültürü İçin Kullanılan Çözeltiler.....	18

5.1.2.2. Boyama İçin Kullanılan Çözeltiler.....	19
5.1.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Ekipman.....	19
5.2.YÖNTEM.....	19
5.2.1. Perifer Kanı Lenfosit Kültürü.....	19
6. BULGULAR.....	21
7. TARTIŞMA.....	27
8. SONUÇ.....	32
9. TEŞEKKÜR.....	33
10. KAYNAKLAR.....	34

## SİMGE VE KISALTMALAR

<b>CRP</b>	: C-reaktiv proteini
<b>DNA</b>	: Deoksiribonükleik asit
<b>FDA</b>	: Food and drug administration (Birleşmiş Devletler yiyecek ve ilaç kurulu)
<b>HDL</b>	: High density lipoprotein (Yüksek yoğunluklu lipoprotein)
<b>HMG – CoA</b>	: Hidroksi metil glutaril- koenzim A
<b>KAH</b>	: Kroner arter hastalık
<b>KKH</b>	: Koroner kalp hastalık
<b>LDL</b>	: Low density lipoprotein (Düşük yoğunluklu lipoprotein)
<b>LDL-K</b>	: Düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol
<b>MCP-1</b>	: Monosit kemoatraktan protein-1
<b>NADPH</b>	: Nikotinamid adenzin dinükleotid fosfat
<b>NF-KB</b>	: Nükleer Faktör Kappa-B
<b>NO</b>	: Nitrik Oksit
<b>PON</b>	: Paraoksanaz
<b>PROSPER</b>	: Pravastatin in elderly individuals at risk of vaskuler disease (Vasküler hastalık riski taşıyan yaşlı bireylerde pravastatin)
<b>SREBP</b>	: Sterol Düzenleyici Element Bağlayıcı Protein
<b>VLDL</b>	: Very Low Density Lipoprotein (Çok düşük yoğunluklu lipoprotein)
<b>Araştırma Proje No</b>	: TBG/0452009

## 1. ÖZET

Statinler; yüksek kan kolesterol düzeylerinden dolayı kardiyovasküler hastalık riski taşıyan kişilerde kolesterolü düşürmek için kullanılırlar. Statinler ateroskleroza engellerken kolesterol düşürücü etkilerinden başka etkiler de gösterirler. Bunlar; endotel işlevin iyileştirilmesi, yangı tepkisinin düzenlenmesi (modülasyonu), ateroskleroz plak stabilitesinin korunması ve tromboz oluşumunun engellenmesidir. Hipolipidemik ilaçlardan en çok tercih edilen atorvastatinin teratojenik etkisi tam olarak açıklanamamıştır.

Yapılan çalışmada 15 sağlıklı bireylerden alınan perifer kanında in vitro koşullarda atorvastatinin açısından sitogenetik olarak incelendi. Atorvastatin; kısa süreli lenfosit kültürünün ilk hücre siklusuna yaygın kullanılan 10mg ve 20mg lik final konsantrasyonları ile, standart takılan hastalarda ise standı koruma amaçlı kullanılan 80mg lik dozu ve bunun iki katı 160 mg lik final konsantrasyonları şeklinde eklendi. 160 mg lik atorvastatinin klinik olarak kullanımını mevcut değildir. Atorvastatinin klastojenik etkisi doz arttıkça stabil kalıp kalmayacağı araştırıldı. Aynı hastalara ait atorvastatin eklenmemiş lenfosit kültürü de yapıldı. Atorvastatinin 10mg, 20mg ve 80mg'lık final konsantrasyonları kontrole göre klastojenik olduğu bulundu. Klinikte kullanımı olmayan final konsantrasyonu 160 mg lik atorvastatin kontrole göre anlamlı derecede kromozomlar üzerinde kırık meydana getirmemiştir.

**Anahtar Kelimeler:** Atorvastatin, klastojenik, teratojen, sitogenetik

## 2. SUMMARY

Statins are used to lower the cholesterol on individuals who have cardiovascular risk due to amount of high cholesterol in their blood. Besides, stopping the atherosclerosis, Statins show extra effects withal lowering cholesterol. Those are; recruitment of endothelial function, modulation of infection reaction, protection of atheroma plaque stability and stopping thrombosis nascency. The most preferred hypolipydemic drug, atorvastatin's teratogenic effect cannot be explained clearly.

During the experiment, periphery blood from 15 healthy individuals, was cytogenetically investigated in vitro conditions in the term of atorvastatin. Atorvastatin; was added into first cell cycle both of short term lymphocyte culture with frequently used 10 mg / 20 mg final concentrations and stent installed patients with 80 mg (to protect the stent) and double qty 160 mg final concentrations. Atorvastatin 160 mg dose is not used for clinical. Atorvastatin's clastogenic effect was investigated if protects its stability by increasing the dose. Another lymphocyte culture was prepared without atorvastatin from same individuals. Atorvastatin's 10 mg, 20 mg and 80 mg final concentrations were detected clastogenic according to experimental control. "No Clinics Use" 160 mg atorvastatin concentration did not make remarkable fractures on chromosomes according to experimental control.

**Key Words:** Atorvastatin, clastogenic, teratogenic, cytogenetic



### 3. GİRİŞ ve AMAÇ

Statinler; yüksek kan kolesterol düzeylerinden dolayı kardiyovasküler hastalık riski taşıyan kişilerde kolesterolu düşürmek için kullanılırlar. Statinler dahili kolesterol sentezini engellemekle beraber etkileri bundan öteye de gider. Hücre içi kolesterol düzeylerini azaltarak karaciğer hücrelerinde LDL reseptör sentezinin artmasına neden olurlar, bu da kandan LDL'nin alınmasını hızlandırır. Bunlar; HDL kolesterol yükseltmesinde, LDL ve trigliserid tedavisinde kullanılır. Aynı zamanda koroner kalp hastalığı veya tip 2 diabet hastalığı olan kişilerde; kalp krizi, kalp veya komplikasyonlara bağlı olan inme riskini azaltmak için kullanılır. Statinler ateroskleroza engellerken kolesterol düşürücü etkilerinden başka etkiler de gösterirler. Bunlar; endotel işlevin iyileştirilmesi, yangı tepkisinin düzenlenmesi (modülasyonu), aterom plak stabilitesinin korunması ve tromboz oluşumunun engellenmesidir (1).

Hipolipidemik ilaçlardan en çok tercih edilen atorvastatinin teratojenik etkisi tam olarak açıklanamamıştır. Fakat atorvastatinin teratojenik açıdan en riskli grup içerisinde olduğu düşünülmektedir. Yapılacak olan çalışmada sağlıklı bireylerden alınan perifer kanında in vitro koşullarda atorvastatinin sitogenetik olarak incelenmesi esas alınmıştır. Bu araştırma sonucunda atorvastatinin kromozomlar üzerinde kırık meydana getirip getirmediğinin anlaşılması amaçlanmaktadır.

## 4. GENEL BİLGİLER

### 4.1. STATİNLER

Statinler, kandaki kolesterol ve trigliserid (lipidler) düzeyini azaltmak için kullanılan ilaçlardır. Statinler, kolesterol sentezinde hız kısıtlayıcı basamak olan 3-hidroksi-3-metil-3-glutaril koenzim A (HMG-KoA) redüktaz enziminin inhibitörleridir (2).

Düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) kolesterolü düşürmek, kardiyovasküler olayları azaltma anlamını taşımaktadır. HMG-KoA redüktaz inhibitörleri (statinler), LDL kolesterolü düşürmede etkindirler ve hem birincil hem de ikincil korunma çalışmalarında, mortalite ve kardiyovasküler olayları azalttıkları gösterilmiştir (3).

#### 4.1.1. Statin Çeşitleri

Bugün statinler, dislipidemi tedavisinde sıklıkla reçete edilmektedir ve bu gruptan ülkemizde bulunan ajanlar: atorvastatin, simvastatin, pravastatin, fluvastatin ve rosuvastatindir (4).

Alberts ve arkadaşları, insanda kullanımı uygun görülen ilk statin olan ve *Aspergillus terreus*'dan izole edilen lovastatini geliştirmişlerdir (5). Lovastatin'in Birleşik Devletler yiyecek ve ilaç kurulu (FDA) tarafından kabul edilmesinin ardından bu güne kadar 7 statin daha geliştirilmiştir. Bunlardan lovastatin, simvastatin ve pravastatin fungal kaynaklı iken, atorvastatin, fluvastatin, cerivastatin, pitvastatin ve rosuvastatin tamamen sentetik bileşiklerdir (6).

Dünya çapında en çok kabul edilen cerivastatin (1998 de geçerliliği Kabul edilmiş, fakat 2001 de piyasadan geri çekilmiştir) kas dokusundaki hasar anlamına gelen rabdomiyoliz ile ilişkili bir rapor nedeniyle geri çekilmiştir (7). İlacın miligram başına LDL düşürücü etki gücü artan sırayla; fluvastatin (1994), lovastatin (ilk ruhsatı 1987 de alındı, fakat İngiltere'de kullanılmıyor), pravastatin (1991), simvastatin (1988),

atorvastatin(1997), rosuvastatin(2003) ve pitavastatindir (2003 sadece Japonya ve Hindistan da kullanılıyor).

Statinler, kendi aralarında, etkinlik dereceleri ve muhtemel yan etkileri bakımından farklılıklar göstermektedir. Yan etkilerin ortaya çıkma olasılığı dozla arttığı için, doktorlar doğal olarak maksimum etkiyi mümkün olan en az dozla elde etmeyi tercih etmektedir. Atorvastatin ve rosuvastatin statinler arasında en etkinleridir. Ardından etkinlik sırasına göre; simvastatin, lovastatin, pravastatin ve fluvastatin gelir. Ancak rosuvastatin morbidite ve mortalite çalışmaları bulunmadığından ve pazara verilmesinden sonraki ilk bir yıl içerisinde FDA'ye bildirilen yüksek yan etki sıklığı nedeniyle henüz klinik etkinliği ve güvenilirliği bilinmemektedir (8).

#### 4.1.2. Statinlerin Etkime Özellikleri

Statinlerin maksimum etkinlikleri 3 - 4 hafta sonunda ortaya çıkar. Doz -yanıt ilişkisi doğrusal değildir, doz iki katına çıkarıldığında LDL'de ilave olarak ancak %6'lık bir düşüş elde edilebilir. Karaciğer majör etkilenen organ olduğundan statinlerin plazma düzeyleri farmakodinamik etkileri ile paralellik göstermez. Ayrıca karaciğerde yüksek oranda ilk geçiş eliminasyonuna uğraması oldukça önemli bir avantaj olabilir.

Yüksek risk taşıyan aterosklerotik kardiyovasküler hastalarında düşük yoğunluklu lipoprotein (LDL) seviyesini azaltmak için birincil tedavi olarak statinler kullanılır. Bu ajanlar dünya çapında milyonlarca yüksek risk faktörü taşıyan hastalarda birincil korumanın sağlanması için kullanılmaktadır. Kısa zamanda daha iyi terapötik etki elde etmek için 10mg dan 80 mg a kadar farklı konsantrasyonlarda dozlar kullanılır (9).

Vücuttaki kolesterolün 3/4'ü endojen kaynaklı olup, bunun 2/3'ü karaciğerde yapılır. Statinler kolesterol biyosentezinde önemli rolü olan HMG-CoA redüktazı geri dönüşümlü inhibe ederek, plazma kolesterol, LDL, apo-B ve trigliseridleri düşürür, HDL düzeyini ise yükseltir (10).

Statinler genellikle yüksek oranda intestinal ve/veya hepatik ilk geçiş eliminasyonuna uğrarlar, bu nedenle yarı ömürleri kısadır. Kolesterol sentezi gece daha fazla olduğundan plazma yarı ömrü kısa olan statinler gece verildiklerinde daha fazla kolesterol düşüşü sağlarlar. Fakat yarı ömrü uzun olanlar (atorvastatin, rosuvastatin) sabah verildiklerinde de aynı derecede etkinlik gösterebilir (11).

Serum kolesterol konsantrasyonunun yükselmesi de aterosklerozun gelişmesini arttırmaktadır (12). Epidemiyolojik ve klinik çalışmalar serum total kolesterolü ile kronik kalp hastalıkları (KKH) insidansı arasındaki ilişkiyi ortaya koymuştur (13, 14). Serum total kolesterolünün yaklaşık üçte ikisini oluşturan düşük dansiteli kolesterol (LDL), serumda bulunan kolesterolün major aterojenik bölümünü meydana getirir. Çok sayıda çalışma LDL düzeyinin düşürülmesinin KKH insidansını azalttığını ortaya koymuştur. Dolayısıyla KKH'nın önlenmesinde primer hedef LDL'nin düşürülmesidir (15, 16, 17, 18).

#### **4.1.3. Statinlerin Pleitropik Etkileri**

Pleitropik etki, bir ilacın amaçlanan etkisi dışında, diğer sistemler üzerine olan farklı etkilerine denir. Klinik çalışmalarda kardiyovasküler olaylardaki azalma ile LDL düşüşü arasındaki ilişkinin zayıf olması, bu duruma sebep olabilecek başka mekanizmaların da olabileceğini düşündürmüştür. Statinlerin pleitropik etkileri şunlardır;

##### **4.1.3.1. Vasküler İnflamasyonu Azaltıcı Etkisi**

Klinik çalışmalar kardiyovasküler olaylar için bağımsız bir prognostik faktör olan C-reaktif proteini (crp) düzeyinin statin tedavisi ile azaldığını göstermiştir (19, 20).

##### **4.1.3.2. Antienflamatuvar Etkisi**

Aterogenezin erken basamaklarından biri, endotel fonksiyonlarının bozulması sonucu monositlerin endotele yapışması ve subendoteliyal boşluğa ilerlemeleridir. Monositler daha sonra makrofajlara dönüşmekte ve çeşitli proteolitik enzimler ile büyüme faktörleri salgılamaktadırlar. Deneysel araştırmalarda, aterosklerozda neointimada monosit kemoatraktanlarının varlığı gösterilmiştir. Bunların en önemlisi MCP-1 (Monosit kemoatraktan protein-1) ve nükleer faktör kappa-B (NF-KB)'nin zedelenmiş endotelde aktive olduğu gösterilmiştir. Yapılan çalışmalarda atorvastatinin bu faktörlerin aktivasyonunu inhibe ettiği ve monosit infiltrasyonunu engellediği gösterilmiştir. Yine yapılan çalışmalarda lovastatin ve simvastatinin, hiperkolesterolemisi olan kişilerde monositlerin endotel hücrelerine yapışmalarını engellediği gösterilmiştir (21).

#### **4.1.3.3. Endotel Fonksiyonlarını Düzeltici Etkisi**

Yapılan çalışmalar endotele bağımlı vazodilatasyonun statinlerle düzeldiğini göstermiştir (22, 23).

Endotel fonksiyonunun en önemli mediatörü nitrik oksit (NO) tir. NO salınımında azalma sonucu trombosit adezyonu artar, vazokonstriksiyon olur, yüzey gerilimi ile lökosit adezyonu artar ve bunların sonucunda da tromboz kolaylaşır. Hiperkolesterolemide endotel disfonksiyonunun nedeni artmış oksidatif stres ve yine hiperkolesterolemi durumunda artan endotel aracılı süperoksit radikalleri, NO'nun parçalanmasına neden olur. Yapılan bir çalışmada, statin tedavisi alan hiperkolesterolemili hastalar tedavi başladıktan 6 ay sonra incelendiklerinde, aterosklerotik damarlarda başlangıçta var olan vazokonstriktör yanıtın tedavi ile kaybolduğu gözlenmiştir. Aynı şekilde pravastatin tedavisi sonucu total kolesterolün %31 azalması ile vazokonstriktör cevap %80 azalırken, koroner kan akımında %60 oranında artma gözlenmiştir (24, 25).

#### **4.1.3.4. Antitrombotik Etki**

Statinler trombosit membranının kolesterol içeriğini, dolayısıyla da membranın akışkanlığını değiştirerek agregasyonu azaltır. Statinlere bağlı bu etki lipid düşürücü etkiden daha kısa sürede meydana gelir (26, 27, 28).

#### **4.1.3.5. Plak Stabilitesi Üzerine Etkisi**

Endotel plağının içerdiği kolesterol esterlerinin miktarı, plak stabilitesini etkileyen en önemli faktörlerden biridir. Statinler, serumdaki LDL kolesterolü azaltarak plak içine giren LDL kolesterolün azalmasına sebep olurlar. Statinlerin, özellikle plağın kolesterol esterlerinin azalmasında ve birikiminin önlenmesinde etkili oldukları gözlenmiştir. LDL oksidasyonunun inhibe olması da endotel içine kolesterol girişini inhibe etmekte, bu da plağın kollajen sentezini ve içeriğini arttırarak stabil hale gelmesini sağlamaktadır. Yine statin tedavisiyle intima ve mediada makrofaj içeriğinin azaldığı gösterilmiştir (29).

#### **4.1.3.6. LDL Oksidasyonu Üzerine Etkisi**

LDL alt gruplarının bazıları oksidasyona daha yatkındırlar. Yapılan çeşitli çalışmalarda lovastatin ve simvastatinin, LDL oksidasyonunu ve LDL'nin makrofajlar tarafından alınımını inhibe ettikleri gösterilmiştir. Genel olarak veriler, statinlerin plazmadaki antioksidan kapasiteyi artırdıkları yönündedir (28, 29).

#### **4.1.3.7. Düz Kas Hücre Çoğalması ve Göçü Üzerine Etkisi**

Ateroskleroz oluşumunun en önemli basamağı, lipid depolanması ile birlikte düz kas hücre çoğalması ve göç etmesidir. Yapılan deneylerde statinlerin, hücre migrasyonu ve proliferasyonunu % 70-80 oranında inhibe ettikleri ve bu etkiyi hücre içi sterol sentezini inhibe ederek yaptıkları gösterilmiştir (29).

#### **4.1.3.8. Antioksidan Etkisi**

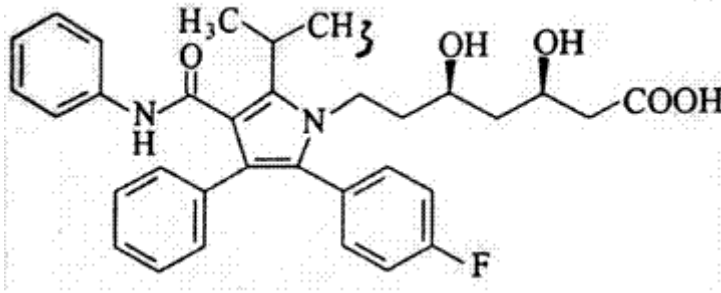
Birçok çalışmada statinlerin lipoprotein oksidasyonunu azalttığı ve serbest radikal hasarında kısmi düzelmeye sağladığı gösterilmiştir. Lovastatin, lökositlerin uyardığı LDL oksidasyonunu azaltmakta ve süperoksit dismutaz enzimini korumaktadır (30). Fluvastatin LDL'nin ekzojen oksidasyonunu yavaşlatırken, atorvastatin'in pek çok oksidatif sistemde lipoprotein oksidasyonunu azalttığı gösterilmiştir. Buna ek olarak simvastatin tedavisi alan hiperkolesterolemili kişilerde, sağlıklı kontrollere kıyasla antioksidan özelliği olan alfa tokoferolün arttığı saptanmıştır (31).

Yapılan çeşitli çalışmalarda statinlerin ayrıca immunsupresif (32), onkoprotektif (33), antihipertansif (34, 35) insülin rezistansını düzeltici (36), fatal ve nonfatal inme oranlarını azaltıcı (37) etkileri gösterilmiştir. Statinlerin faydalı etkileri Alzheimer hastalığı, multipl skleroz ve kronik böbrek hastalığında da gösterilmiştir (38, 39).

#### 4.1.4. Statinlerin Kimyası ve Fonksiyonel Özellikleri

Statinlerin kimyasal şekilleri basitçe üç parçaya ayrılabilir;

1. Hedef enzimin substratı olan HMG-CoA analogu kısım
2. Substrat analogu olan kısma kovalent bağlı olan ve statini enzime bağlama işlevini gören kompleks bir hidrofobik halka yapısı
3. İlaçların çözünme özelliklerini, dolayısıyla pek çok farmakokinetik özelliklerini belirleyen halka yapılarına bağlı yan gruplar



Şekil 1: Atorvastatinin Kimyasal Yapısı

Atorvastatin, simvastatin, fluvastatin ve lovastatin nispeten lipofilik bileşikler iken, pravastatin ve rosuvastatin sırasıyla hidroksil ve metan sülfonamid grupları içermeleri sebebiyle daha hidrofilik yapıdadırlar (40).

Tüm statinler substratla yarışarak HMG-CoA redüktazı inhibe ederler, ancak reaksiyonda koenzim olan NADPH'a (Nikotinamid adenin dinükleotit fosfat yani, NADP NADP<sup>+</sup> nın indirgenmesiyle elde edilir, NADP<sup>+</sup> de NADPH' nin yükseltgenmiş halidir) etki etmezler, bu da HMG-CoA benzeri parçaların enzimin aktif bölgesine bağlandığını düşündürmektedir.

##### 4.1.4.1. Statinlerin Farmakokinetik Özellikleri

Lovastatin ve simvastatin ön ilaç lakton (Suyun ayrılması ile bir hidroksi asidin molekül içi kondensasyonu ile oluşan susuz halkalı ester) şeklinde uygulanırlar ve vücutta enzimatik olarak aktif hidroksi asit formuna hidrolize edilirler (41). Diğer statinler ise aktif

hidroksi asit formunda verilirler (42, 43). Tüm statinler uygulamanın ardından hızla absorbe edilerek dört saat içinde en yüksek plazma konsantrasyonlarına ulaşırlar (44).

Atorvastatinin absorpsiyon hızı ve oranı gün içinde alınma zamanına göre değişirken (44), rosuvastatinin farmakokinetik özellikleri zamandan etkilenmez (45). Ancak her iki ilaç için de sabah veya akşam uygulanmaları, ilacın lipid düşürücü etkisini değiştirmez. Bunun sebebi yarılanma ömürlerinin uzun olmasıdır. Yarı ömürleri 3 saat veya daha az olan diğer statinler için en iyi uygulama zamanı, Endojen kolesterol sentezinin en hızlı olduğu akşam saatlerinde verilmeleridir (46, 47). Atorvastatinin yarı ömrünün yaklaşık 14 saat olması diğer statinlere kıyasla düşük dansiteli lipoprotein (LDL) kolesterolü düşürme etkinliğinin daha yüksek olmasına katkıda bulunur (48).

Yiyecek alımının statinler üzerine etkileri değişkendir; lovastatin yiyeceklerle birlikte alındığında daha etkin şekilde absorbe edilirken, atorvastatin, fluvastatin ve pravastatinin biyoyararlanımları azalır (49). Simvastatin ve rosuvastatin için ise herhangi bir etki saptanmamıştır (50). Pravastatin dışındaki tüm statinler büyük oranda plazma proteinlerine bağlanırlar, bu sebeple de bağlı olmayan yani sistemik olarak aktif ilaca maruziyet nispeten azdır (51, 52).

Endojen kolesterol sentezinin büyük çoğunluğu karaciğerde yapılır ve statinler etki ettikleri yer olduğu için kısmen hepatoselektiftirler. Bu hepatoselektif etkiye katkıda bulunan mekanizma, statinlerin çözünürlük profili tarafından yönetilir. Lipofilik statinler için hepatosit membranından etkin ilk geçiş eliminasyonu öncelikle pasif difüzyonla gerçekleşirken, hidrofilik statinler için ana mekanizma taşıyıcı yoluyla alınmadır (53). Lipofilitate etkin hepatik geçişle birlikte karaciğer dışı doku membranlarından geçişi de kolaylaştırır. Bu özellik hidrofilik statinlerin daha hepatoselektif olduğunu ortaya koyar.

Statinler, ağırlıklı olarak otuzun üzerinde üyesi bulunan sitokrom P450 (CYP450) enzim ailesi tarafından metabolize edilirler (54). Statinlerin çoğunluğu, ağırlıklı olarak karaciğer tarafından metabolize edildikten sonra safra yoluyla atılır, bu sebeple karaciğer disfonksiyonu statinle uyarılan miyopati için risk faktörüdür ve tüm üreticiler, statin reçete edilirken hasta hikâyesinde karaciğer hastalığı olup olmadığına dikkat edilmesini önerirler. Karaciğer hastalığı olan kişiler statinlerden kaçınmalıdır veya bu kişilere standart dozlardan daha düşük dozlar verilmelidir (55). Yine teratojenik etki olasılığı bulunduğundan hamilelik döneminde de statinler kullanılmamalıdır.



#### 4.1.4.2. Statinlerin Etki Mekanizmaları

Statinlerin primer etkisi, LDL kolesterol düzeyini azaltmaktır. Statinlerin hipolipidemik etkisi, kolesterol biyosentezinin baskılanmasına bağlıdır. Statinler, kolesterol sentezinde rol alan HMG-CoA redüktaz enzimini kompetitif olarak inhibe eder ve bu nedenle karaciğerde kolesterol sentezini azaltır. Ayrıca karaciğerde kolesterol sentezini inhibe ederek kan kolesterol düzeyini değiştirirler ve bu şekilde de LDL reseptör geninin ekspresyonunda artışa sebep olurlar. Hepatositler, içindeki serbest kolesterol miktarının azalmasına cevap olarak membrana bağlı SREBP (sterol düzenleyici element bağlayıcı protein)' ler, proteazlar tarafından membrandan ayrılır ve çekirdeğe transloke olurlar. Ardından transkripsiyon faktörleri LDL reseptör geninin sterole cevap veren bölümüne bağlanarak transkripsiyonun ve LDL reseptör sentezinin artmasına sebep olur. Sonuç olarak karaciğerde LDL reseptör aktivitesi artar, bu durum LDL'nin karaciğerden direkt alımını uyararak LDL kolesterol düzeylerinin azalmasına yol açmaktadır. LDL öncüllerinin (VLDL) karaciğerde alımının artması da, VLDL'nin LDL'ye dönüşümünü azaltarak LDL düzeylerini azaltabilir. VLDL'nin karaciğerde üretiminin azalması ve VLDL kalıntılarının katabolizmasının artması, statinlerin trigliserid düzeyi üzerindeki etkisine katkıda bulunur. 250 mg/dl'nin üzerindeki trigliserid seviyeleri statinler tarafından çoğunlukla düşürülür ve düşme oranı LDL kolesterolde sağlanan düşme yüzdesine benzerdir (56).

Statinler, total kolesterolü ve LDL-kolesterolü doza bağımlı bir şekilde düşürür. Plazma kolesterol düzeylerinde meydana gelen maksimum etki 7-10 gün içinde ortaya çıkmaktadır. Günlük 5 mg atorvastatin, 10 mg simvastatin, 20 mg pravastatin ve 40 mg fluvastatin, total kolesterolde ortalama %22 oranında azalma ve LDL-kolesterolde %27 oranında azalma sağlamaktadır. Statin dozunun iki katına çıkarılması, total kolesterolde %5 ve LDL-kolesterolde %7 ek azalmaya neden olmaktadır. Statinler, hipertrigliseridemi olmayan hastalarda yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) kolesterol düzeylerini %5-10 oranında artırır ve trigliserid düzeylerini %10-25 oranında azaltır, ama yanıtlar değişkendir (57).

Statinlerin aterojenik lipoproteinleri azaltmalarıyla ilişkili ikincil mekanizmalar ise karaciğerde apolipoprotein B100 sentezini baskılamaları ve trigliseritten zengin lipoproteinlerin sentez ve salınımlarını azaltmalarıdır (58).

#### **4.1.5. Statinlerin Yan Etkileri**

HMG-CoA redüktaz inhibitörleri efikasitelerinin (ilacın terapötik etki sınırları içerisindeki maksimum etkinliği) yüksek oluşu ve diğer ilaçlara göre yan etkilerinin daha az oluşu nedeni ile genellikle belirgin bir uyum sorunu yaratmazlar. Statinlerin en sık görülen yan etkileri bulantı, kusma, diyare gibi gastrointestinal bozukluklar, baş ağrısı, döküntü, periferik nöropati olarak belirtilmektedir. Klinik açıdan en önemli yan etkileri ise hepatotoksisite, rabdomyoliz ve ilaç etkileşimleridir.

##### **4.1.5.1. Hepatik Yan Etkileri**

Hepatik transaminaz düzeylerinde normalin üst sınırının 3 katını aşan artışlar %0.5 - 2 oranında görülüp, doza bağımlıdır (59). Transaminaz yüksekliğine genellikle tedavinin ilk 4 - 12. haftalarında rastlanmakta olup hastaların çoğu asemptomatiktir. FDA, 3 kat veya üzerinde artan serum transaminaz yüksekliğinin devam etmesi durumunda statin tedavisinin kesilmesini önermektedir. Bunun yanında aynı veya farklı bir statin tekrar başlandığında, genellikle serum transaminaz yükselmesi görülmez (60).

Serum transaminaz düzeyleri statinlerle tedaviye başlamadan önce ve tedavinin 12. haftasında bakılmalı, sonrasında takipler yıllık, gerekirse daha sık aralıklarla yapılmalıdır. Büyük çalışmalarda normalin 3 katını aşan transaminaz yüksekliği plasebo ile benzer bulunmuştur. Bu nedenle statinlere bağlı transaminazlardaki yükselmenin, gerçek hepatotoksisiteyi gösterip göstermediği kesin değildir.

##### **4.1.5.2. Miyopati**

Miyopati, statin monoterapisinde doza bağımlı olarak, oldukça nadir (%0.1-5) rastlanan fakat fark edilmez ve ilaca devam edilirse rabdomyoliz ve akut böbrek yetmezliği ile sonuçlanabilecek ciddi bir yan etkidir. Rabdomyoliz, normalin üst sınırının 10 katından fazla kreatin kinaz yükselmesi ve birlikte kas semptomlarının olduğu ciddi miyopati olarak tanımlanır. Sıklıkla kahverengi idrar ve miyoglobüri eşlik eder. Rabdomyoliz için en önemli risk faktörleri; ileri yaş, ince vücut yapısı, aşırı alkol alımı,

infeksiyonlar, metabolik bozukluklar (özellikle kronik böbrek yetersizliğinin diyabet ile birlikte olması), kollajen doku hastalıkları, travma, hipotermi ve fibratlar (özellikle gemfibrozil), makrolid grubu antibiyotikler, azole grubu antifungaller, verapamil, amiodaron, nikotinic asit gibi diğer riskli ilaçlarla statinlerin birlikte kullanımınıdır (60). Cerivastatin ile fatal rabdomiyoliz riski diğer statinlerden daha fazladır (61). Hipotiroidi de miyopatiye predispozisyon oluşturabileceği için, kas semptomları olan hastalarda TSH düzeyleri bakılmalıdır.

Statinlerin hangi mekanizma ile miyopati yaptığı tam olarak bilinmemektedir. Ancak statinlerin, kolesterol sentezi sırasında ortaya çıkan ubiquinone (kas hücresi mitokondrisinde bulunan, intrasellüler enerji elemanı) bileşiklerinin sentezini inhibe ettiği düşünülmektedir. Ancak bu mekanizma in vitro olarak desteklenmesine karşılık, klinik çalışmalarla desteklenmemektedir (62). Statinlerin sitokrom P-450 hepatik enzim sistemi ile metabolize edilen diğer bazı ilaçlarla birlikte alınması miyopati riskini arttırdığından, bu enzim sistemi ile statin etkileşiminin miyopati ile ilişkili olabileceği düşünülmektedir (63).

Statinler teratojenik etkileri nedeni ile gebelikte kontrendikedirler. Doğurganlık çağındaki kadınların bu ilaçları alırken ve bıraktıktan 1 ay sonrasına kadar kontaseptif ilaç almaları gerekir. Kıkırdak ve kemik gelişmesi üzerindeki potansiyel bozucu etkileri nedeniyle emziren kadınlarda da kontrendikedirler.

## **4.2. ATORVASTATİN'İN TERATOJENİK ETKİSİ**

Hipolipidemik ilaçlardan en çok tercih edilen atorvastatinin teratojenik etkisi bulunduğu düşünülmektedir. Hamilelerde ilaçların etkilerine yönelik prospektif klinik çalışmalar etik olmayacağı için teratojenik etkilerinin açıklanması sınırlı kalmaktadır.

Büyük moleküllü, yağda az çözünen, fazla oranda iyonize olan veya plazma proteinlerine önemli ölçüde bağlanan ilaçların plasentayı aşması ve anne ile fetüs arasındaki difüzyon dengesine ulaşılması uzun süre alabilmektedir. Bu şekilde verilen tek bir doz ilaç zararsız olabilmektedir. Ancak özellikle ilaçla kronik tedavi sırasında bu konunun önemi artmaktadır. İlacın anne kanındaki derişimi arttıkça fetüse ulaşma ve zararlı olma riski de artmaktadır. Hamile hastalara hekimlerin reçete yazma işlemini yönlendirmek amacıyla, FDA (Food and Drug Administration) tarafından hazırlanan

ilaçların olası teratojen etki oluşma riskine göre beş ayrı kategori içeren bir sınıflama vardır. Bu sınıflama dışında kullanılan yaygın bir sınıflama olmamaktadır (64).

Teratojen etki oluşma riskine göre ayrılan bu kategoriler; A,B,C,D ve X tir. A kategorisi normal dozlarında herhangi bir teratojenik etkiye sahip olması beklenmeyen ilaçları, X kategorisi ise teratojenik etkiye sahip olması olasılığı son derece yüksek olan ve bu nedenle gebelikte hiçbir şekilde kullanılmaması gereken ilaçları içermektedir.

Teratojenik etkisi yönünden bu kategorileri açıklamak gerekirse;

A kategorisi: Bu konuda yapılan kontrollü araştırmalar ilacın ilk trimesterde fetüs üzerinde zararının olduğunu göstermemiştir. Daha sonraki dönemlerde de ilacın zararlı olduğuna yönelik herhangi bir kanıt yoktur. Hamileler için en güvenilir ilaçlardır.

B kategorisi: Deney hayvanlarında teratojenik etki gösterilmemişse de hamilelerde yapılmış kontrollü çalışmalar eksiktir. Yahut deney hayvanlarında teratojen etki gösterilmiş ancak hamilelerde yapılan kontrollü çalışmalarla bu etki doğrulanmamıştır. Gerekirse bu kategorideki ilaçlar rahatlıkla kullanılabilir.

C kategorisi: Deney hayvanlarında teratojen etki gösterilmiştir, ancak hamilelerde yapılmış klinik deneyim yetersizdir ya da hamilelerde ve deney hayvanlarında ilaç incelenmemiştir. Bu kategorideki ilaçlar potansiyel riski karşılayacak terapötik yarar öngörülüyorsa kullanılabilir. İlaçların büyük bir kısmı bu kategoridedir.

D kategorisi: Bu kategorideki ilacın insanda fetüs üzerinde zararlı etkisi kanıtlanmıştır. Ancak gebede terapötik yararı fetüste beklenen zararından fazla ise ve yaşamı tehdit eden bir durumun tedavisinde alternatifsiz olarak kullanılması zorunluysa yaratabileceği olası riskler anne adayına detaylarıyla anlatılarak kullanılabilir. Yarar-zarar oranı dikkate alınmalıdır.

X kategorisi: Deney hayvanları ve gebelerde incelemeler, ilacın fetüse kesin zararını göstermiştir. Gebelerde terapötik yararı fetüste olan zararına göre ihmal edilebilir. Bu kategorideki ilaçlar gebelerde ve gebe kalma olasılığı bulunanlarda hiçbir biçimde

kullanılmamaktadır. Hiperlipidemik ilaçlardan olan atorvastatin X kategorisinde yer almaktadır.

### **4.3. KROMOZOM, KROMOZOM İNSTABİLİTESİ ve KROMOZOM KIRIK SENDROMLARI**

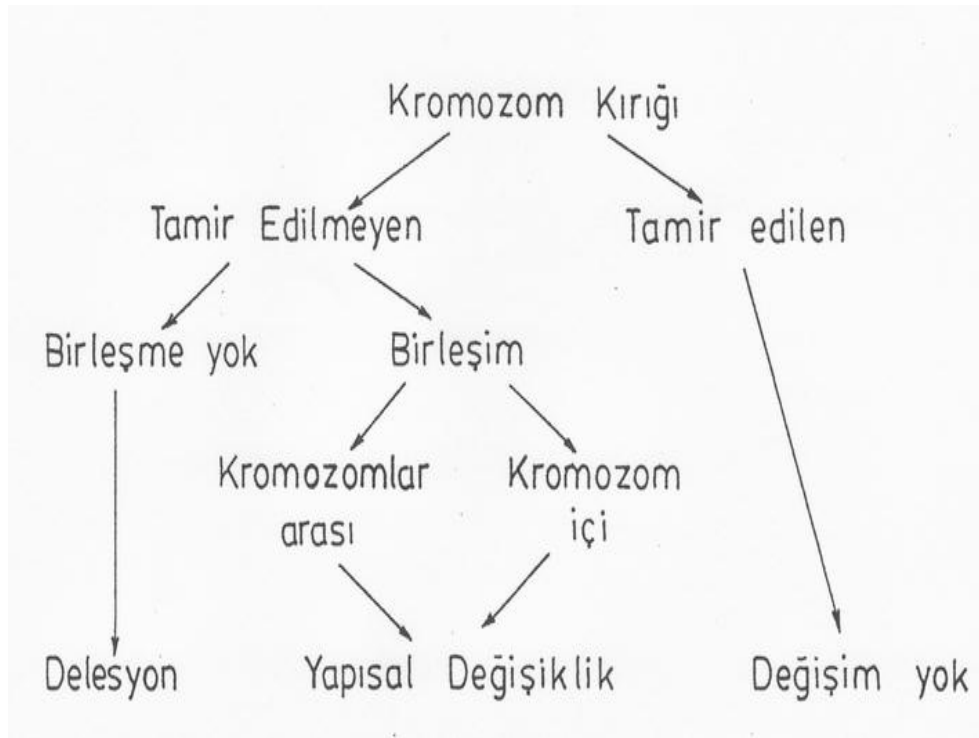
Hücre bölünmesi sırasında genomik DNA'nın çeşitli kromozom proteinleriyle birleşmesi sonucu oluşan yapıya kromatin adı verilmektedir. Hücre bölünmesi sırasındaki durumu hariç kromatin hücre çekirdeği içinde dağılmış durumdadır. Ancak hücre bölünürken kromatin materyali yoğunlaşır ve mikroskopik olarak görünen kromozomlar oluşur.

Kromozomlar DNA boyalarını kuvvetle emdikleri için koyu renkli boyanırlar. Kromozom kelimesi Yunanca *chroma* (boyalı) ve *soma* (cisim) kelimelerinden türetilmiştir. Hücre bölünmesi ve kromozom çalışmaları Sitogenetik bilim dalını doğurmuş ve bu bilim dalının çalışma alanına girmiştir. Kromozomlar sadece bölünme sırasında görülen özel yapılardır. Kromozom morfolojisinin incelenebilmesi için hücre bölünmesinde en uygun evreler geç profaz ve özellikle metafazdır (65).

Kromozom anomalileri kromozomlarda meydana gelen yapısal ya da sayısal değişikliklerin tamamıdır. Kromozom anomalileri hücre bölünmesi esnasında meydana gelen hatalardan kaynaklanmaktadır. Kromozom anomalileri sayısal ve yapısal anomaliler olarak iki ana grupta toplanmaktadır. Sayısal anomaliler kendi içinde öploidi ve anöploidi olmak üzere iki başlık altında değerlendirilmektedir. Kromozomlardaki sayısal değişimler genom mutasyonları olarak da bilinmektedir. Yapısal kromozom anomalileri delesyon, duplikasyon, halka (ring) kromozom, izokromozom, inversiyon ve translokasyonları içermektedir.

Kromozom kırıkları, çeşitli uyarıların etkisiyle veya spontan olarak oluşan kromozom aberasyonlarıdır. Kromozom kırıkları yapısal kromozom anomalilerine neden olabilmektedir. Kromozomların kırılmasına neden olan etmenler ekzojen ve endojen olmak üzere ikiye ayrılır. Ekzojen etmenler; fiziksel etkenler, kimyasallar ve biyolojik ajanlardır. Fiziksel etkenlere; güneşten gelen ultraviyole radyasyon ve radon bozunumundan kaynaklanan iyonize edici radyasyonu, biyolojik ajanlara virüsleri;

kimyasallara; mantar kaynaklı aflotoksin, sisplatin ve alkilleyici ajanlar gibi kemoterapötik ilaçları örnek verilebilir. Endojen faktörler ise DNA replikasyonu, transkripsiyon ve rekombinasyon sırasında meydana gelen ve tamir edilemeyen hatalardır. Kromozomlarda oluşan kırılmalar tamir mekanizmalarıyla tamir edilmedikleri takdirde translokasyon, delesyon ve inversiyon gibi çeşitli yeniden düzenlenmelere yol açabilmektedir. Sonuç olarak; kromozom kırıklarının tamiri genom bütünlüğü ve fonksiyonunun korunması için çok önemlidir.



**Şekil 2:** .Kromozom Kırıklarının Olası Sonuçları

Kromozom kırıklarının “kromozom tipi kırıklar” ve “kromatid tipi kırıklar” olmak üzere iki tipi vardır. Kromozom tipi kırıklarda iki kardeş kromatide de kırık oluşmuştur. Kromozom kırıkları genelde DNA replikasyonundan önce olan bir hatanın sonucunda meydana gelirler ve bu hata her iki kromatidi birden etkilemektedir. Kromatid tipi kırıklarda kardeş kromatidlerden sadece bir tanesinde kırık meydana gelmiştir. Bu tip kırıklar genellikle DNA replikasyonundan sonra meydana gelirler. Kromatid tipi kırıklarda kardeş kromatidler veya farklı kromozomlar arasında parça değişimleri meydana

gelebilmektedir. Her iki kromatidin aynı bölgesinde kırık olduğu zaman bu kromozom kırığı izokromatid kırık veya izolokus kırık denir. Morfolojik olarak kromozom tipi kırıklar izokromatid kırıklardan ayırt edilememektedir. Ancak genetik materyalin hasar yapan etkene maruz kalmasından hatanın mitozda görülmesine kadar geçen zamana göre bir ayırım yapılması söz konusudur. G2 evresi dört saat ise, ve kırılmaya sebep olan etkene maruz kalınmasından iki saat sonra mitoz bölünme sırasında bir izolokus kırık izleniyorsa, bu izokromatid kırıktır. G1 evresinde kırılmaya sebep olan etkene maruz kalındığı zaman ortaya çıkan ise kromozom kırığı olmaktadır. Kromozom ve kromatit tipi kırıklar dışında subkromatit kırıklar olarak adlandırılan kırıklar mevcuttur. Subkromatit tipi kırıklar, mitoz bölünmenin profaz aşamasında meydana gelen hatalara bağlı olarak ortaya çıkarlar. Bir kromatidin alt ünitesinin etkilenmesini ifade etmektedirler. Subkromatit kırıklar, kromatid tipi kırıkların bir çeşidi olarak da değerlendirilebilmektedir. Kromozomlarda görülen başka bir kırılma modeli de Gap'lerdir. Gap'ler de, tek bir kromatitte veya her iki kromatitte de görülebilirler. Gap'lerin gerçek kırıklardan farkı; kırıklarda kromozom veya kromatid yapısında tam anlamıyla bir kopma söz konusuyken, Gap'lerde kromozom veya kromatid yapısında bir devamlılık bulunmasıdır (66). Kromozomlar kırıldıklarında gap ve klasik kırıkların dışında asentrik parçalar ile triradyal ve multiradyal oluşumlar şeklinde de izlenmektedir.

Kromozomlarda meydana gelen hataların tamir edilememesi sonucunda kromozom kırık sendromları gelişmektedir. Kromozom kırık sendromları, bir diğer deyişle kromozom instabilite sendromları başlıca; Ataxia Telangiectasia, Bloom Sendromu, Fanconi Anemisi, Robert Sendromu, Xeroderma Pigmentosum, Nijmegen Kırık Sendromu, Rothmund-Thomson Sendromu ve Cockayne Sendromu olarak sıralanabilir. Bloom sendromunda %25, Ataxia Telangiectasia olgularında %12, Fanconi Anemisinde %15 oranında lösemi veya başka bir kanser tipinin geliştiği bildirilmektedir (67).

## 5. MATERİYAL VE YÖNTEM

### 5.1. MATERİYALLER

#### 5.1.1. Örnekler

Bu tez çalışmasında 15 sağlıklı bireyden alınan perifer kanı kullanıldı. Sağlıklı birey seçiminde son 3 ay içerisinde viral enfeksiyon geçirmemiş ve antibiyotik kullanmamış, sigara ve alkol kullanımı olmaması, hiperkolesteromi olmaması, statin kullanmaması esas alındı.

Örneklerden toplanan kanlar konvansiyonel sitogenetik analiz ile kromozom kırığı değerlendirilmesi için kullanıldı. Örneklerden 5 ml kan heparinli enjektörlere alındı.

Bu çalışma Ocak 2010 – Mayıs 2011 yılları arasında Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik Biriminde yapıldı.

#### 5.1.2. Çözeltiler

##### 5.1.2.1. Perifer Kanı Lenfosit Kültürü İçin Kullanılan Çözeltiler

**Kültür Vasatı:** Esansiyel aminoasitler, fetal calf serum, heparin, penisilin G, streptomisin ve phytohemagglutinin içeren RPMI 1640 hazır kromozom medyumunu. (Biochrom F-5023).

**Colcemid:** 10 µg/ml Colcemide içeren hazır Colcemide solüsyonu (Biochrom L-6221).

**Hipotonik Şok Solüsyonu:** 0.075 M KCl

**Carnoy Fiksatif:** 3:1 oranında Metanol : Asetik Asit



### 5.1.2.2. Boyama İçin Kullanılan Çözeltiler

**Giemsa Boya Çözeltisi:** % 20'lik Giemsa boyası

### 5.1.3. Tez Çalışmasında Kullanılan Ekipman

**Etüv:** Memmert.

**Mikro pipet:** 0-10 µl, 10-50 µl, 50-200 µl otomatik ayarlı Medispec-plus.

**Santrifüj:** Hettich Rotafix 32A masaüstü santrifüj.

**Vortex Karıştırıcı:** Cenco.

**Buzdolabı:** +4<sup>0</sup>C Arçelik.

**Hotplate:** Selecta.

**Hassas Terazi:** Shimadzu Libror EB-3200 HU.

**pH Metre:** Mettler Toledo MP 230.

**Mikroskop:** Leica LB, Nikon Eclipse 80i

## 5.2. YÖNTEM

### 5.2.1. Perifer Kanı Lenfosit Kültürü

Kültür medyumu steril koşullar altında steril vidalı kapaklı tüplere 5'er ml olmak üzere bölündü. Sağlıklı bireylerden alınan heparinli perifer kanı örnekleri kültür edilmek üzere RPMI 1640 medyumuna ekildi. Örneklere 72 saatlik perifer kanı lenfosit kültürü uygulandı.

Her sağlıklı birey için 4 farklı dozda atorvastatin eklenmiş ve atorvastatin eklenmemiş bir tüp olmak üzere toplamda 5 tüp ekim yapılmıştır. Atorvastatinin teratojenik etkisi araştırıldığından inkübasyonun 24. saatinde ultra steril su içerisinde

çözünmüş atorvastatin eklenirken son tüpe atorvastatin eklenmedi ve böylece son tüp kontrol tüpü oldu. Standart sitogenetik analiz için, çıkış yönteminde ilk adım metafaz safhasında hücreleri durdurur. Bu aşamada en çok kullanılan mitotik durdurucu olan Kolşisin 70. saatte eklendi. Hücre kültürüne eklenen kolşisinin etkisi, iki yavru hücreye dağılan kardeş kromatidleri zıt kutuplara çeken iğ ipliklerinin oluşumunu engellemektir.

İnkübasyonun 72. saatinde çıkış işlemine başlandı. Çıkış işleminde önce 1300 rpm de 7 dakika santrifüjlenerek içerisindeki hücrelerin çökmesi sağlanan tüplerin besiyeri içeren süpernatantları atıldı. Çıkış işlemindeki ikinci temel basamak hipotonik şoktur. Hücre hacmini arttırmak için hücreler hipotonik tuz solüsyonuyla muamele edildi.

Hipotonik tuz çözeltisi hücre zarının patlamasını sağlar, ancak çekirdekçik zarı sağlam kalır. Sitoplazma artığı kalmayan ve şişen çekirdekçik içinde kromozomlar yayılacak alan bulurlar. Hipotonik solüsyon olarak 0.075 M KCl (pH=7.2 – 7.4) kullanılmaktadır. Parçalama işlemi genellikle vorteks üzerinde tüpün tutulması ile yapılır. Yaklaşık 7 ml hipotonik solüsyon kullanıldı. Hücrelerin hipotonik solüsyon içerisinde 37 C deki etüvde 10 dakika bekletildi.

Hipotonik şok aşaması, analizi yapılabilecek kaliteli metafaz plakları elde etmek için çok önemlidir. 10 dakikalık hipotonik şok süresi sonunda hücreler tekrardan 1300 rpm de 7 dakika santrifüjlenerek çökeltildi. Santrifüjlenen tüplerin süpernatantları atıldı.

Fiksasyon; kromozom elde etme yönteminde üçüncü temel basamaktır. Hücrelerden su uzaklaştırılır, sabitleştirilir ve bu uygulama kromozomları korur. Membranları ve kromatini sertleştirir. Fiksasyon aşamasında; tüplerdeki materyali vorteks ile karıştırarak carnoy fiksatif (3metanol:1asetik asit) damla damla ilave edildi. Böylelikle fikse edilen hücrelerden su uzaklaştırılmış oldu.

Çıkış işlemi tamamlandıktan sonra tüpler +4 C°' ye kaldırıldı. +4 C°' de bir gece bekledikten sonra yıkama işlemi yapıldı. Bu işlem carnoy fiksatif ile örneklerin rengi saf su rengini alana kadar devam edildi.

Yıkama işleminden sonra yıkanmış ıslak ve soğuk lamlara mikropipet yardımıyla çizerek yayma yapıldı. Yayma işleminden sonra giemsa boyası (20 giemsa/80 distile su) ile solid boyandı. Böylece mikroskopta incelenebilecek örnekler elde edildi.

## 6. BULGULAR

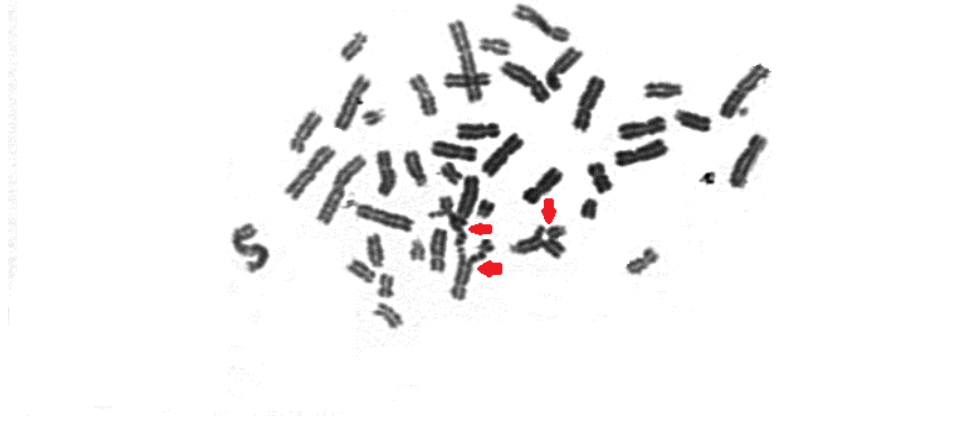
Bu Yüksek Lisans çalışmasında 15 sağlıklı bireyden alınan perifer kanı örneği ile çalışıldı. Sağlıklı birey seçiminde 25 yaşını geçmemiş, sigara ve alkol kullanımı olmayan, kronik herhangi bir hastalığı bulunmayan, son 3ay içerisinde viral enfeksiyon geçirmemiş ve antibiyotik kullanmamış, hücre çoğalmasını engelleyici herhangi bir ilaç kullanmamış olgular değerlendirildi.

Atorvastatinin teratojenik etkisi araştırabilmek amacıyla hücre kültürünün yirmi dördüncü saatinde değişik dozlarla atorvastatin eklendi. Hücre kültürüne eklenen atorvastatin çözeltisi 100ml'lik steril su içerisinde toz atorvastatin 3,021µg çözdürülerek hazırlandı. Günlük 10mg lik atorvastatin kullanan hastanın perifer kanındaki final konsantrasyonu hazırlanan atorvastatin çözeltisinden 0,625µl eklenmesiyle denkleştirildi. Günlük 20mg lik atorvastatin kullanan hastanın perifer kanındaki final konsantrasyonu hazırlanan atorvastatin çözeltisinden 1,250µl eklenmesiyle denkleştirildi. Günlük 80mg lik atorvastatin kullanan hastanın perifer kanındaki final konsantrasyonu hazırlanan atorvastatin çözeltisinden 5µl eklenmesiyle denkleştirilmiştir. Günlük 160mg lik atorvastatin kullanan hastanın perifer kanındaki final konsantrasyonu hazırlanan atorvastatin çözeltisinden 10µl eklenmesiyle denkleştirildi.

Hücre kültür çıkış işlemleri tamamlandıktan sonra yayma işlemi yapıldı ve solid boyama yapıldı. Mikroskopda lenfosit metafazlarında kromozomların üzerinde kırık olup olmadığı araştırıldı.

<b>Olgular</b>	<b>10mg atorvastatin</b>	<b>20mg atorvastatin</b>	<b>80mg atorvastatin</b>	<b>160mg atorvastatin</b>	<b>kontrol</b>
A-1	0,5217	0,6522	0,1739	0,2174	0,0869
A-2	0,2174	0,1208	0,0435	0,1086	0
A-3	0,5302	0,0701	0,1450	0	0
A-4	0	0,0725	0,1450	0,0725	0,1087
A-5	0	0,0725	0,1450	0,1450	0,1087
A-6	0,1450	0,0725	0,0725	0,0725	0
A-7	0,2899	0,1449	0,3623	0,0725	0,2174
A-8	0,2899	0,3623	0,1450	0,2174	0
A-9	0,2174	0,1304	0,5797	0,0725	0
A-10	0	0,0725	0	0,3623	0
A-11	0,1449	0,1449	0,2898	0,2174	0
A-12	0,2174	0,1304	0,1450	0,0725	0
A-13	0,2104	0,2174	0,1449	0,2898	0
A-14	0,1449	0,5072	0,2898	0,2174	0
A-15	0,2898	0,2174	0,1449	0,1449	0
<b>Ortalama</b>	0,2146 ±0,1622	0,1992 ±0,1752	0,1884 ±0,1432	0,1522 ±0,09893	0,03478 ±0,06563

**Tablo 1:** İn Vitro Koşullarda Oluşan % Kırık Oranları



**Resim 1:** A-1 Olgusuna Ait Final Konsantrasyonu 10mg Atorvastatin



**Resim 2:** A-15 Nolu Olguya Ait Final Konsantrasyonu 10mg Atorvastatin



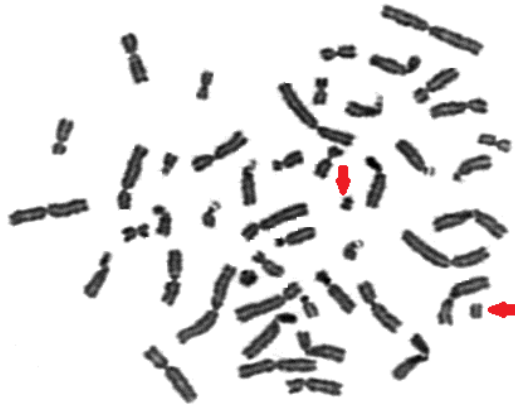
**Resim 3:** A-13 Nolu Olguya Ait Final Konsantrasyonu 20mg Atorvastatin



**Resim 4:** A-13 Nolu Olguya Ait Final Konsantrasyonu 20 mg Atorvastatin



**Resim 5:** A-14 Nolu Olguya Ait Final Konsantrasyonu 160mg Atorvastatin



**Resim 4:** A-14 Nolu Olguya Ait Final Konsantrasyonu 160 mg Atorvastatin

	Mean diff.	q	
<b>Atorvastatin 10mg/ kontrol</b>	0,1798	5.154	<b>anlamlı</b>
Atorvastatin 10mg/ Atorvastatin 20mg	0,01539	0,4412	anlamsız
Atorvastatin 10mg/ Atorvastatin 80mg	0,02617	0,7502	anlamsız
Atorvastatin 10mg/ Atorvastatin 160mg	0,06241	1,789	anlamsız
<b>Atorvastatin 20mg/ kontrol</b>	0,1644	4,713	<b>anlamlı</b>
Atorvastatin 20mg/ Atorvastatin 80mg	0,01078	0,3090	anlamsız
Atorvastatin 20mg/ Atorvastatin 160mg	0,04702	1,348	anlamsız
<b>Atorvastatin 80mg/ kontrol</b>	0,1536	4,404	<b>anlamlı</b>
Atorvastatin 80mg/ Atorvastatin 160mg	0,03624	1,039	anlamsız
Atorvastatin 160mg/ kontrol	0,1174	3,365	anlamsız

**Tablo 2:** Olguların Anova Testi İle Değerlendirilmesi



## 7. TARTIŞMA

Fanconi anemisinde de olduğu gibi sistemik enzim defektleri sayesinde kromozomlar üzerinde kırık meydana getiren bir grup hastalık vardır. Kromozomlar üzerinde meydana gelen kırıklar eğer tamir mekanizmaları ile tamir edilemezse yeni oluşan yavru hücrelere aktarılır. Kromozom kırığı barındıran hücreler tekrar bölünme safhasına geldiklerinde kromozomlar üzerinde hatalı yeniden düzenlemeler ortaya çıkabilir.

Birçok kimyasal, fiziksel ve biyolojik ajanlar DNA hasarlarına neden olur. Antibiyotikler, viral enfeksiyonlar, sigara kullanımı gibi birçok ajan kromozomlar üzerinde kırık meydana getirir. Yaptığımız çalışmada olguların bahsedilen ajanlara maruz kalmamalarına önem gösterdik. Biz yaptığımız çalışmada atorvastatinin kromozomlar üzerindeki klastojenik etkisini araştırdık. Araştırma sonucunda atorvastatinin kromozomlar üzerinde anlamlı derecede kırık meydana getirdiğini bulduk.

Aterosklerozun, mortalite ve morbiditenin artışında önemli bir role sahip olduğu çok sayıda çalışma ile gösterilmiştir. Ateroskleroz tüm dünyada olduğu gibi ülkemizde de erişkinlerde başta gelen mortalite ve morbidite nedenidir. Aterosklerozun eskiden zannedildiği gibi yaşla ortaya çıkan kaçınılmaz bir fenomen olmadığı, hiperlipidemi, hipertansiyon, diyabet ve obezite gibi bazı risk faktörlerinin tetiklediği, çocukluk yaşlarda başlayan kompleks inflamatuvar bir süreç olduğu tespit edilmiştir (68).

DeneySEL ve klinik çalışmalar, aterosklerozun önde gelen nedenlerinden birinin hiperlipidemi olduğunu göstermektedir (68). Aterosklerozun ortaya çıkmasında en önemli basamak oksidasyonla değişime uğrayan düşük yoğunluklu lipoproteindir (LDL). Damar duvarına girip oksidize olan LDL, sitokinlerin salınımının stimülasyonu ve nitrik oksit inhibisyonu yoluyla endotelial hasar oluşturup aterosklerozu hızlandırır (69). Yüksek dansiteli lipoprotein (HDL) düzeyi ile kardiyovasküler hastalık arasında ters orantı vardır.

Klinik çalışmalarda, Koroner arter hastalığı (KAH) bulunan veya KAH gelişimi için yüksek riskli hastalarda, düşük dansiteli lipoprotein-kolesterol (LDL-K) düzeyinin düşürülmesi ile kardiyovasküler mortalite ve morbiditenin azaldığı gözlenmiştir (70). Son yıllarda statin tedavisi ile LDL-K düşürülmesinin kalp yetmezliği, serebrovasküler hastalıklar, aort darlığı, kronik böbrek yetmezliği, diyabet gibi KAH dışındaki hastalıklarda da faydalı olabileceği gösterilmiştir (71).

Atorvastatin hiperlipidemide primer ve sekonder koruma amacıyla kullanılmakta ve Kardiyovasküler hastalıklara (KVH) bağlı mortaliteyi azaltmaktadır (72). Statinlerin aterosklerozda protektif etkilerinin lipid düşürücü etkilerine ilaveten anti-inflamatuvar sitokinlerin ve adhezyon moleküllerin sekresyonunu ve düz kas hücrelerinin proliferasyonunu azaltıcı etkilerine bağlı olduğu ortaya konmuştur (73).

Deneysel çalışmalarda statinlerin doku faktörü ekspresyonunda azalma sağladığı ve böylece hemostazın koagülasyon aleyhine işlemesine katkıda bulunduğu gösterilmiştir. Ayrıca, trombin oluşumun azalması ve trombin tarafından tetiklenen pek çok pro-koagülan reaksiyonun (fibrinojen ayrışması, faktör V ve faktör XIII aktivasyonu gibi) statinler tarafından inhibe edildiği gösterilmiştir (74). Sorumlu mekanizma yine hücrede sinyal proteinlerinin izoprenilasyonunun engellenmesidir ve HMG-KoA redüktaz inhibitörleri koagülasyon kaskadını pek çok basamaktan etkilemek suretiyle trombojeniteyi azaltmaktadır. Ancak bu bulgular in vitro çalışmalar ve hayvan deneylerinden elde edilen verilerdir ve klinik yansımaları henüz net değildir. Statinlerin koagülasyon kaskadı için in vivo etkilerinin daha detaylı klinik çalışmalarla desteklenmesi gerekmektedir.

Solid tümörler ve hematolojik malignansilerin progresyonunda anjiyogenez önemlidir. Bu nedenle yeni damar oluşumunun inhibisyonunu sağlayan ajanlar kanser tedavisinde yeni bir çığır açmaktadır. Düşük dozlarda proanjiyojenik özellikleri olan ve bu sayede kardiyovasküler faydalar sağlayan statinlerin yüksek dozlarda antianjiyojenik özellikleri olduğu gösterilmiştir (75). Statinler bu özelliklerini endotel hücre proliferasyonu ve migrasyonunu inhibe etmek ve apoptozu artırmak suretiyle kazanır. Bir diğer mekanizma statinler ile vasküler endotel büyüme faktörü sentezinin inhibisyonudur. Ayrıca, yüksek doz statin ile tümör hücrelerinin apoptozunun tetiklendiği de gösterilmiştir (75). Bugüne kadar yapılmış olan prelinik çalışmalar statinlerin antitümör etkilerini desteklemektedir. Ancak kardiyovasküler koruma ile ilgili büyük statin çalışmalarından elde edilen sonuçlar çelişkilidir: PROSPER (Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease - Vasküler hastalık riski taşıyan yaşlı bireylerde de pravastatin) çalışmasında, pravastatin grubu plasebo ile kıyaslandığında, yeni tanı kanser oranının daha yüksek olduğu rapor edilmiştir (76). On yıllık takip içeren 4S çalışmasında (Scandinavian Simvastatin Survival Study - İskandinav simvastatin sağkalım çalışmasında) ise kanser insidansı açısından fark olmadığı görülmüştür (77). Yakın zamanda yayınlanan bir çalışmada, statin tedavisine ezetimib eklenmesinin kanser riskini artırdığı yönündeki

veriler değerlendirilmiş ve mevcut bulguların kanser riskinde artış ile ilişkili olmadığı bildirilmiştir (78). Beklenen antitümör etkinin ortaya çıkmaması klinikte statinlerin yüksek dozda kullanılmaması ile ilişkili olabilir. Fakat ilaç toksisitesi yüksek doz kullanımı sınırlamaktadır. Bu konuyla ilgili daha fazla araştırmaya ihtiyaç vardır.

Bir başka çalışmada kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan ve statin tedavisi kullanan olgularda kronik obstrüktif akciğer hastalığı ile ilişkili mortalitenin azaldığı gösterilmiştir (79). Mortalite üzerindeki bu olumlu sonuçların statinlerin antiinflamatuvar ve immünomodülatuar özelliklerinden kaynaklandığı düşünülmektedir. Pnömonili hastalarda statinlerin etkilerinin araştırıldığı çalışmalardan ise çelişkili sonuçlar elde edilmiştir: Thomsen ve arkadaşları, pnömoni nedeniyle hastanede tedavi edilen erişkinlerin dahil edildiği geniş bir çalışmada, hospitalizasyon öncesi statin kullanımının daha düşük mortalite ile ilişkili olduğunu rapor etmişler (80), Majumdar ve arkadaşları ise pnömonili hastalarda mortalitenin değişmediğini bildirmişlerdir (81). Ayrıca, statinler ve akut solunum sıkıntısı sendromu ilişkisinde hayvan modelleri çalışılmış ve akciğer hasarı şiddetinin azaldığı görülmüştür. Öte yandan, interstisyel akciğer hastalığı ve statin birlikteliğinin incelendiği bir derlemede, statin kullananlarda interstisyel akciğer hastalığının yan etki olarak ortaya çıkabileceği belirtilmiştir (82). Yani, pleiotropik etkiler her zaman olumlu sonuçlara yol açmamaktadır.

Yapılan bir çalışmada atorvastatin ile kısa süreli tedavi, akciğer fonksiyonlarında bir değişiklik yapmadığını, ancak hafif-orta astım sigara içenlerde yaşam kalitesini arttırabileceği ortaya çıkmıştır (83).

Kullanım alanı geniş bir kitleyi kapsayan atorvastatinin teratojenik etkime sıralamasında en zararlı grup içerisinde yer alması bizim bu çalışmayı yapmamıza neden oldu. Teratojenik olan atorvastatinin mutajenik etkiye de sahip olabileceği ihtimal dahilindedir. Kromozomlar üzerindeki klastojenik etkisi germ hücrelerini de kapsar ise ve hamilelikteki kullanımı sayesinde fetusu etkilemesi dâhilinde mutasyonlara da yol açabilmektedir.

Yapılan başka bir çalışmada, atorvastatinin neden olduğu DNA hasarı ve in vitro oksidatif stres yeni puanlama kriterleri ile APG modifiye comet assay yöntemi ve mikronükleus testi kullanarak araştırılmıştır. Oksidatif DNA hasarını gösteren standart bir comet assay testi ve APG modifiye comet assay karşılaştırıldığında tüm comet assay parametrelerde önemli farklılıklar gözlemlendiği bildirilmektedir. Ancak, bazal DNA hasarının

yanı sıra oksidatif DNA hasarı da oluştuğunu belirterek, comet assay testinin standart sürümü ile elde edilen parametreler kontrol grubuna göre anlamlı derece yüksek bulunmuştur. Bu çalışmada; kullanılan tekniklerin bir kombinasyonu; mikronükleus testi, klastojenik ve anöjenik (kromozom sayısının değişimine etkilidir, genellikle DNA'yı hedef almaz) etkileri ve comet assayın her iki versiyonunun ölçümü, DNA hasarı ve onarımı ilacın bu tür genotoksisite tespit yararlılığını kanıtladığı ileri sürülmektedir (84).

Yaptığımız literatür taramasında Atorvastatin ile ilgili sitogenetik çalışmaların eksik olduğunu gözlemledik. Yapılan çalışmalar in vivo ve in vitro hayvan modellerinde dayanmaktadır. Atorvastatinin genotoksisitesi birçok test sistemleri ile değerlendirilmiştir. Bakteriyel mutajenite testlerinde, metabolik aktivasyon varlığında ve yokluğunda Escherichia coli test suşu ve Salmonella typhimurium suşları plak başına 5000 mg gibi yüksek atorvastatin konsantrasyonlarına maruz bırakıldığında atorvastatinin, E. coli ve S. Typhimurium suşlarında mutajenik olmadığı bildirilmiştir. Bir başka çalışmada Çin hamsteri akciğer hücre kültürleri metabolik aktivasyon yokluğunda 50-300 mg/ml atorvastatin konsantrasyonları ve metabolik aktivasyon varlığında 100-300 mg/ml atorvastatin konsantrasyonlarına maruz bırakılarak yapısal kromozom anormallikleri değerlendirilmiştir. Metabolik aktivasyon varlığında ve yokluğunda Atorvastatinin mutajenik ve klastojenik olmadığı bildirilmektedir. Atorvastatin oral tek doz 1, 2500, veya 5000 mg / kg, erkek ve dişi CD-1 farelere uygulandığı mikronükleus çalışması ile in vivo olarak doğrulanmıştır. 24, 48 ve 72 saatlik kemik iliğinde mikronükleuslanmış polikromatik eritrositlerin biyolojik olarak önemli bir artış sıklığının olmadığı ileri sürülmektedir (85).

İnsanlarda atorvastatinin sitogenetik araştırması ile ilgili çok az bilgi vardır. Yapılan çalışmalardan birinde, 13 hiperlipidemik hastada 10 mg/gün atorvastatin tedavisinin etkisi lipid kan düzeyleri, insan periferik kan lenfositlerinde DNA hasarının derecesi, oksidatif DNA hasarı ve antioksidan PON aktivitesi arasındaki ilişki test edilmiştir. Altı ay sonra, atorvastatin tedavisi serum kolesterol ve LDL-kolesterol düzeylerini önemli ölçüde azaldığı fakat trigliserid düzeyi ve HDL kolesterol düzeyinde anlamlı bir değişiklik olmadığı, Comet assay yönteminde de DNA hasarının derecesi ve görsel skor özelliğinin önemli ölçüde azaldığı gösterilmiştir (86).

Yapılan bir başka çalışma, HDL ilişkili antioksidan paraoksonazın (PON), düşük yoğunluklu lipoprotein oksidasyonunu azalttığını ve ateroskleroza engel olabileceğini

göstermiştir. LDL oksidasyonunun üretimine bağlı olarak oksidatif DNA hasarı azalmaktadır. Bu çalışmalar antioksidan PON aktivitesinden kaynaklanan, LDL'nin oksidatif formu ile 10 mg/gün atorvastatin tedavisinin oluşturduğu DNA hasarını azaltarak olası mekanizmalarını açıklamaktadır (86, 87).

Atorvastatinin yüksek doz kullanılan çalışmalarda (80mg/gün), oksidatif DNA hasarı üzerinde doğrudan etkisi olan HDL kolesterol düzeyi antioksidan paraoksonaz aktivitesinin azalmasına bağlı olarak düşüş gösterdiği, kontrollü klinik çalışmaların çoğunda, düşük atorvastatin konsantrasyonlarının günde 80 mg atorvastatin konsantrasyonuna göre daha fazla yan etki gösterdiği bildirilmektedir (88).

Bizim çalışmamızda 15 sağlıklı bireyden alınan perifer kanında kısa süreli lenfosit kültürü yapıldı. Atorvastatin in vitro olarak hücre kültürünün ilk siklusu olan 24. saatte eklendi. Yaptığımız çalışmada final konsantrasyonları 10mg, 20mg, 80mg ve 160 mg atorvastatin kontrole göre klastojenik olup olmadığı incelendi. Çalışma sonucunda atorvastatinin final konsantrasyonu 10mg, 20mg ve 80mg lık dozları kontrole göre anlamlı derece klastojenik olduğu ortaya çıktı. Fakat 160 mg lık final konsantrasyonu kontrole göre anlamlı çıkmamıştır. Bunun sebebinin 160 mg lık dozda hasar meydana gelen hücrelerin yaşama şanslarının bulunmadığı dolayısı ile apoptoza girmiş olabilecekleri düşünülmektedir.

Bir başka önemli nokta da yapılan her invitro çalışmanın kültür artefaktı olarak kültürleri etkileme olasılığının bulunmasıdır. Bir sonraki çalışmamız, uzun yıllar atorvastatin kullanan hastalarda bu çalışmayı yaparak, in vivo etkilerin değerlendirilmesi olacaktır.

## 8. SONUÇ

Çalışma sonunda elde edilen veriler Anova testi ile istatistiksel olarak değerlendirildi. Değerlendirme sonucunda perifer kanında final konsantrasyonu 10mg'lik atorvastatin alımına eşdeğer olan 1.tüp kontrol tüpü olan 5. Tüpe göre klastojenik olduğu anlaşılmıştır. Aynı zamanda perifer kanında final konsantrasyonu 20mg'lik atorvastatin kontrole göre klastojenik olduğu ve perifer kanında final konsantrasyonu 80mg'lik atorvastatin kontrole göre klastojenik olduğu anlaşılmıştır. Fakat perifer kanında final konsantrasyonu 160mg'lik atorvastatin kontrole göre klastojenik olmadığı anlaşılmıştır. Bunun nedeni 160mg'lik atorvastatin ağır klastojenik etki sayesinde mitotik indeks düşmüş anomalili olan hücreler G2 fazında kalıp mitoz bölünmeye geçmemişlerdir.

## 9. TEŞEKKÜR

Yüksek Lisans eğitimimde akademik anlamda örnek aldığım, çalışmam süresince yardımlarını esirgemeyen değerli hocam Prof. Dr. Tuncay ALTUĞ'a,

Yüksek lisansın tez aşamasında her ihtiyacım olduğunda bana yol gösteren, her anlamda bana destek ve yardımcı olan ikinci danışmanım ve değerli hocam Prof. Dr. Ayhan DEVİREN'e,

Çalışmamı yaptığım Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Başkanı Prof. Dr. Turgut ULUTİN ve Tıbbi Biyolojik Bilimler Bölümü Başkanı Prof. Dr. Seniha HACIHANİFİOĞLU'na,

Cerrahpaşa Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji Anabilim Dalı Sitogenetik ekibine,

Attığım her adımda yanımda olan ve beni her zaman destekleyen, hiçbir zaman haklarını ödeyemeyeceğim sevgili babam Turgut ASLANELİ, annem Züheyra ASLANELİ ve bana her zaman destek olan eşim Kerem Cem ÇAKMAK'a ve tüm dostlarıma

Teşekkür ederim.

Biyolog Başak ASLANELİ ÇAKMAK

## 10. KAYNAKLAR

1. Law MR, Wald NJ, Rudnicka AR. Quantifying effect of statins on low density lipoprotein cholesterol, ischaemic heart disease, and stroke: systematic review and meta-analysis. *BMJ* 2003, 28;326:7404-1423.
2. Endo A. The discovery and development of HMG-CoA reductase inhibitors. *J Lipid Res* 1992, 33:1569-82.
3. Atorvastatin in stroke: a review of SPARCL and subgroup analysis Branko N Huisa Andrew B Stemer Justin A Zivin Department of Neuroscience University of California, San Diego, CA, USA 2010.
4. Funda Pepedil, Gülay Sain Güven. Statinler her derde deva mı? *Hacettepe Tıp Dergisi* 2009, 40:169-175.
5. Alberts AW, Chenj, Kuron G, Hunt V, Huff J, Hoffman C, Rothrock J, Lopez M, Joshua H, Harris E, Patchett A, Monaghan R, Currie S, Stapley E, Alberts SG, Hensens O, Hirsfield J, Hoogsteen K, Liesch J, Springer J. Mevinolina highly potent competitive inhibitor of hydroxy methylglutaryl coenzyme A reductase and a cholesterol-lowering agent. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1980, 77: 3957-3961.
6. Davidson MH. Rosuvastatin: a highly efficacious statin for the treatment of dyslipidaemia. *Expert Opin Invest Drugs*. 2002, 11:125–141.
7. Furberg and Pitt, 2001, Armitage.
8. <http://www.ahmetalpman.com/defilacoku.asp?id=252>
9. Grundy, S.M The issue of statin safety: where do we stand? *Circulation*. 2005, 111:23-3106-3109.
10. Gotto AM. Lipid risk factors and regression of atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 1995, 76:3A-7A.
11. Jones P, Kafonek S, Laurora I, Hunninghake D. Comparative dose efficacy study of atorvastatin versus simvastatin, pravastatin, lovastatin and fluvastatin in patients with hypercholesterolemia (The CURVES Study). *Am J Cardiol* 1998, 81:582-7.
12. Krummel D. Nutrition in cardiovascular disease. Mahan KL, Arlin M. (eds), *Krauses Food Nutrition and Diet Therapy*, WB Saunders Company, USA, 2000, 558-595.
13. Gordon T, Kannel WB, Castelli WP, Dawber TR. Lipoproteins, Cardiovascular Disease and Death. The Framingham Study. *Arch Intern Med* 1981, 141:1128-1130.



14. Wierzbicki AS, Lumb PJ, Semra YK, Crook MA. Effect of atorvastatin on plasma fibrinogen. *Lancet* 1998, 351:569-570.
15. Smets EML, Pequeriaux NCV, Blaton V, Goldschmidt HMJ. Analytical Performance of a Direct Assay for LDL-Cholesterol. *Clin Chem Lab Med* 2001, 393:270-280.
16. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: the Scandinavian Simvastatin Survival Study. *Lancet* 1994,344:1383-1389.
17. Executive summary of the third report of the National Cholesterol Education Program(NCEP) Expert Panel on Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Cholesterol in Adults (Adult Treatment Panel III). *JAMA* 2001, 285:2486-2497.
18. Giral P, Bruckert E, Jacob M, Chopman JM, Foglietti M., Turpin G. Homocysteine and lipid lowering agents-A comparison between atorvastatin and fenofibrate in patients with mixed hyperlipidemia. *Atherosclerosis* 2001, 154:421-427.
19. Kinlay S, Timms T, Clark M, et al. Comparison of effect of intensive lipid lowering with atorvastatin to less intensive lowering with lovastatin on C-reactive protein in patients with stable angina pectoris and inducible myocardial ischemia. *Am J Cardiol* 2002, 89:1205-7.
20. Ansell BJ, Watson KE, Weiss RE, Fonarow GC. HsCRP and HDL effects of statins trial (CHEST) : Rapid effect of statin therapy on C-reactive protein and high-density lipoprotein levels a clinical investigation. *Heart Dis* 2003, 5:2-7.
21. Ferro D, Parotto S, Basili S, Alessandri C, Violi F. Simvastatin inhibits the monocyte expression of proinflammatory cytokines in patients with hypercholesterolemia. *J Am Coll Cardiol* 2000, 36:427-31.
22. Egashira K, Hirooka Y, Kai H, et al. Reduction in serum cholesterol with pravastatin improves endothelium-dependent coronary vasomotion in patients with hypercholesterolemia. *Circulation* 1994, 89:2519-24.
23. Tan KCB, Chow WS, Ham SCF. Et al. Atorvastatin lowers C-reactive protein and improves endothelium-dependent vasodilatation in Type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:563-8.
24. Malhotra HS, Goa KL. Atorvastatin: AN update of its pharmacological properties and use in dislipidemia. *Drugs* 2001, 61:1835-81.

25. Amerongen GN, Vermeer MA, Aminou PN, Lankelma J, Emeis JJ, Hinsbergh VWM. Simvastatin improves disturbed endothelial barrier function. *Circulation* 2000, 102:2803-09.
26. Rosenson RS, Tangney CC. Antithrombotic properties of statins. Implications for cardiovascular event reduction. *JAMA* 1998, 164:3-50.
27. Koh KK. Effects of HMG-CoA inhibitor on hemostasis. *Int J Cardiol* 2000, 76:23-32.
28. Wiesbauer F, Kaun C, Zorn G, et al. HMG CoA reductase inhibitors affect the fibrinolytic system of human vascular cells in vitro: a comparative study using different statins. *Br J Pharmacol* 2002, 135:284-92.
29. Koh KK. Effects of statins vascular wall: vasomotor function, inflammation and plaque stability. *Cardiov Research* 2000, 47:648-57.
30. Cucchiara B, Kansler SE. Use of statins in CNS disorders. *J Neur Sci* 2001, 187: 81-89.
31. Human JA, Ubbink JB, Jerling JJ, Delpont R, Vermaak WJ, Vorster HH. The effect of Simvastatin on the plasma antioxidant concentrations in patients with hypercholesterolaemia. *Clin Chim Acta* 1997, 263 1 :67-77.
32. Kobashigawa JA, Katznelson S, Laks H, et al. Effect of Pravastatin on outcomes after cardiac transplantation. *N Engl J Med* 1995, 333:621-7.
33. Wong WW, Dimitroulakos J, Minden MD, Penn LZ. HMG-CoA reductase inhibitors and the malignant cell: the statin family of drugs as trggers of tumorspecific apoptosis. *Leukemia* 2002, 16:508-19.
34. Ferrier KE, Muhlmann MH, Baguet JP, et al. Intensive cholesterol reduction lowers blood pressure and large artery stiffness in isolated systolic hypertension. *J Am Coll Cardiol* 2002, 39:1020-5.
35. Glorioso N, Troffa C, et al. Effect of the HMG-CoA reductase inhibitors on blood pressure with essential hypertension and primary hypercholesterolemia. *Hypertension* 1999, 34:1281-6.
36. Paolisso G, Barbagallo M, Petrella G, et al. Effects of simvastatin and atorvastatin administration on insülin resistance and respiratory quotient in aged dyslipidemic non-insülin dependent diabetic patient. *Atherosclerosis* 2000, 150:121-7.
37. Scandinavian Simvastatin Survival Study Group. Randomised trial of cholesterol lowering in 4444 patients with coronary heart disease: The Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 1994, 344:1383-9.

38. Sparks DL, Sabbagh MN, Connor DJ, et al. Atorvastatin for threat of mild to moderate Alzheimer disease: preliminary results. *Arch Neurol* 2005, 62:753-7
39. Agarwal R, Curley TM. The role of statins in chronic kidney disease. *Am J Med Sci* 2005, 330:69-81.
40. Schectman G, Hiatt J. Dose-response characteristics of cholesterol-lowering drug therapies: implications for treatment. *Ann Intern Med* 1996, 125: 990-1000.
41. Corsini A, Maggi FM, Catapano AL. Pharmacology of competitive inhibitors of HMGCoA reductase. *Pharmacol Res* 1995, 31 9–27.
42. Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther* 1999, 84 413–428.
43. Kajinami K, Mabuchi H, Saito Y. NK-104: a novel synthetic HMG-CoA reductase inhibitor. *Expert Opin Investig Drugs* 2000, 9 :2653–2661.
44. Cilla DD Jr, Gibson DM, Whitfield LR, Sedman AJ. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of atorvastatin after administration to normocholesterolemic subjects in the morning and evening. *J Clin Pharmacol* 1996, 36:604–609.
45. Martin PD, Mitchell PD, Schneck DW. Pharmacodynamic effects and pharmacokinetics of a new HMGCoA reductase inhibitor, rosuvastatin, after morning or evening administration in healthy volunteers. *Br J Clin Pharmacol* 2002, 54: 472–477.
46. Tse FL, Jaffe JM, Troendle A. Pharmacokinetics of fluvastatin after single and multiple doses in normal volunteers. *J Clin Pharmacol* 1992, 32 630–638.
47. Singhvi SM, Pan HY, Morrison RA, Willard DA. Disposition of pravastatin sodium, a tissue-selective HMG-CoA reductase inhibitor, in healthy subjects. *Br J Clin Pharmacol* 1990, 29: 239–243.
48. Naoumova RP, Dunn S., Rallidis L. Prolonged inhibition of cholesterol synthesis explains the efficacy of atorvastatin. *J Lipid Res* 1997, 38 1496–1500.
49. Radulovic LL, Cilla DD, Posvar EL, Sedman AJ, Whitfield LR. Effect of food on the bioavailability of atorvastatin, an HMG-CoA reductase inhibitor. *J Clin Pharmacol* 1995, 35: 990–994.
50. Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther* 1999, 84 413–428.

- 51.** Garnett WR. Interactions with hydroxymethylglutaryl-coenzyme A reductase inhibitors. *Am J Health Syst Pharm* 1995, 52 1639–1645.
- 52.** Corsini A, Bellosta S, Baetta R, Fumagalli R, Paoletti R, Bernini F. New insights into the pharmacodynamic and pharmacokinetic properties of statins. *Pharmacol Ther* 1999, 84 413–428.
- 53.** Hamelin BA, Turgeoun J. Hydrophilicity/lipophilicity: relevance for the pharmacology and clinical effects of HMG-CoA reductase inhibitors. *TiPS* 1998, 19 36–37.
- 54.** Bottorff M, Hansten P. Long-term safety of hepatic hydroxymethyl glutaryl coenzyme A reductase inhibitors: the role of metabolism – monograph for physicians. *Arch Intern Med* 2000, 160 2273–2280.
- 55.** Mosca L. Hiperlipidemi Tedavisi. In: Crawford MH, DiMarco JP, eds. Crawford Kardiyoloji. AND Danışmanlık, Eğitim, Yayıncılık ve Organizasyon Ltd.Sti. Türkçe 1. Baskı, 2003. Bölüm 1:7.1-7.19.
- 56.** Stein EA, Lane M, Laskarzewski P. Comparison of statins in hypertriglyceridemia. *Am J Cardiol* 1998, 81: 66B-69B.
- 57.** Schectman G, Hiatt J. Dose-response characteristics of cholesterol-lowering drug therapies: implications for treatment. *Ann Intern Med* 1996, 125: 990-1000.
- 58.** Ginsberg HN, Le NA, Short MP, Ramakrishnan R, Desnick RJ. Suppression of apolipoprotein B production during treatment of cholesteryl ester storage disease with lovastatin: implications for the regulation of apolipoprotein B synthesis. *J Clin Invest* 1987, 80 1692–1697.
- 59.** Hsu I, Spinler SA, Johnson NE. Comparative evaluation of the safety and efficacy of HMG-CoA reductase inhibitor monotherapy in the treatment of primary hypercholesterolemia. *Ann Pharmacother* 1995, 29:743-59.
- 60.** Cressman MD, Hoogwerf BJ, Moodie DS, Olin JW. HMG-CoA reductase inhibitors: a new approach to the management of hypercholesterolemia. *Cleve Clin J Med* 1988, 55:93-100.
- 61.** Staffa JA, Chang j, Gren L. Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N Engl J Med* 2002, 346:539-40.
- 62.** Laaksonen R, Jokelainen K, Laakso J, et al. The effect of simvastatin treatment on natural antioxidants in low density lipoproteins and high-energy phosphates and ubiquinone in skeletal muscle. *Am J Cardiol* 1996, 77:851-4.

- 63.** Heinrich J, Sandkamp M, Kokot R, Schulte H, Asman G. Relationship of lipoprotein (a) to variables of coagulation and fibrinolysis in a healthy population. *Clin Chem* 1991, 37:1950-4.
- 64.** "Türkiye İlaç Kılavuzu, 2001 Formüleri", Editör: Prof. Dr. S.O Kayaalp "Türk Farmakoloji Derneği, Klinik Farmakoloji Çalışma Grubu, III. Rasyonel Farmakoterapi Sempozyumu: Gebelikte İlaç Kullanımı Kitapçığı", Ankara, 2002.
- 65.** Deviren A. Genel Genetik. İstanbul: İ.Ü. Cerrahpaşa Tıp Fak. 2002, Yayın No: 243.
- 66.** German J, editor. Chromosomes and Cancer. John Wiley & Sons Inc: New York, USA, 1974.
- 67.** Taylor AM. Chromosome instability syndromes. *Best Pract Res Clin Haematol* 2001, 14(3):631-44.
- 68.** Tokgözoğulu L, Özer N. Ateroskleroz patogenezi. Özcan N. Koroner kalp hastalıkları. 1. Baskı. Ankara, 1997. 129-163.
- 69.** Rosenson RS. Statins in atherosclerosis: lipid-lowering agents with antioxidant capabilities. *Atherosclerosis* 2004, 173: 1-12.
- 70.** MuldoonMF, Manuck SB, Matthews KA. Lowering cholesterol concentrations and mortality: a quantitative review of primary prevention trials. *BMJ* 1990, 301: 309-14.
- 71.** Kearney PM, Baigent C. Statins: Are any questions unanswered? *Curr Opin Lipidol* 2006, 17 418-25.
- 72.** Kwak BR, Mulhaupt F, Mach F. Atherosclerosis: antiinflammatory and immunomodulatory activities of statins. *Autoimmun Rev* 2003, 2: 332-338.
- 73.** Blumenthal RS. Statins: effective antiatherosclerotic therapy. *Am. Heart J* 2000, 139: 577-583.
- 74.** Lee TS, Chang CC, Zhu Y, Shyy JY. Simvastatin induces heme oxygenase-1: a novel mechanism of vessel protection. *Circulation* 2004, 110:1296-302.
- 75.** Dulak J, Józkowicz A. Anti-angiogenic and anti-inflammatory effects of statins: relevance to anti-cancer therapy. *Curr Cancer Drug Targets* 2005, 5:579-94

- 76.** Spherd J, Blauw GJ, Murphy MB, et al. Pravastatin in elderly individuals at risk of vascular disease (PROSPER): a randomised controlled trial. *Lancet* 2002, 360:1623-30.
- 77.** Strandberg TE, Pyorala K, Cook TJ, et al. Mortality and incidence of cancer during 10 year follow up of the Scandinavian Simvastatin Survival Study (4S). *Lancet* 2004, 364:771-7.
- 78.** Peto R, Emberson J, Landray M, et al. Analyses of cancer data from three ezetimibe trials. *N Engl J Med* 2008, 359:1357-66.
- 79.** Frost FJ, Petersen H, Tollestrup K, Skipper B. Influenza and COPD mortality protection as pleiotropic, dose-dependent effects of statins. *Chest* 2007, 131:1006-12.
- 80.** Thomsen RW, Riis A, Kornum JB, Christensen S, Johnsen SP, Sørensen HT. Preadmission use of statins and outcomes after hospitalization with pneumonia: population-based cohort study of 29.900 patients. *Arch Intern Med* 2008, 168:2081-7.
- 81.** Majumdar SR, McAlister FA, Eurich DT, Padwal RS, Marrie TJ. Statins and outcomes in patients admitted to hospital with community acquired pneumonia: population based prospective cohort study. *BMJ* 2006, 11;333(7566):999.
- 82.** Fernández AB, Karas RH, Alsheikh-Ali AA, Thompson PD. Statins and interstitial lung disease: a systematic review of the literature and of food and drug administration adverse event reports. *Chest* 2008, 134:824-30.
- 83.** Georgina Braganza, Rekha Chaudhuri, Charles McSharry, Christopher J Weir, Iona Donnelly, Lisa Jolly, Jane Lafferty, Suzanne M Lloyd, Mark Spears, Frances Mair and Neil C Thomson. Effects of short-term treatment with atorvastatin in smokers with asthma - a randomized controlled trial. Braganza et al. *BMC Pulmonary Medicine* 2011, 11:16 <http://www.biomedcentral.com/1471-2466/11/16>
- 84.** Goran Gajski, Vera Garaj-Vrhovac, Višnja Oreščanin. Cytogenetic status and oxidative DNA-damage induced by atorvastatin in human peripheral blood lymphocytes: Standard and Fpg-modified comet assay. *Toxicology and Applied Pharmacology* 2008, 85–93.

- 85.** Ciaravino, V., Kropko, M.L., Rothwell, C.E., Hovey, C.A., Theiss, J.C. The genotoxicity profile of atorvastatin, a new drug in the treatment of hypercholesterolemia. *Mutat Res* 1999, 343 (2–3), 95–107
- 86.** Harangi, M., Seres, I., Varga, Z., Emri, G., Szilvássy, Z., Paragh, G., Remenyik, É. Atorvastatin effect on high-density lipoprotein-associated paraoxonase activity and oxidative DNA damage. *Eur. J. Clin. Pharmacol* 2004, 60, 685–691
- 87.** Raslova, K., Dobiasova, M., Nagyova, A., Fabry, R., Rauchova, H., Dusinska, M. Ciprofibrate treatment in patients with atherogenic lipoprotein phenotype: effects on HDL quality, LDL susceptibility to oxidation and DNA damage. *Eur. J. Clin* 1998.
- 88.** Omar, M.A., Wilson, J.P. FDA adverse event reports on statin-associated rhabdomyolysis. *Ann. Pharmacother* 2002, 36, 288–295. *Pharmacol* 2002, 54, 697–699.