

## مقاله اصلی

# تأثیرات سیتوتوکسیک میرتازاپین بر لنفوسیت های خونی از طریق شمارش میتوتیک ایندکس، شاخص تقسیم هسته ایی و پرولیفراسیون ایندکس

تاریخ دریافت: ۹۴/۱/۱۶- تاریخ پذیرش: ۹۴/۳/۱۲

### خلاصه

#### مقدمه

میرتازاپین از جمله داروهای ضد افسردگی می باشد که به طور گسترده در سراسر جهان برای درمان افسردگی های مازور مورد استفاده قرار می گیرد. میرتازاپین موجب افزایش سطح آدرنالین و سرتونین در مغز می شود. افزایش مصرف داروهای ضد افسردگی در سالهای اخیر ضرورت مطالعات بیشتر و اطمینان حاصل از این داروها را نشان می دهد. بنابراین هدف از این پژوهش مطالعه ی سیتوتوکسیسیته ی داروی میرتازاپین در لنفوسیت های خونی با استفاده از روش های شمارش میتوتیک ایندکس، شاخص تقسیم هسته ایی و پرولیفراسیون ایندکس می باشد.

#### روش کار

در این پژوهش که بر لنفوسیت های خونی انسان (۲ نفر آقا و ۲ نفر خانم) انجام شد تاثیر سیتوتوکسیسیته ی میرتازاپین در تیمارهای ۲۴ و ۴۸ ساعته و در دوز های 10, 25, 40, 55 µg/ml بررسی شده و داده ها توسط آزمون تی مورد تجزیه و تحلیل آماری قرار گرفت.

#### نتایج

تیمارهای ۲۴ و ۴۸ ساعته ی میرتازاپین سبب کاهش میتوتیک ایندکس و شاخص تقسیم هسته ای شده است. همچنین، میرتازاپین موجب کاهش پرولیفراسیون ایندکس در تیمارهای ۲۴ و ۴۸ ساعته شده و کاهش پرولیفراسیون در هر دو زمان تیمار با افزایش دوز رابطه ی مستقیم داشته است.

#### نتیجه گیری

بر اساس نتایج این پژوهش میرتازاپین دارای اثرات سیتوتوکسیک در سلولهای انسانی است. بنابراین این دارو می تواند کاندید مناسبی در درمان سرطان باشد.

**کلمات کلیدی:** سیتوتوکسیسیته، لنفوسیت های خونی، میرتازاپین، میتوتیک ایندکس

**پی نوشت:** این مطالعه فاقد تضاد منافع می باشد.

<sup>۱</sup>مصطفی نوری زاده تازه کند  
<sup>۲</sup>مهمت توپاکتاس  
<sup>۳</sup>ابراهیم ولی پور  
<sup>۴</sup>ارکیده حاجی پور

۳-۴-۱- دکتری بیوتکنولوژی دانشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه چکورو، آدانا، ترکیه  
۲- استاد بیوتکنولوژی دانشکده بیوتکنولوژی، دانشگاه چکورو، آدانا، ترکیه  
۴- دانشجوی دکتری مولکولار بیولوژی دانشکده بیولوژی، دانشگاه پاموک قلعه، دنیزلی، ترکیه

\* ترکیه- آدانا، دانشگاه چکورو، دانشکده بیوتکنولوژی  
تلفن: ۰۰۹۰۵۳۷۲۸۹۱۰۲۷

email:  
mostafa\_noorizadeh@yahoo.com

## مقدمه

افسردگی یکی از ناهنجاری های جوامع امروزی است که با خلق پایین و کاهش لذت و علاقه مشخص می شود و با علائمی مانند اختلال در خواب، تغییرات اشتها، کاهش انرژی، احساس گناه، عدم تمرکز و بی ارزش بودن ظاهر می شود (۱). بر اساس مطالعات انجام شده تخمین زده می شود % 25 از خانمها و % ۱۵ از آقایان در طول زندگی خود دچار این بیماری می شوند (۲). داروهای ضد افسردگی در دهه ی سال های ۱۹۵۰ برای درمان افسردگی وارد بازار شدند و آمفتامین ها اولین موادی بودند که برای درمان افسردگی های مازور مورد استفاده قرار گرفتند (۳). یکی از این داروها که در حال حاضر مورد استفاده قرار می گیرد دارویی به نام میرتازاپین است. میرتازاپین موجب افزایش سطح سروتونین و آدرنالین در مغز می شود و از این طریق کاهش این دو را که موجب بوجود آمدن افسردگی می شود را جبران می کند (۴). میرتازاپین با بلوکه کردن اتورسپتورهای آلفا-۲ موجب ترشح نورآدرنالین می شود و افزایش نورآدرنالین موجب تحریک آدرنورسپتورهای آلفا-۱ در سطح نرون شده و این تحریک موجب فعالیت سرتونریکی شده و طی آن 5HT(5-Hydroxytryptamine) ترشح می شود (۵، ۶). اکثر مطالعاتی که در ارتباط با میرتازاپین صورت گرفته است در زمینه ی رفتاری، فیزیولوژیکی و عصبی است و پژوهش هایی در مورد تاثیر این دارو در چرخه ی سلولی و یا تاثیر مستقیم آن در DNA در دسترس نمی باشد (۷-۹). از جمله مطالعات معدودی که در این زمینه انجام شده است مربوط به پژوهش انجام شده توسط پان<sup>۱</sup> و همکاران می باشد که در مورد تاثیر میرتازاپین بر سلول های سرطانی استئوسارکومای انسانی است که بر اساس نتایج حاصل از آن پژوهش، میرتازاپین دارای اثر سیتوتوکسیک در سلول های سرطانی است (۱۰). در نتیجه ضروری است که در این زمینه تحقیقات بیشتری صورت گیرد. همچنین افزایش مصرف داروهای ضد افسردگی در سالهای اخیر ضرورت مطالعات بیشتر در این زمینه را الزامی می سازد. از این رو در این پژوهش اثر سیتوتوکسیسته ی میرتازاپین در لنفوسیت

های خونی از طریق شمارش میتوتیک ایندکس، پرولیفراسیون ایندکس و شاخص تقسیم هسته ایی مورد بررسی قرار گرفت.

## روش کار

این تحقیق در دپارتمان بیوتکنولوژی دانشگاه چکوروای ترکیه انجام شد. در این پژوهش که به صورت خارج از بدن موجودات زنده (in vitro) انجام شد میرتازاپین از شرکت Schering-plough خریداری شد و از خون هپارنیزه ۴ نفر که دارو، سیگار مصرف نمی کردند (دو نفر آقا و دو نفر خانم با رده سنی ۲۳-۲۶ سال) استفاده شد. بدین صورت که ۰/۲ ml از خون هپارنیزه در ۲/۵ ml محیط کشت PB Max در ۳۷<sup>0</sup>C و به مدت ۷۲ ساعت در شرایط کاملاً استریل کشت داده شد و محیط کشت نیز با استفاده از فیلترهای استریل با پرزهای ۰/۲ μm استریل گردید (۱۱). قبل از انجام پژوهش برای پی بردن به این که چه دوز هایی در آزمایش مورد استفاده قرار گیرد روش به دست آوردن LD50 توسط میرتازاپین به کار برده شد. به صورتی که سلول های خونی در ۸ تیوب ۷۲ ساعت کشت داده شدند و ۴۸ ساعت بعد از کشت لنفوسیت ها به هر تیوب مقدار های متفاوت از میرتازاپین اضافه شد و سلول های خونی ۲۴ ساعت با میرتازاپین تیمار شدند و سپس لنفوسیت های همه ی نمونه ها برداشت شد و بعد از رنگ آمیزی با گیمسا %۵ شمارش میتوتیک ایندکس انجام شد و دوز های ۱۰، ۲۵، ۴۰، ۵۵ μg/ml برای این مطالعه انتخاب شدند. با به دست آوردن مقدار دوز های مورد استفاده از ۴ نفر خون گیری انجام شد و خون این افراد به مدت ۷۲ ساعت کشت داده شد. در این مطالعه لنفوسیت های خونی در سیکل های ۲۴ و ۴۸ ساعته تحت تیمار با میرتازاپین قرار گرفتند و برای هر آزمایش از یک شاهد و یک کنترل مثبت (۱۵ μg/ml میتومیسین C) استفاده شد (۱۲).

نمونه های مورد بررسی بدین صورت نام گذاری شدند:

کنترل (C): تحت تیمار با هیچ ماده ای قرار نگرفت.

کنترل مثبت ۲۴ ساعته: ۲۴ ساعت تحت تیمار با ۱۵ μg/ml MMC

۱۵

گروه ۱: ۲۴ ساعت تحت تیمار با ۱۰ μg/ml میرتازاپین.

گروه ۲: ۲۴ ساعت تحت تیمار با ۲۵ μg/ml میرتازاپین.

<sup>1</sup> Pan

**بررسی میکروسکوپی**

بعد از خشک شدن لامها بررسی های میکروسکوپی در میکروسکوپ Olympus و در بزرگنمایی ۴۰۰ انجام شد. به منظور بررسی سیتوکسیستی میرتازاپین در هر نمونه ۳۰۰۰ عدد سلول های لنفوسیت شمارش شد و تعداد لنفوسیت هایی که در مرحله متافاز بودند ثبت شد و میتوتیک ایندکس از طریق این فرمول حساب شد:

$$\text{Mitotic index} = \frac{\text{تعداد لنفوسیت های متافازی}}{3000}$$

**کشت لنفوسیت و رنگ آمیزی آن به منظور شمارش شاخص میانگین تقسیم هسته ای (NDI):**

۴۴ ساعت بعد از کشت لنفوسیت ها به منظور ممانعت از سیتوکینز  $6 \mu\text{g/ml}$  سیتوکالاسین D محصول شرکت سیگما به محیط کشت حاوی لنفوسیت ها اضافه شد و سلول ها تا پایان ساعت ۶۸ در  $37^{\circ}\text{C}$  انکوبه گردیدند. در پایان ساعت ۶۸ ام تیوب ها به مدت ۵ دقیقه در  $1200 \text{ rpm}$  سانتریفیوژ گردید و سوپرناتانت دور ریخته شد و به قسمت پلت تیوب ها  $0.4\%$   $37^{\circ}\text{C}$  KCL اضافه شد (۵ml) و این بار ۱۰ دقیقه در  $1000 \text{ rpm}$  سانتریفیوژ شد. سپس از محلول فیکساتیو (اسیتیک اسید، متانول و  $NaCl$   $10/9\%$  به نسبت ۶:۵:۱) برای فیکسه کردن لنفوسیت ها استفاده شد و در نهایت لنفوسیت ها توسط پیپت پاستور از ۱۰ سانتیمتری به لامهای سرد پرتاب شد (هر لام ۵ قطره) و ۲۴ ساعت در دمای اتاق به منظور خشک شدن نگهداری شد (۱۴).

**رنگ آمیزی لامها**

رنگ آمیزی لامها ۱۳ دقیقه و با استفاده از گیمسای  $5\%$  ( $5 \text{ ml}$  تامپون A +  $5 \text{ ml}$  تامپون B +  $5 \text{ ml}$  گیمسای محصول شرکت Merck +  $85 \text{ ml}$  آب) انجام شد. به منظور خشک شدن، لامها ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند.

**بررسی میکروسکوپی**

بعد از خشک شدن لامها بررسی های میکروسکوپی با میکروسکوپ Olympus و در بزرگنمایی ۴۰۰ انجام گرفت. بدین منظور تعداد سلول های یک، دو، سه و چهار هسته ای به

گروه ۳: ۲۴ ساعت تحت تیمار با  $40 \mu\text{g/ml}$  میرتازاپین.

گروه ۴: ۲۴ ساعت تحت تیمار با  $55 \mu\text{g/ml}$  میرتازاپین.

کنترل مثبت ۴۸ ساعته: ۴۸ ساعت تحت تیمار با  $55 \mu\text{g/ml}$  MMC.

گروه ۵: ۴۸ ساعت تحت تیمار با  $10 \mu\text{g/ml}$  میرتازاپین.

گروه ۶: ۴۸ ساعت تحت تیمار با  $25 \mu\text{g/ml}$  میرتازاپین.

گروه ۷: ۴۸ ساعت تحت تیمار با  $40 \mu\text{g/ml}$  میرتازاپین.

گروه ۸: ۴۸ ساعت تحت تیمار با  $55 \mu\text{g/ml}$  میرتازاپین.

**کشت لنفوسیت به منظور شمارش میتوتیک ایندکس (MI) و پروليفراسيون ايندکس (PI):**

بدلیل آنکه بررسی ناهنجاری های کروموزومی در مرحله متافاز از سیکل سلولی انجام می گیرد از این رو در ۲ ساعت مانده به برداشت لنفوسیت ها (۷۰ ساعت بعد از کشت) همه ی تیوب ها ۲ ساعت تحت تیمار با  $0.06 \mu\text{g/ml}$  کلشی سین قرار گرفتند. در پایان ۷۲ ساعت، تیوب ها جمع آوری شد و تیوب ها برای ۵ دقیقه در  $1200 \text{ rpm}$  سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت دور ریخته شد و به قسمت پلت تیوب ها  $37^{\circ}\text{C}$  KCL  $10/4\%$  اضافه شد (۵ml) و سپس ۱۰ دقیقه در  $1000 \text{ rpm}$  سانتریفیوژ شد. به منظور فیکسه کردن لنفوسیت ها از ۵ml فیکساتیو سرد ( $4^{\circ}\text{C}$ ) که از اسیتیک اسید و متانول به نسبت ۳:۱ تهیه شده بود استفاده شد و تیوب ها به مدت ۲۰ دقیقه در دمای اتاق نگهداری شدند و سپس ۱۰ دقیقه در  $1000 \text{ rpm}$  سانتریفیوژ شدند و سوپرناتانت دور ریخته شد. مرحله فیکسه کردن لنفوسیت ها دوباره تکرار شد و این مرحله تا زمان بوجود آمدن مایع کاملاً شفاف ۲ بار تکرار شد و در نهایت سوپرناتانت دور ریخته شد و قسمت پلت تیوب ها که حاوی لنفوسیت بود توسط پیپت پاستور از ۳۰ سانتیمتری به لامهای سرد پرتاب شد (هر لام ۵ قطره) و ۲۴ ساعت در دمای اتاق به منظور خشک شدن نگهداری شد.

**رنگ آمیزی لامها برای شمارش میتوتیک ایندکس**

رنگ آمیزی لامها ۱۳ دقیقه و با استفاده از گیمسای  $5\%$  ( $5 \text{ ml}$  تامپون A +  $5 \text{ ml}$  تامپون B +  $5 \text{ ml}$  گیمسای محصول شرکت Merck +  $85 \text{ ml}$  آب) انجام شد (۱۳). سپس لامها به منظور خشک شدن ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند.

تابانده شد و پس از پایان این مدت لام ها در داخل بافر IX SCC قرار گرفتند و به مدت ۱ ساعت در دمای ۵۸ درجه سانتیگراد در داخل بن ماری قرار داده شدند و به محض اتمام این مرحله لامها به مدت ۸ دقیقه و با استفاده از گیمسای ۵٪ (۵ml) تامپون A + ۵ ml + تامپون B + ۵ ml گیمسا محصول شرکت Merck + ۸۵ ml آب) رنگ آمیزی شدند. سپس لامها به منظور خشک شدن ۲۴ ساعت در دمای اتاق نگهداری شدند.

### بررسی میکروسکوپی

بعد از خشک شدن لامها بررسی های میکروسکوپی در میکروسکوپ Olympus و در بزرگنمایی ۴۰۰ انجام شد. به منظور بررسی سیتوکسیسیتی میرتازاپین در هر نمونه ۱۰۰ عدد سلول های لنفوسیت شمارش شد و تعداد لنفوسیت هایی که یک، دو و یا سه بار مرحله میتوز را گذرانده بودند ثبت شد و پرولیفراسیون ایندکس از طریق این فرمول حساب شد:

$$\text{proliferation index} = \frac{M1 + 2(M2) + 3(M3)}{100}$$

در فرمول بالا M3, M2, M1 به ترتیب نشان گر تعداد سلول هایی که یک بار، دو بار و سه بار وارد میتوز شده اند میباشد. در شکل ۳ سلول هایی که یک بار، دو بار و سه بار وارد میتوز شده اند نشان داده شده است.

داده های بدست آمده از طریق آزمون تی و در برنامه 16 Minitab مورد تجزیه و تحلیل قرار گرفت (۱۸).

### نتایج

در این آزمایش برای اطمینان از صحیح بودن مراحل انجام آزمایش از ماده میتومیسین C که یک ماده ی کارسینوژن می باشد (۱۹) استفاده شد و نتایج به دست آمده از مقایسه ی نمونه های تیمار شده با میتومیسین C و گروه شاهد تفاوت بسیاری معنی داری را نشان داد که وجود این تفاوت حاکی از صحیح بودن روش کار می باشد (۱۹). سیتوتوکسیک بودن یا نبودن میرتازاپین بر روی لنفوسیت های خونی در چهار دوز مختلف یک بار تحت تیمار ۲۴ ساعته و یک بار تحت تیمار ۴۸ ساعته و با روش های میتوتیک ایندکس، شاخص تقسیم هسته ایی و پرولیفراسیون ایندکس بررسی شد.

ازای ۱۰۰۰ سلول در هر نمونه شمارش شد و شاخص (NDI) از این طریق محاسبه شد (۱۵):

$$NDI = \frac{F1+2(F2)+3(F3)+4(F4)}{n}$$

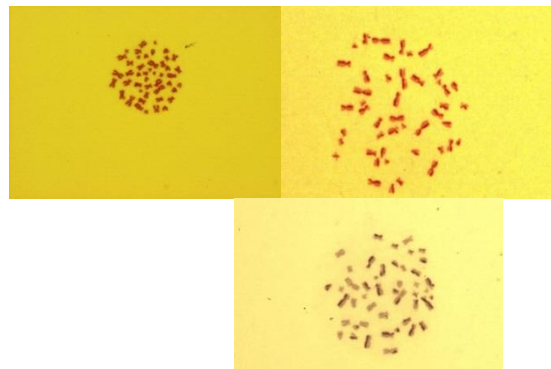
در فرمول بالا F4, F3, F2, F1 به ترتیب نشان گر تعداد سلول های یک هسته ای، دو هسته ای، سه هسته ای، چهار هسته ای و n نیز سلول های شمارش شده در هر نمونه را مشخص می کند.

### کشت لنفوسیت و رنگ آمیزی آن به منظور شمارش پرولیفراسیون ایندکس (PI)

همزمان با شروع کشت سلول های خونی برای تشخیص اینکه هر لنفوسیت چند بار تقسیم میتوز انجام داده هست به همه ی تیوب ها مقدار ۱۰ µg BrdUrd/ml اضافه شد (۱۶). بدلیل آنکه شمارش پرولیفراسیون ایندکس در مرحله متافاز از سیکل سلولی انجام می گیرد از این رو لنفوسیت ها ۲ ساعت (۷۰ ساعت بعد از کشت) تحت تیمار با 0.06 µg/ml کلشی سین قرار گرفتند. برای برداشت لنفوسیت ها در این مرحله همانند روش برداشت لنفوسیت ها برای شمارش میتوتیک ایندکس عمل شد.

### رنگ آمیزی لامها

برای رنگ آمیزی لامها به منظور بررسی پرولیفراسیون ایندکس از روش Speit و Haupter استفاده شد (۱۷). بدین طریق که ابتدا لام ها در داخل بافر ۰/۳ مولار کلرید سدیم و ۰/۰۳ مولار سترات سدیم غوطه ور شدند و به مدت ۳۰ دقیقه از فاصله ۱۵ سانتیمتری، لامپ UV با طول موج 254 nm بر لامها



شکل ۱- سلول هایی که یک بار، دو بار و سه بار وارد میتوز انجام

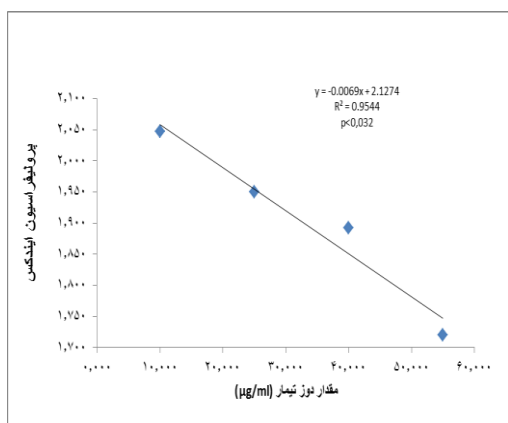
داده اند

جدول ۱- نتایج حاصل از تیمار لنفوسیت ها با میرتازاپین

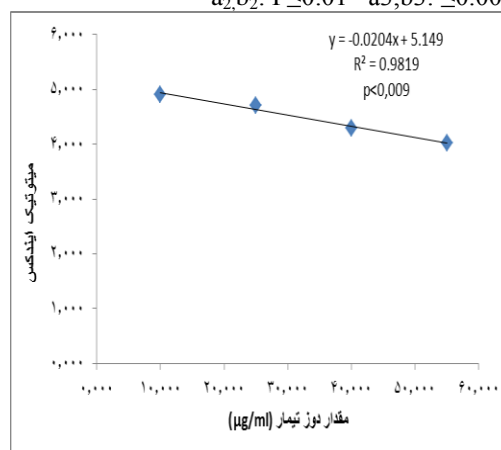
گروه ها	طول مدت تیمار	مقدار دوز تیمار (µg/ml)	میانگین پرولیفراسیون ایندکس	میانگین میتوتیک ایندکس	میانگین شاخص تقسیم هسته ای
گروه شاهد	--	--	۲/۳۴۵±۰/۱۳۸	۵/۹۵۷±۰/۴۹۵	۱/۳۹۶±۰/۰۵۹
MMC	۰/۱۵	۲۴	۱/۷۱۵±۰/۱۱۳a <sub>۱</sub>	۱/۸۲۵±۰/۱۲۱a <sub>۲</sub>	۱/۱۵۶±۰/۰۰۷ a <sub>۳</sub>
	۱۰		۲/۱۹۵±۰/۰۶۲ b <sub>۲</sub>	۴/۹۰۵±۰/۲۵۷ a <sub>۱</sub> ,b <sub>۲</sub>	۱/۲۹۶±۰/۰۱۹ a <sub>۲</sub> b <sub>۲</sub>
	۲۵	۲۴	۲/۱۶۷±۰/۰۶۸ b <sub>۲</sub>	۴/۷۱۶±۰/۴۱۷ b <sub>۲</sub>	۱/۳۴۹±۰/۰۱۱ a <sub>۲</sub> b <sub>۳</sub>
میرتازاپین	۴۰		۲/۰۰۰±۰/۰۵۸ a <sub>۱</sub>	۴/۳۰۰±۰/۴۲۴ a <sub>۱</sub> ,b <sub>۲</sub>	۱/۲۹۶±۰/۰۱۹ a <sub>۲</sub> b <sub>۲</sub>
	۵۵		۲/۹۰۷±۰/۰۸۸ a <sub>۱</sub>	۴/۰۲۴±۰/۴۷۳ a <sub>۱</sub> ,b <sub>۱</sub>	۱/۲۷۷±۰/۰۱۵ a <sub>۲</sub> b <sub>۲</sub>
	۰/۱۵	۴۸	۱/۲۶۵±۰/۰۶۷ a <sub>۲</sub>	۱/۲۴۹±۰/۱۳۰ a <sub>۲</sub>	۱/۰۹۶±۰/۰۰۲ a <sub>۳</sub>
میرتازاپین	۱۰		۲/۰۴۷±۰/۰۵۳ a <sub>۱</sub> ,b <sub>۲</sub>	۴/۰۵۴±۰/۱۳۰ a <sub>۱</sub> ,b <sub>۲</sub>	۱/۳۸۳±۰/۰۰۸ a <sub>۱</sub> b <sub>۳</sub>
	۲۵	۴۸	۱/۹۵±۰/۰۷ a <sub>۱</sub> ,b <sub>۲</sub>	۳/۷۰۰±۰/۳۹۴ a <sub>۱</sub> ,b <sub>۲</sub>	۱/۳۳۳±۰/۰۰۸ a <sub>۳</sub> b <sub>۳</sub>
	۴۰		۱/۸۹۲±۰/۰۵۲ a <sub>۲</sub> ,b <sub>۲</sub>	۴/۰۰±۰/۳۰۴ a <sub>۲</sub> ,b <sub>۲</sub>	۱/۲۵۸±۰/۰۰۶ a <sub>۳</sub> b <sub>۳</sub>
	۵۵		۱/۷۲±۰/۱۵۸ a <sub>۱</sub>	۳/۴۸۹±۰/۱۹۲ a <sub>۲</sub> ,b <sub>۲</sub>	۱/۲۸۰±۰/۰۳۱ a <sub>۱</sub> b <sub>۲</sub>

a: میزان تفاوت نمونه با شاهد از لحاظ آماری ، b: میزان تفاوت نمونه با کنترل مثبت از لحاظ آماری P≤0.05 a<sub>1</sub>,b<sub>1</sub>

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

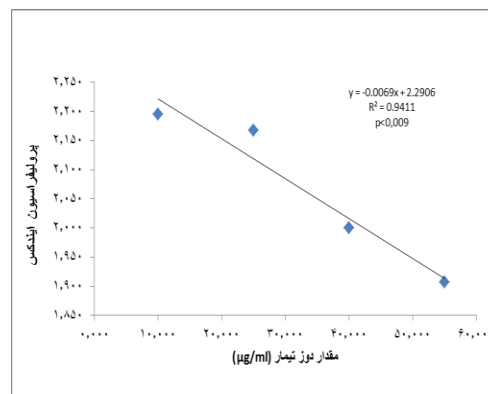


**نمودار ۳-** تیمار ۴۸ ساعته ی لنفوسیت ها با میرتازاپین و رابطه بین افزایش دوز تیمار با کاهش رولیفراسیون ایندکس



**نمودار ۱-** تیمار ۲۴ ساعته ی لنفوسیت ها با میرتازاپین و رابطه بین افزایش دوز تیمار با کاهش میتوتیک ایندکس

نتایج حاصل از میانگین شمارش میتوتیک ایندکس، شاخص تقسیم هسته ای و پرولیفراسیون ایندکس در جدول شماره ۱ نشان داده شده است. تجزیه تحلیل داده ها در مورد MI (میتوتیک ایندکس) نشان از آن داشت که تیمار لنفوسیت ها با میرتازاپین به غیر از دوز ۲۵ µg/ml در همه ی نمونه ها موجب کاهش میانگین MI شده است و این کاهش از لحاظ آماری معنی دار بوده است. از طرفی در تیمار های ۲۴ ساعته کاهش میتوتیک ایندکس با افزایش دوز میرتازاپین رابطه ی مستقیم داشته است که این ارتباط به صورت یک نمودار در نمودار ۱ نشان داده شده است. تجزیه تحلیل داده ها در مورد NDI نشان از آن داشت که تیمار لنفوسیت ها با میرتازاپین موجب کاهش



**نمودار ۲-** تیمار ۲۴ ساعته ی لنفوسیت ها با میرتازاپین و رابطه بین افزایش دوز تیمار با کاهش رولیفراسیون ایندکس

نتایج ما هم خوانی دارد (۲۰). تجزیه تحلیل داده ها در مورد میانگین میتوتیک ایندکس نشان داد که میرتازاپین موجب کاهش میتوتیک ایندکس در همه ی نمونه ها شده و این کاهش از لحاظ آماری معنی دار است. پرز<sup>۲</sup> و همکاران پژوهشی در رابطه با تاثیر داروی ضد افسردگی، دسپیرامین را در سلول های مغز استخوان موش ها بررسی کرده بودند و نتیجه ی حاصل از آن پژوهش نشان داد که دسپیرامین موجب کاهش میتوتیک ایندکس در موش ها می گردد. نتایج آن پژوهش با نتایج پژوهش حاضر همخوانی دارد (۲۱). مطالعه دیگری که از طرف هانا<sup>۳</sup> و همکاران انجام شده بود در آن تاثیر اسیتالوپرام در لنفوسیت های خونی بررسی شد و نتایج حاصل از بررسی میتوتیک ایندکس نشان از آن داشت که اسیتالوپرام موجب کاهش میتوتیک ایندکس شده و این کاهش با افزایش دوز شدیدتر می شود. نتایج این پژوهش نشان داد که تیمار لنفوسیت ها با میرتازاپین در همه ی نمونه ها موجب کاهش NDI شده است و افزایش زمان تیمار از ۲۴ ساعت به ۴۸ ساعت تاثیر به سزایی در کاهش NDI نشان نداده است. بر اساس نتایج حاصل از پژوهش پان<sup>۴</sup> و همکاران میرتازاپین موجب افزایش  $Ca^{2+}$  در سلول های سرطانی شده و از این طریق نقش سیتوتوکسیک در سلول های سرطانی استئوسارکومای انسانی را ایفا می کند (۱۰). شاید سیتوتوکسیک بودن میرتازاپین در لنفوسیت های خونی هم به همین دلیل باشد.

### نتیجه گیری

نتایج به دست آمده از این پژوهش که سیتوتوکسیک بودن میرتازاپین در لنفوسیت های خونی را نشان می دهد احتمالاً به خاطر دلیلی که پان و همکاران بیان کردند می باشد و از آنجایی که این ماده در آن پژوهش توانسته سلول سرطانی را به مسیر آپاپتوز هدایت نماید، از این رو لازم است مطالعات بیشتری بر

میانگین NDI در همه ی نمونه های تیمار شده اعم از تیمار ۲۴ ساعته و تیمار ۴۸ ساعته شده است و این کاهش از لحاظ آماری معنی دار می باشد و اما در مورد پرولیفراسیون ایندکس، نتایج به دست آمده نشان داد که تیمار لنفوسیت ها با میرتازاپین موجب کاهش پرولیفراسیون ایندکس در همه ی نمونه ها شده است و به جز در مورد دوزهای  $10 \mu\text{g/ml}$  و  $25 \mu\text{g/ml}$  در همه ی نمونه ها این کاهش از لحاظ آماری معنی دار بوده و هم در مورد تیمار ۲۴ ساعته و هم در مورد تیمار ۴۸ ساعته افزایش دوز تیمار شده با کاهش پرولیفراسیون ایندکس رابطه ی مستقیم داشته است که این ارتباط در نمودار های ۳ و ۲ نشان داده شده است.

### بحث

تجزیه تحلیل آماری نشان داد که میرتازاپین موجب کاهش پرولیفراسیون ایندکس در همه ی نمونه ها شده و این کاهش از لحاظ آماری معنی دار می باشد و افزایش طول زمان تیمار از ۲۴ ساعت به ۴۸ ساعت نیز مرتبط با کاهش پرولیفراسیون است و با افزایش زمان تیمار این کاهش شدیدتر می شود. با مروری بر نتایج حاصل از مطالعه ی سیتوتوکسیسیته دارو های ضد افسردگی می توان نتیجه گرفت که بعضی از این داروها دارای اثرات سیتوتوکسیک می باشند ولی در مقابل هستند برخی از داروهای ضد افسردگی که دارای اثرات سیتوتوکسیک نمی باشند. مثلاً در پژوهشی تاثیرات سیتوتوکسیک داروی آمیتریپتیلین در لنفوسیت های خونی بررسی شده است که بر اساس نتایج به دست آمده از این پژوهش آمیتریپتیلین دارای اثرات سیتوتوکسیک نبوده و افزایش دوز دارو نیز تاثیری بر میتوتیک ایندکس نداشته است (۲۰). ولی هستند برخی از داروهایی که دارای اثرات سیتوتوکسیک می باشند. پژوهشی که از طرف ساکسنا<sup>۱</sup> و همکاران صورت گرفته بود در آن اثر سیتوتوکسیسیته داروی ضد افسردگی ایمپیرامین از طریق روش شمارش پرولیفراسیون ایندکس بررسی شده بود و در آن پژوهش ایمپیرامین موجب کاهش پرولیفراسیون ایندکس در لنفوسیت های خونی شده بود که نتایج حاصل از این پژوهش با

<sup>2</sup> Perez

<sup>3</sup> Hanna

<sup>4</sup> Pan

<sup>1</sup> Saxena

در صورت امکان داروهای جایگزین این دارو مثل بوپراپیون که دارای کمترین اثر سیتوتوکسیک هست (۲۲) را تجویز بفرمایند.

### تشکر و قدردانی

نویسندگان قدردانی خود را از دانشگاه چکورووا به جهت فراهم نمودن امکانات لازم برای انجام این پژوهش را اعلام می دارند.

این دارو انجام بگیرد تا شاید بتوان از سیتوتوکسیک بودن این ماده برای از بین بردن سلول های توموری استفاده کرد. به این دلیل که در این پژوهش میرتازاپین موجب اثرات سیتوتوکسیک در لنفوسیت های خونی شده است از این رو لازم به ذکر است که پزشکان محترم در انتخاب مقدار دوز این دارو دقت نموده و

### References:

- O'Hara MW. Social support, life events, and depression during pregnancy and the puerperium. *Arch Gen Psychiatry* 1986;43(6):569-573.
- Sasock BJ, Sadock VA. Comprehensive textbook of psychiatry Williams & Eilkins . 7th ed. Lippincott Williams & Wilkins: Philadelphia;2000.1284- 344 .
- Weber MM, Emrich HM. Current and Historical Concepts of Opiate Treatment in Psychiatric Disorders. *Intern Clin Psychopharmacol* 1988;3(3):255-266.
- De Boer T, Ruigt GSF. The selective alfa 2 adrenoceptor antagonist mirtazapine (org 3770) enhances noradrenergic and 5HT1A mediated serotonergic neurotransmission. *CNS Drugs* 1995; 4(Suppl 1):29-38.
- Gorman JM. Mirtazapine: clinical overview. *J Clin Psychiatry* 1999 ;60 Suppl 17:9-13; discussion 46-48.
- Haddjeri N, Blier P, de Montigny C. Noradrenergic modulation of central serotonergic transmission: Acute and long-term actions of mirtazapine. *Int Clin Psychopharmacology* 1995; 10 Suppl 4: 11-17.
- Rawlings NB, Norbury R, Cowen PJ, Harmer CJ. A single dose of mirtazapine modulates neural responses to emotional faces in healthy people. *Psychopharmacology (Berl)* 2010; 212(4):625-634.
- Rogoz Z. Effect of combined treatment with mirtazapine and risperidone on the MK-801- induced changes in the object recognition test in mice. *Pharmacol Rep* 2013;65(5):1401-1406.
- Haddjeri N, Blier P, de Montigny C. Acute and long-term actions of the antidepressant drug mirtazapine on central 5-HT neurotransmission. *J Affect Disord* 1998; 51(3):255-266.
- Pan CC, Cheng HH, Huang CJ, Lu YC, Chen IS, Liu SI, et al. The antidepressant mirtazapine-induced cytosolic Ca<sup>2+</sup> elevation and cytotoxicity in human osteosarcoma cells. *Chinese J Physiol* 2006; 49(6):290-297.
- Arslan M, Topaktas M, Rencuzogullari E. The effects of boric acid on sister chromatid exchanges and chromosome aberrations in cultured human lymphocytes. *Cytotechnology* 2008;56(2):91-96.
- Kocaman AY, Topaktas M. Genotoxic effects of a particular mixture of acetamiprid and alpha-cypermethrin on chromosome aberration, sister chromatid exchange, and micronucleus formation in human peripheral blood lymphocytes. *Environ Toxicol* 2010;25(2):157-168.
- Bayram S, Topaktas M. Confirmation of the chromosome damaging effects of lamivudine in in vitro human peripheral blood lymphocytes. *Environ Mol Mutagen* 2008 ;49(4):328-333.
- Yavuz-Kocaman A, Rencuzogullari E, Ila HB, Topaktas M. The Genotoxic Effect of Potassium Metabisulfite Using Chromosome Aberration, Sister Chromatid Exchange, Micronucleus Tests in Human Lymphocytes and Chromosome Aberration Test in Bone Marrow Cells of Rats. *Environ Mol Mutagen* 2008 May;49(4):276-282.
- Fenech M. Biomarkers of Genetic Damage for Cancer Epidemiology. *Toxicology* 2002; 181-182:411-416.
- Sevindik N, Rencuzogullari E. The genotoxic and antigenotoxic effects of *Salvia fruticosa* leaf extract in human blood lymphocytes. *Drug Chem Toxicol* 2014 Jul;37(3):295-302.
- SPEIT G, HAUPTER S. On the Mechanism of Differential Giemsa Staining of Bromodeoxyuridine Substituted Chromosomes. II. Differences. Between the Demonstration of Sister Chromatid Differentiation and Replication Patterns. *Hum Genet* 1985;70(2):126-129.
- Lalic H, Lekic A, Radosevic B. Comparison of chromosome aberrations in peripheral blood lymphocytes from people occupationally exposed to ionizing and radiofrequency radiation. *Acta Med Okayama* 2001; 55(2):117-127.
- Ortiz R, Cortes L, Gonzalez C, Lopez L, Perez P, Cortes E, et al. Analysis of itomycin C-induced micronuclei in lymphocytes from malnourished infected children. *Environ Mol Mutagen* 1997;30(4):363-370.
- Saxena R, Ahuja YR. Genotoxicity evaluation of the tricyclic antidepressants amitriptyline and imipramine using human lymphocyte cultures. *Environ Mol Mutagen* 1988;12(4):421-430.
- Paniagua-Perez R, Madrigal-Bujaidar E, Reyes CS, Perez GJ, Velasco MO, Molina D. Sister chromatid exchanges produced by imipramine and desipramine in mouse bone marrow cells treated in vivo. *Toxicol Lett* 2002;132(2):123-129.
- Dykens JA, Jamieson JD, Marroquin LD, Nadanaciva S, Xu JJ, Dunn MC, et al. In vitro assessment of mitochondrial dysfunction and cytotoxicity of nefazodone, trazodone, and buspirone. *Toxicol Sci* 2008 Jun;103(2):335-345.