

Karaciger Kist Hidatigi Tedavisinde Albendazol Kullanan Hastalarda Kardes Kromatid Degisimi (KKD) Çalışması

Nuray ALTINTAS¹, Seda ÖRENAY¹, Mustafa ASÇI¹, Enver REYHAN², Meral TÜRK³,
Aysegül YOLASIGMAZ⁴, Nazmiye ALTINTAS⁴

¹Celal Bayar Üniversitesi Tıp Fakültesi Tıbbi Biyoloji ve Genetik Anabilim Dalı, Manisa; ²Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Genel Cerrahi Anabilim Dalı, İzmir; ³Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Anabilim Dalı, İzmir; ⁴Ege Üniversitesi Tıp Fakültesi Parazitoloji Anabilim Dalı, İzmir

ÖZET: Bu çalışmaya karaciger kist hidatik sikayetiyle Atatürk Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji ve Genel Cerrahi Anabilim Dalı'na başvuran 13 kadın, 8 erkek toplam 21 hasta alınmıştır. Kist hidatikli hastalara operasyon öncesi ve sonrası albendazol verilmiştir. Bu çalışmanın amacı albendazolün muhtemel genotoksik etkilerini araştırmaktır. Kardes Kromatid Değişimi (SCE), tedaviden sonra hastalardan alınan kan örneklerine uygulanmış ve kontrol grubuyla karşılaştırılarak albendazolün mutajenik etkisi araştırılmıştır. İstatistiksel analizler için Student-t testi kullanılmıştır.

Anahtar sözcükler: Genotoksik, albendazol, SCE, kist hidatik

A Study of Sister Chromatid Exchange (SCE) in Patients with Liver Cystic Hydatid Disease Who Have Been Treated with Albendazole

SUMMARY: A total of 21 patients including 13 females and 8 males who presented at the Microbiology and General Surgery Departments of the Atatürk Research and Training Hospital with complaints of liver cystic hydatid disease have been included in this study. Albendazole was administered to these cystic hydatid patients before and after surgery. The aim of this study was to investigate the probable genotoxic effects of albendazole. SCE testing was applied to the blood samples taken from patients after the treatment and the mutagenic effect of albendazole was investigated by comparison with the control group. Student t - test was used for the statistical analysis of the results.

Key Words: Genotoxic, albendazole, SCE, cystic hydatid

GİRİŞ

Albendazol, özellikle kist hidatik olmak üzere pek çok helmintiazis tedavisinde kullanılan bir ilaçtır. Bu ilaç metabolize olduğunda, parazitin mikrotübül oluşumunu inhibe eder ve metafaz safhasında hücre proliferasyonunu durdurarak etkisini gösterir. Aynı etkiyi konakçı organizmasında da gösterebilmektedir. Buna bağlı olarak albendazol kullanan vakalarda lökopeni, karaciger fonksiyonlarında bozulma ve saç dökülmesi rapor edilmiştir (13, 14).

Potansiyel mutajenler/karsinojenlere maruz kalan insan popülasyonlarının genetik biyozilemi, farklı genetik isaretleyciler kullanarak yapılabilmektedir. Kardes kromatid değişimleri (SCEs), DNA hasarına neden olan ajanların erken biyolojik etkilerinin belirlenmesinde en yaygın kullanılan sitogenetik

isaretleyciler arasında yer alır (2, 8). SCE, DNA replikasyonu sırasında kardes kromatidlerin karşılıklı olarak yer değiştirme-sidir. SCE hücre bölünmesinin normal bir özelliği olarak meydana gelebilmekle birlikte, kromozom morfolojisinde değişikliğe neden olmamakta; fakat hücre DNA'si genotoksik ajanlar tarafından zarar gördüğünde oranı artmaktadır (2, 5, 8, 9, 10).

Çalışmamızda, albendazol kullanan olgularda, albendazolün potansiyel bir mutajen olup olmadığının aydınlatılması ve albendazol kullanan hastalardan periferik kan kültürüyle elde edilmiş kromozomlarda SCE frekansının belirlenmesi amaçlanmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu olarak, Atatürk Araştırma ve Uygulama Hastanesi Mikrobiyoloji ve Genel Cerrahi Anabilim Dallarında karaciger kist hidatigi tanısı konmuş 13 kadın ve 8 erkek olmak üzere toplam 21 hasta ve 21 kontrol grubu incelemeye alındı. SCE, ameliyat öncesi ve sonrası albendazol kullanan

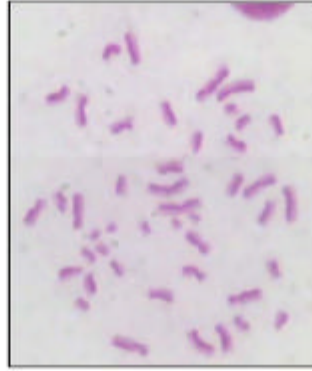
karaciger kist hidatikli hastaların periferik kan örneklerine uygulandı. Periferik kan kültürü yöntemiyle hastaların lenfositleri kültüre edildi. SCE; in vitro olarak, lenfositlerdeki mitotik kromozomların her bir kromatidin farklı boyanmasıyla gösterildiği için, 24. saatte kültüre bromodeoxyuridine (BrdU) eklendi ve fotodegradasyon sağlandı. Çalışmada BrdU, her iki kromatidin ayırt edilmesine imkan veren Floresans Plus Giemsa (FPG) tekniğinin uygulanmasını sağladı. 72. saatte kültüre kolsemid ilavesiyle kromozomların metafaz aşamasında bölünmeleri durduruldu. Kromozomlar hipotonik solüsyonda sisirilerek fikse edildi ve FPG tekniği uygulanarak, Hoechst boyasıyla boyandı. Her bireyden 46 kromozoma sahip toplam 25 metafaz alanı isik mikroskopunda değerlendirildi. Kromozom kırıkları A1[1], A2[2], A3[3], B[4,5], C-X [6,7,8,9,10,11,12,X], G[13,14,15], H[16,17,18], F[19,20] ve G-Y [21,22,Y] gruplarına göre 1'li,2'li, 3'lü,4'lü ve 5'li kırıklar olarak kaydedildi. Sonuçların istatistiksel analizi için Student t- testi kullanıldı.

BULGULAR

Sekil 1, 2 ve 3'de olgu ve kontrol grubuna ait kromozom kırıkları gösterilmektedir. Çalışmamızda, albendazol uygulanan karaciger kist hidatikli 10 hastanın kontrol grubuyla karşılaştırılması sonucunda SCE frekansında gözle görülebilir bir artış olduğu saptanmıştır ($p < 0,05$).



Sekil 1. Olgu grubuna ait metafaz örneği.
a. 1'li kırık, b. 2'li kırık, c. 3'lü kırık



Sekil 2. Olgu grubuna ait metafaz örneği



Sekil 3. Kontrol grubuna ait metafaz örneği

TARTISMA

Bir takım kimyasal maddeler, değişen dozlarda kullanıldıklarında periferik kan kültürlerinde SCE frekansını değiştirici bir etki göstermektedir. Bunun takibiyle doz- cevap eğrisi hazırlanabilmektedir. Artan doza bağlı olarak SCE frekansında bir artış varsa, o maddenin mutajen olduğu ve bu nedenle de karsinojenik bir özellik gösterebileceği düşünülebilmektedir. Bu ajanların insanlar üzerinde oluşturdıkları etkileri saptamak için, deneylerin tekrarlanması ve yeni yöntemlerle desteklenmesi gerekmektedir (6).

Kromozomlardaki kırıklarla, gözlenebilen kardeş kromatid değişimi sıklığı arasındaki ilişki kimyasal mutajenlerle yapılan çalışmalarla incelenmektedir. Diğer yandan kromozom kırılmalarıyla, kardeş kromatid değişim (SCE) sayıları arasındaki ilişki tam olmayıp hasar yapıcı bir maddenin etkisi sonucu meydana gelmektedir. Her iki durumda da DNA'nın hasara uğradığını göstermektedir (7).

DNA hasarıyla ilişkili durumun ayrıntısını ortaya çıkarmak üzere DNA tamir mekanizması ile ilgili çok sayıda araştırma yapılmıştır. DNA hasarının tamir edilmesine yönelik araştırmalar DNA tamir işlemi sırasındaki mekanizma ve regülasyonlara bağlı olarak yapılmaktadır.

SCE yöntemi, mutajen ve karsinojenleri tayin etmek üzere değişik hücre ve canlı sistemlerinde de kullanılmaktadır (4). SCE ile ilgili yapılan çalışmaların bir kolu tedavi amaçlı kullanılan ilaçların genotoksik etkilerinin belirlenmesidir. Telez ve ark (11) İspanya'da yaptıkları bir çalışmada beta bloker antihipertansif ilaç olan atanolol ile uzun süreli tedavinin genotoksitesini belirlemeyi amaçlamışlardır. SCE ve mikronükleus frekanslarında kontrol grubu ile uzun süre tedavi alan bireyler arasında farklılık gözlenmediği için genotoksik etkinin gözlenmediği sonucuna varmışlardır. Aynı araştırma merkezinde yapılan bir başka çalışmada antihipertansif ilaç olan nimodipin ile değerlendirilmişler ve benzer sonuçları elde

etmişlerdir (12). Bilban- Jakopin ve ark (3), radyoterapi ve kemoterapi alan 30 Hodgkin lenfomali hastalarda yaptıkları çalışmada, SCE, mikronükleus ve kromozom aberasyonlarını içeren mutajenite testlerini uygulamışlardır. Bu testleri tanı koyulduktan hemen sonra ve tedavi başlangıcından 6 ay sonra uygulamışlardır. Tedavi öncesi kromozomal hasarın kontrol grubundan çok yüksek olmadığını gözlemlenmesine rağmen, tedavi tamamlandıktan sonra mitotik aktivitede inhibisyonla birlikte SCE, mikronükleus ve kromozom aberasyonları fre-

kanslarında bir artis oldugunu bildirmislerdir. Radyoterapi ile tedavi olan hastalarda, mikronükleus ve kromozom aberasyonlari frekanslarında, kemoterapi ile tedavi olanlara göre önemli farklılıklar bulmuşlardır. 6 ay sonra tedavi tamamlandığında, mitotik aktivitenin normale yakın olmasına ragmen kromozom hasari gözlenmiştir.

Radyoterapi ve kemoterapinin genotoksik etkilerinin olabilecegi rapor edilmesine ragmen, kist hidatik tedavisinde kemoterapi amaçlı kullanılan albendazol'un genotoksik bir ajan olabilecegi konusundaki araştırmaların sayısı yetersizdir.

Bizim çalışmamızda, albendazol karaciger kist hidatikli hastalara kemoterapi amaçlı uygulanmış ve albendazolün hasta kromozomlarındaki SCE frekansı araştırılmıştır. 21 hastanın kontrol grubuyla karşılaştırılması neticesinde diğer kemoterapi amaçlı kullanılan ilaçlarda saptanan SCE artisina uyumlu olarak SCE frekansında artis gözlenmiştir ($p < 0,05$). Bu çalışma albendazolün muhtemel bir mutajen olabileceğini düşündürmüştür.

KAYNAKLAR

1. **Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, Natarajan AT, Norppa H, Shuker DE, Tice R, Waters MD, Aitio A**, 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety. *Mutat Res*, 463: 111-172.
2. **Albertini RJ, Anderson D, Douglas GR, Hagmar L, Hemminki K, Merlo F, Natarajan AT, Norppa H, Shuker DE, Tice R, Waters MD, Aitio A**, 2000. IPCS guidelines for the monitoring of genotoxic effects of carcinogens in humans. International Programme on Chemical Safety. *Mutat Res*, 463(2):111-172.
3. **Bilban-Jakopin C, Bilban M**, 2001. Genotoxic effects of radiotherapy and chemotherapy on circulating lymphocytes in patients with Hodgkin's diseases. *Mutat Res*, 497(1-2): 81-88.
4. **Ciaravino V, Miller MW, Carstensen EL**, 1986. SCE in human lymphocytes exposed invitro to therapeutic ultra-sound. *Mutat Res*, 172: 185-188.
5. **Crossen PE, Morgen WF**, 1977. Analysis of human lymphocyte cell cycle time in culture measured by sister chromatid differential staining. *Exp Cell Res*, 104: 453-57
6. **Emre S**, 1989. Antikanser ilaçların ve karsinojen maddelerin insan kromozomları üzerine etkilerinin in vitro sistemde SCE analiz yöntemi ile belirlenmesi. Hacettepe Üni. Sağlık Bilimleri Enstitüsü, Doktora Tezi, Ankara
7. **Gerner-Smidt P, Friedrich U**, 1978. The mutagenic effect of benzene, toluene and xylene studied by the SCE technique. *Mutat Res*, 58: 313-316.
8. **Hagmar L, Strömberg U, Tinnerberg H, Mikoczy Z**, 2001. The usefulness of cytogenetic biomarkers as intermediate endpoints in carcinogenesis. *Int J Hyg Environ Health*, 204: 43-47.
9. **Junjie C, et al**, 2003. Observations on clinical efficacy of albendazole emulsion in 264 cases of hepatic cystic echinococcosis. Received 9 August 2003; accepted 17 September. –DERGİSİ BELLI DEGİL
10. **Teggi A, Lastilla MG, de Rosa F**, 1993. Therapy of human hydatid disease with mebendazole and albendazole. *Antimicrobial Agents Chemother*, 37(8): 1679-1684.
11. **Télez M, Martínez B, Criado B, Lostao CM, Peñagarikano O, Ortega B, Flores P, Ortiz-Lastra E, Alonso RM, Jiménez RM, Arrieta I**, 2000. *In vitro* and *in vivo* evolution of the antihypertensive drug atenolol in cultured human lymphocytes: Effects of long-term therapy. *Mutagenesis*, 15(3): 195-202.
12. **Telez M, Martinez B, Criado B, Ortega B, Penagarikano O, Flores P, Ortiz-Lastra E, Arrieta I**, 2001. Evolution of the cytogenetic damage induced by the antihypertensive drug nimodipine in human lymphocytes. *Mutagenesis*, 16(4): 245-251.
13. **Verma RS, Babu A**, 1995. Specialized techniques, sister chromatid differentiation. In: *Human Chromosomes Principles and Techniques*. Mc Graw Hill, New York, p.143-152.
14. **Zhang Z, Yang L, Zhang Q, Cao X**, 1991. Studies on the utilization of a plant SCE test in detecting potential mutagenic agents. *Mutat Res*, 261: 69-73.